

**AKTIVITAS INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE DARI
EKSTRAK KULIT BATANG BUNGA KUPU-KUPU
(*Bauhinia semibifida* Roxb) SECARA *IN VITRO***

Haiyul Fadhli*, Ainun Nurain Nurdin, Nofri Hendri Sandi
Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

*Email: haiyulfadhli@stifar-riau.ac.id

Artikel diterima: 24 Mei 2021; Disetujui: 29 September 2021

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i2.701>

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak kulit batang bunga kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas inhibisi dari ekstrak kulit batang *B. semibifida* terhadap enzim α -glukosidase secara *in vitro*. Pengujian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase menggunakan ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dari kulit batang bunga kupu-kupu dan akarbose sebagai kontrol positif. Pengujian secara *in vitro* dilakukan menggunakan instrument *microplate reader* dengan panjang gelombang 410 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak ekstrak *n*-heksana kulit batang *B. semibifida* memiliki nilai IC_{50} sebesar 15,625 μ g/mL, ekstrak etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar 35,495 μ g/mL, dan ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 34,279 μ g/mL, berdasarkan kategori, ketiga ekstrak kulit batang *B. semibifida* memiliki kemampuan aktif menghambat enzim α -glukosidase, sedangkan akarbose memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,384 μ g/mL sebagai kontrol positif memiliki kemampuan sangat aktif sebagai antidiabetes melalui inhibisi enzim α -glukosidase. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstraksi senyawa inhibitor α -glukosidase dengan *n*-heksana menghasilkan ekstrak dengan aktivitas inhibitor tertinggi.

Kata kunci: α -glukosidase, *Bauhinia semibifida* Roxb, *In vitro*

ABSTRACT

*Research on the activity of α -glucosidase inhibition of Bunga Kupu-Kupu stem bark extract (*Bauhinia semibifida* Roxb) has been carried out in vitro. This study aims to determine the inhibitory activity of the extracts of *B. semibifida* Roxb stem bark against the α -glucosidase enzyme in vitro. Testing the inhibitory activity of the α -glucosidase enzyme using extracts of *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol from the stem bark of the Bunga Kupu-Kupu and the Akarbose as a positive control. In vitro testing was carried out using a microplate reader instrument with a wavelength of 410 nm. The results showed that the extract of *n*-hexane extract of the *B. semibifida* stem bark had an IC_{50} value 15,625 μ g/mL, ethyl acetate extract had an IC_{50} value 35,495 μ g/mL, and the methanol extract had an IC_{50} value 34,279 μ g/mL. By category, the three *B. semibifida* stem bark extracts have the active ability to inhibit the α -glucosidase enzyme, while the Akarbose had an IC_{50} value*

0,384 $\mu\text{g/mL}$ as a positive control has a very active ability as an antidiabetic through the inhibition of the α -glucosidase enzyme. The results showed that extraction of α -glucosidase inhibitor compound with *n*-hexane yielded extract with highest inhibitor activity.

Keywords: α -glukosidase, *Bauhinia semibifida* Roxb, *In vitro*

PENDAHULUAN

Bauhinia merupakan genus dari famili Leguminosae yang terdiri dari 300 spesies dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis, walaupun di Indonesia hanya terdapat 10 spesies (Heyne, 1987). Genus *Bauhinia* telah diketahui mengandung senyawa-senyawa yang aktif memiliki aktivitas sebagai antikanker, antidiabetes, antitumor dan antioksidan (Fitmawati *et al.*, 2017). Senyawa flavonoid dan stilbenoid dilaporkan mempunyai aktivitas antikanker, antimalaria, antidiabetes, antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan (Boonphong *et al.*, 2007; Yadava & Tripathi, 2000). Berdasarkan penelitian Tanjung and Tjahjandarie (2014) terdapat dua jenis flavonoid yang berhasil diisolasi dari kulit batang *Bauhinia semibifida* yaitu 6C-7O-dimethylaromadendrin dan phlorizin. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol akar tumbuhan *Bauhinia semibifida* memiliki aktivitas

antioksidan sangat tinggi dengan IC_{50} sebesar 6,6247 $\mu\text{g/mL}$ (Fitmawati *et al.*, 2017)

