

Penetapan kadar flavonoid dan uji aktivitas penghambat enzim α -amilase ekstrak etanol dan fraksi kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) secara *in-vitro*

Determination of flavonoid levels and amylase enzyme inhibitory test of ethanol extract and fraction of golden banana (Musa Acuminata Colla) peel by in-vitro

Kadek Dewi Plasmawati^{1*}, Kusumaningtyas Siwi Artini², Desy Ayu Irma Permatasari³

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan
Universitas Duta Bangsa, Surakarta.
Jl Pinang Raya Turi, Cemani, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah, Indonesia

Article Info:

Received: 26-08-2023

Revised: 03-09-2023

Accepted: 30-09-2023

✉* E-mail Author: kadekdepa22@gmail.com

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is one of the deadliest diseases that many people suffer from. One important strategy for reducing blood sugar levels is to inhibit enzymes that hydrolyze carbohydrates, such as α -amylase. The purpose of this study was to determine the inhibitory effect of golden banana peel extract on the activity of the α -amylase enzyme as an antidiabetic candidate. The results of the fraction from the ethanol extract of the golden banana peel were evaluated for their inhibitory potential against the α -amylase enzyme using the UV-Vis spectrophotometry method and using starch as a substrate, and the IC₅₀ value was calculated. The results showed that the ethanol extract, ethyl acetate extract, n-hexane extract, and water tested had the ability to inhibit α -amylase enzyme activity. From the tests carried out, the IC₅₀ value was the highest in the ethyl acetate fraction (7.9982 ppm), the ethanol extract of golden banana peel (*Musa acuminata Colla*) (10.252 ppm), the water fraction (19.567 ppm), and the n-hexane fraction (70.386 ppm). So that it can be seen that the peel extract of the golden banana (*Musa acuminata Colla*) is categorized as active as an inhibitor of the α -amylase enzyme.

Keywords: enzim, flavonoid, α -amylase, fraction, golden banana

ABSTRAK

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit mematikan yang cukup banyak diderita oleh masyarakat. Salah satu strategi penting dalam menurunkan kadar gula dalam darah adalah dengan menghambat enzim yang menghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui efek penghambatan ekstrak kulit pisang emas terhadap aktivitas enzim α -amilase sebagai kandidat antidiabetes. Hasil fraksi dari ekstrak etanol kulit pisang emas tersebut dievaluasi potensi penghambatannya terhadap enzim α -amilase dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis serta menggunakan amilum sebagai substrat dan dihitung nilai IC₅₀ nya. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, ekstrak n-heksan dan air yang diuji memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -amilase. Dari pengujian yang dilakukan diperoleh nilai IC₅₀ yaitu yang tertinggi di fraksi etil asetat sebesar 7,9982ppm, ekstrak etanol kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) sebesar 10,252 ppm, fraksi air 19,567ppm, fraksi n-Heksan sebesar 70,386 ppm. Sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) dikategorikan aktif sebagai inhibitor enzim α -amilase.

Kata Kunci: enzim, flavonoid, α -amylase, fraksi, kulit pisang emas

1. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelainan metabolik yang banyak diketahui masyarakat. Penyakit ini ditandai dengan tingginya kadar gula darah akibat kurangnya sekresi maupun terganggunya kinerja hormon insulin.¹ Sejauh ini penanganan yang umum dilakukan dalam menanggulangi penyakit diabetes mellitus berupa konsumsi obat-obatan kimia, Sehingga pengembangan obat herbal sangat diperlukan untuk menghindari efek samping dari obat kimia.

Tanaman merupakan sumber yang kaya akan inhibitor α -amilase serta memiliki penghambatan aktivitas α -amilase yang kuat, sehingga dapat digunakan untuk terapi hiperglikemia yang efektif, kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) dipilih dalam penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah kulit pisang yang belum dimanfaatkan secara optimal. Sehingga dengan adanya limbah kulit pisang emas tersebut dimanfaatkan sebagai obat alternatif antidiabetes. Penggunaan ekstrak etanol kulit pisang emas mampu menghambat proses peroksida yang merupakan reaksi oksidasi berefek pada resistensi insulin antara reseptor dan produksi insulin dipankreas, salah satu alternatif pengobatan diabetes adalah dengan menggunakan berbagai tumbuhan terutama yang mengandung senyawa polifenol, termasuk flavonoid.² Kulit pisang mengandung antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan dagingnya. Senyawa antioksidan yang terdapat pada kulit pisang yaitu katekin, gallokatekin, dan epikatekin yang merupakan golongan senyawa flavonoid. Senyawa lain yang terkandung dalam kulit pisang matang yaitu anthosianin delphinidin, cyaniding, katekolamin, dan saponin. Kandungan antioksidan yang tinggi pada kulit pisang ini dianggap mampu memberikan efek antihiperglikemik tubuh.³

Inhibitor α -amilase digunakan untuk mengobati diabetes mellitus tipe II. Kerja antihiperglikemik dari inhibitor α -amilase merupakan inhibisi kompetitif terhadap enzim-enzim pencernaan di usus halus menjadi campuran oligosakarida. Menurut Evi *et al* (2018)⁴ yaitu pemberian ekstrak etanol kulit Pisang Mas (*Musa acuminata*) konsentrasi 1%, 5%, dan 25% selama 10 hari memberikan pengaruh nyata terhadap penurunan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksialoksan ($p < 0,05$) dan konsentrasi 25% tidak berbeda signifikan dengan metformin dosis 14mg/kgBB ($p > 0,05$).