Pada penelitian ini ekstrak kulit batang pohon kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) didapat dengan metode maserasi bertingkat dibantu dengan ultrasonikasi. Cara ini diharapkan menghasilkan rendemen yang lebih banyak karena tidak memerlukan peralatan khusus, pengerjaan yang sederhana, dan ekstrak yang didapatkan berbeda sifat kepolarannya dengan pelarut yang digunakan. Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang didapat diuji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan menggunakan instrumen *microplate reader* (Epoch), karena sensitifitasnya cukup tinggi, waktu yang diperlukan dalam pengujian lebih cepat, dapat mendeteksi banyak sampel secara bersamaan, dan jumlah (volume) sampel yang digunakan lebih sedikit. Akarbose digunakan

sebagai inhibitor enzim α -glukosidase pembanding (Soelistijo *et al.*, 2015).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan adalah kulit batang pohon kupu-kupu yang diperoleh dari KHDTK Bukit Suligi, Kabupaten Rokan Hulu Provinsi Riau, *n*-heksana, etil asetat, metanol, etanol 70%, kloroform, amoniak 0,05N, asam sulfat, pereaksi Mayer, asam klorida p, pereaksi FeCl₃, asam asetat anhidrat, aquadest, enzim α -glukosidase, substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, akarbose, larutan buffer fosfat pH 7, *Bovin Serum Albumin* (BSA) larutan Na₂CO₃.

Peralatan yang digunakan yaitu satu set alat destilasi, *rotary evaporator* (Buchi), timbangan analitik, ultrasonikator (Kery Pulsatro), pipet micro (Dragon Med), *microplate reader* (Epoch[®]), dan alat laboratorium yang umum digunakan.

Pengambilan dan Persiapan Sampel

Kulit batang pohon kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) diperoleh dari KHDTK Bukit Suligi Kabupaten Rokan Hulu. Sampel diambil dari kulit batang pohon kupu-kupu (*Bauhinia*

semibifida Roxb) yang tidak terlalu tua dan berwarna coklat. Kulit batang dibersihkan dan dikeringkan, kemudian dihaluskan

Ekstraksi Kulit Batang

Sampel 0,2 kg yang telah halus diproses secara maserasi bertingkat dengan dimasukan ke dalam botol gelap, terlindung dari sinar matahari langsung dan direndam dengan *n*-heksana selama 24 jam dengan 3 kali pengulangan, lalu diultrasonikasi selama 30 menit, selanjutnya di saring. Maserat cair kemudian dikeringkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat ekstrak *n*-heksana. Selanjutnya ampas dimaserasi kembali dengan cara yang sama untuk mendapatkan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya sebelum dilakukan uji aktivitas antidiabetes.

Pengujian Aktivitas Inhibisi Enzim α -glukosidase

Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan menggunakan metode *in vitro* dengan alat *microplate reader* (96 well plate) yang diukur pada panjang gelombang 410 nm

(Sancheti, 2009). Larutan uji untuk tiap-tiap ekstrak dari kulit batang pohon kupu-kupu diencerkan dengan metode *two fold dilution* sehingga diperoleh konsentrasi 500 - 31,25 µg/mL. DMSO sebanyak 5 µL (B₀) dan 5 µL larutan uji (S₁) ditambahkan dengan dapar fosfat pH 7 sebanyak 50 µL, 25 µL *p*-NPG 20 mM dan 25 µL enzim α-glukosidase 0,2 U/mL. Lalu diinkubasi kembali selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan larutan Na₂CO₃ dengan konsentrasi 0,1 M sebanyak 100 µL. Sedangkan untuk blanko 5 µL DMSO ditambah 45 µL buffer fosfat pH 7, dan ditambahkan 25 µL larutan *p*-NPG. Perlakuan yang sama untuk larutan pembanding akarbose dengan konsentrasi 10 - 0,3125 µg/mL. Selanjutnya nilai % inhibisi dihitung dengan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(B_1 - B_0) - (S_1 - S_0)}{(B_1 - B_0)}$$

Keterangan :

(B₁-B₀) = Absorbansi tanpa sampel

(B₁-B₀) = Absorbansi sampel

Nilai IC₅₀ kemudian dihitung menggunakan kurva kalibrasi dan persamaan (Y = a lnX ± b) dengan memplot Ln Konsentrasi sampel

(sumbu X) dengan nilai persentase inhibisinya (sumbu Y).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sampel

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh ekstrak n-heksana sebanyak 0,7742 g (0,39%), ekstrak etil asetat 3,9729 g (1,99%) dan ekstrak metanol 7,3086 g (3,65%). Hasil pengujian dari skrining fitokimia ekstrak kulit batang pohon kupu-kupu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak

Kandungan Kimia	Hasil Pengamatan		
	Ekstrak <i>n</i> -Heksana	Ekstrak Etil asetat	Ekstrak Metanol
Alkaloid	(-)	(+)	(+)
Flavonoid	(-)	(+)	(+)
Fenolik	(-)	(+)	(+)
Saponin	(-)	(+)	(+)
Steroid	(-)	(-)	(-)
Terpenoid	(+)	(+)	(-)

Hasil pengujian aktivitas inhibisi enzim α-glukosidase dari ekstrak kulit batang bunga kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) menggunakan *microplate reader* menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak *n*-heksana sebesar 15,625 µg/mL, ekstrak etil asetat memiliki IC₅₀ sebesar 35,495 µg/mL, dan ekstrak metanol memiliki nilai IC₅₀ sebesar 34,279.

Kulit batang Pohon Kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) yang telah didapat dilakukan proses sortasi basah, dicuci, dikeringkan pada suhu ruangan, dirajang, dan disortasi kering. Sortasi basah dilakukan untuk memisahkan sampel dengan pengotor seperti tanah, lumut, dan benalu. Sampel dikeringkan pada suhu ruang untuk mengurangi kandungan airnya sehingga menghentikan reaksi enzimatik yang memungkinkan terjadinya penguraian senyawa aktif sampel (Hanani, 2015). Sortasi kering dilakukan untuk memisahkan benda-benda asing yang tidak dibutuhkan dalam pengujian. Sampel dihaluskan untuk mempermudah proses penetrasi pelarut ke dalam sel dan mengoptimalkan proses penarikan senyawa yang terkandung di dalam sampel dengan cara memperluas permukaan sampel pada saat ekstraksi (Harborne, 1987).

Untuk mendapatkan ekstrak dilakukan penyarian menggunakan metode maserasi bertingkat menggunakan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Proses awal penyarian dengan merendam sampel menggunakan pelarut *n*-heksana lalu

pelarut etil asetat dan terakhir pelarut metanol dengan 3 kali pengulangan. Ekstrak cair dipekatkan untuk memisahkan pelarut yang terdapat dalam ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental. Proses ini menggunakan alat *rotary evaporator*.

Pengukuran aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan pada panjang gelombang 410 nm karena serapan maksimal *p*-nitrofenol pada panjang gelombang 400-410 nm. Parameter analisa data uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan metode *in vitro* adalah dengan *inhibition concentration* (IC₅₀), yaitu konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase.

Pengujian aktivitas inhibisi ini melalui *in vitro* dengan menghambat enzim α -glukosidase menggunakan substrat *p*-NPG dan enzim α -glukosidase dimana enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat *p*-NPG menjadi α -D glukosa dan *p*-nitrofenol (berwarna kuning), sampel uji masing-masing ditambahkan ke dalam campuran substrat dan enzim. Aktivitas inhibisi enzim ini diamati berdasarkan warna kuning yang timbul dari hasil reaksi

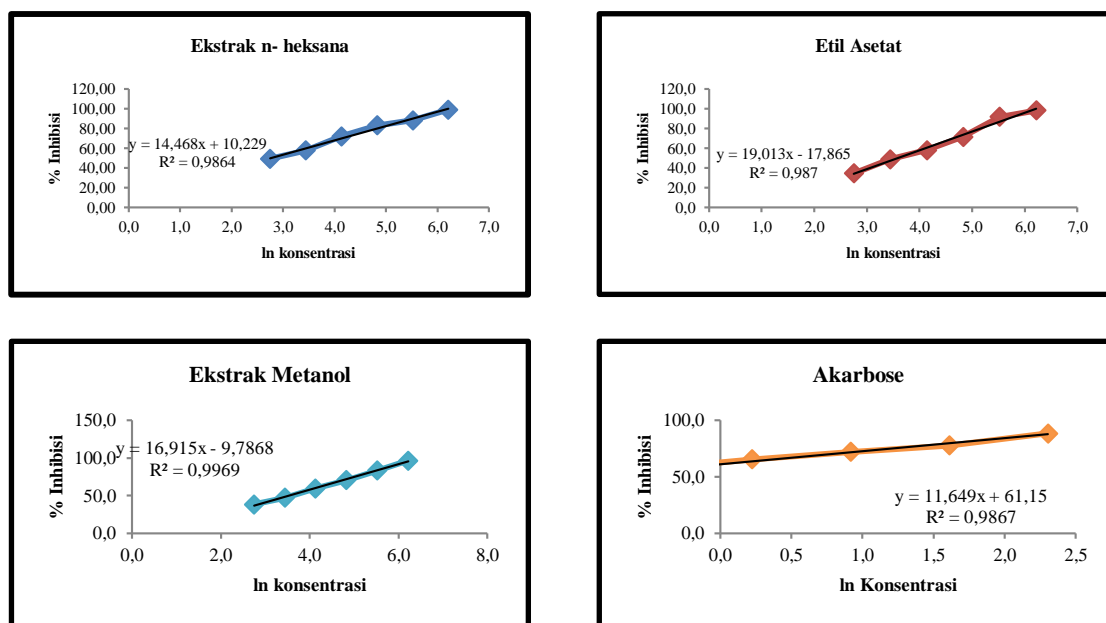
menggunakan *microplate reader* (Sancheti, 2009). Jika warna kuning pada larutan yang dihasilkan lebih pudar dibandingkan dengan larutan tanpa inhibitor, maka hal itu menunjukkan kemampuan inhibitor menghambat reaksi enzim α -glukosidase semakin besar. Kemampuan aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase suatu ekstrak dapat diketahui melalui nilai IC_{50} sampel

terhadap enzim α -glukosidase. Menurut Lee dan Lee (2001) menyatakan bahwa suatu ekstrak dikatakan sangat aktif sebagai penghambat enzim α -glukosidase jika nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, selanjutnya aktivitas sebagai penghambat enzim α -glukosidase dikatakan aktif jika nilai $IC_{50} 10 - 100 \mu\text{g/mL}$, dan dikatakan tidak aktif jika $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$.

Tabel 2. Data Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Kulit Batang *Bauhinia semibifida* Roxb dan Akarbose

Ekstrak	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Ln Konsentrasi	Absorbansi Sampel*	% Inhibisi	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Aktivitas
n-heksana	500	6,215	0,006	99,17	15,625	Aktif
	250	5,521	0,088	88,36		
	125	4,828	0,126	83,31		
	62,5	4,135	0,210	72,24		
	31,25	3,442	0,320	57,84		
	15,625	2,749	0,383	49,49		
Etil asetat	500	6,215	0,011	98,51	35,49	Aktif
	250	5,521	0,061	91,92		
	125	4,828	0,215	71,72		
	62,5	4,135	0,317	58,19		
	31,25	3,442	0,386	49,10		
	15,625	2,749	0,496	34,65		
Metanol	500	6,215	0,024	96,79	34,279	Aktif
	250	5,521	0,125	83,49		
	125	4,828	0,220	70,97		
	62,5	4,135	0,304	59,99		
	31,25	3,442	0,400	47,34		
	15,625	2,749	0,466	38,60		
Akarbose	10	2,303	0,0873	88,494	0,384	Sangat Aktif
	5	1,609	0,1690	77,734		
	2,5	0,916	0,2117	72,112		
	1,25	0,223	0,2620	65,481		
	0,625	-0,470	0,3233	57,400		
	0,3125	-1,163	0,4137	45,498		

*Hasil dinyatakan dalam rata-rata (n=3)



Gambar 1. Grafik Inhibisi Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Kulit Batang Bunga Kupu-Kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) dan Akarbose

Berdasarkan nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak menunjukkan adanya kemampuan aktivitas antidiabetes melalui inhibisi enzim α -glukosidase. Ekstrak *n*-heksana memiliki nilai IC_{50} paling kecil diantara ketiga ekstrak. Pada ekstrak *n*-heksana yang memiliki kemampuan menghambat enzim α -glukosidase paling baik diantara ketiga ekstrak memiliki kandungan senyawa terpenoid, yang mana terpenoid memiliki efek untuk menghambat kerja enzim α -gukosidase sehingga dapat mengganggu serta menurunkan proses penyerapan glukosa pada usus halus (Kumar *et al.*, 2013).

Efektivitas ini kemungkinan terjadi karena beberapa terpenoid yang aktif sebagai antidiabetes dengan mekanisme kerja menghambat enzim α -glukosidase pada sampel kulit batang bunga kupu-kupu larut dalam pelarut *n*-heksana. Akarbose dipilih sebagai pembanding karena akarbose merupakan obat antidiabetes yang bekerja dalam menghambat enzim α -glukosidase yang beredar di Indonesia dan juga akarbose sudah menjadi pembanding yang diakui secara internasional. Selain itu, dalam hal struktur, akarbose memiliki struktur yang hampir sama dengan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida. Berdasar-kan hasil pengujian akarbose

sebagai pembanding memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,384 $\mu\text{g/mL}$ yang berpotensi sangat aktif sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

KESIMPULAN

Hasil penelitian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak kulit batang bunga kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) menggunakan *microplate reader* menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol kulit batang bunga kupu-kupu (*Bauhinia semibifida* Roxb) berpotensi aktif sebagai inhibitor enzim α -glukosidase secara *in vitro* dengan nilai IC_{50} sebesar 15,625 $\mu\text{g/mL}$, ekstrak etil asetat memiliki nilai IC_{50} sebesar 35,495 $\mu\text{g/mL}$, dan ekstrak metanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 34,279 $\mu\text{g/mL}$.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada STIFAR Riau yang telah memberikan dana Penelitian Dosen Pemula 2020 sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Boonphong, S., Puangsombat, P., Baramee, A., Mahidol, C., Ruchirawat, S. & Kittakoop, P. 2007. Bioactive Compounds From *Bauhinia purpurea* Possessing Antimalarial, Antimycobacterial, Antifungal, Anti-Inflammatory, and Cytotoxic Activities. *Journal of Natural Products*, 70(5): 795–801.
- Fitmawati, F., Sofiyanti, N., Roza, R.M., Isnaini, I., Irawan, Y.R., Winata, D.R. & Dewi, A.P.K. 2017. Antioxidant Activity of Dominant Plants Species in Obat Pahit from Lingga Malay Ethnic in Riau Archipelago. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 9(2): 325–331.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. 3 ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Kumar, D., Ghosh, R. & Pal, B.C. 2013. α -Glucosidase inhibitory terpenoids from *Potentilla fulgens* and their quantitative estimation by Validated Hplc Method. *Journal Of Functional Foods*, 1–7.
- Lee, D. & lee, S. 2001. Genistein, a soy isoflavone, is a potent α -glucosidase inhibitor. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 501: 84–86.
- Sancheti, S.; S.S. 2009. *Chaenomeles Sinensis*: A Potent α - and β -Glucosidase Inhibitor. *American*

Journal of Pharmacology and Toxicology, 4.

Soelistijo, S., Novida, H. & Rudijanto, A. 2015. *Konsensus Pengolahan dan Pencegahan Diabetes*

Melitus Tipe 2 Di Indonesia. Jakarta: PB Perkeni.

Yadava, R.N. & Tripathi, P. 2000. A Novel Flavone Glycoside From The Stem of *Bauhinia purpurea*. *Fitoterapia*, 71(1): 88–90.