Mengingat semakin meningkatnya angka penderita diabetes mellitus di Indonesia dan menjadi permasalahan serius dalam bidang kesehatan, dan juga makin banyak pengobatan herbal yang dipercaya masyarakat sebagai salah satu pengobatan alternatif, maka peneliti akan melakukan penelitian mengenai "Penetapan Kadar Flavonoid Dan Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase Ekstrak Etanol Dan Fraksi Kulit Pisang Emas (*Musa acuminata Colla*) Secara *In Vitro*".

2. METODOLOGI

Alat dan Bahan

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 (Bone), rotary evaporator (RE 100-PRO), dan alat-alat gelas (iwak). Bahan Etanol 96%, n-heksan, etil asetat, aquadestilata, serbuk kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*), enzim α -amilase, tablet acarbose 50 mg, amilum, larutan iodium 1%, buffer fosfat pH 6,9, DMSO (dimethyl sulfoxide) 1%, HCL 1 N. Sedangkan bahan yang digunakan terdiri dari, serbuk kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*), etanol 96%, pereaksi Bouchardat, Dragendorff, Mayer, besi (III) klorida, Molisch, timbal (II) asetat, asam sulfat pekat, asam klorida pekat, metanol, Liebermann-Burchard, asam asetat anhidrida, toluene, kalium dihidrogen fosfat, natrium hidroksida, dimetil sulfoksida (DMSO) (*Merck*), akarbose (*Bayer*), enzim α -amilase, amilum, larutan iodium 1%, buffer fosfat pH6,9 , HCL1 N.

Pembuatan Simplisia dan Ekstraksi

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah kulit pisang emas. Kulit dibersihkan dari pengotor, dicuci, ditiriskan, kemudian ditimbang sebagai berat basah. Selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai kering (ditandai bila diremas rapuh), kemudian ditimbang sebagai berat kering. Simplisia yang telah kering diblender menjadi serbuk lalu disimpan dalam wadah tertutup rapat pada suhu kamar untuk mencegah pengaruh lembab dan pengotoran lain. Pembuatan ekstrak etanol dilakukan dengan metode maserasi dengan perbandingan pelarut 1:7 (simplisia : pelarut). Simplisia kulit pisang emas ditimbang sebanyak 500 g dan direndam ke dalam 3,5 L pelarut etanol 96%. Simplisia direndam di dalam wadah kaca selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Maserat dipisahkan dengan cara disaring. Maserat diremaserasi dengan jenis pelarut yang sama selama 1x24 jam. Selanjutnya filtrat yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental.⁵

Fraksinasi

Proses fraksinasi menggunakan partisi cair-cair, dilakukan dengan menimbang ekstrak kental kulit pisang emas sebanyak 10 g dilarutkan dalam 50 mL etanol dan ditambahkan 100 mL aquades hangat dan diaduk sampai larut dalam *beaker glass*, ditunggu hingga dingin. Setelah dingin dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan *n*-Heksan 150 mL, dikocok dan didiamkan hingga terpisah sempurna 2 fase. Fase *n*-Heksan akan pada bagian atas dan fase etanol-air berada dibagian bawah, kemudian dipisahkan lakukan 3 kali replikasi. Fase etanol-air kemudian ditambahkan dengan etil atesat 150 ml, dikocok perlahan dan didiamkan hingga terpisah sempurna. Fase etil asetat akan berada pada bagian atas dan fase etanol-air pada bagian bawah lalu dipisahkan, setelah itu lakukan 3 kali replikasi.

Penetapan Uji Kadar Flavonoid

1. Pembuatan Larutan Natrium Asetat

Natrium Asetat sebanyak 1 g ditimbang dan di masukkan ke dalam *beaker glass* dan dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, kemudian di masukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.⁶

2. Larutan AlCl₃ 10%

Serbuk AlCl₃ sebanyak 5 g ditimbang kemudian di masukkan ke dalam *beaker*

glass dan dilarutkan dengan sebagian aquadest hingga larut sempurna, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas.

3. *Pembuatan Larutan Blanko*

Reagen AlCl_3 10% diambil sebanyak 0,2 mL dan ditambahkan 0,2 mL larutan natrium asetat 1 M ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan aquadest sampai tanda batas.

4. *Pembuatan Larutan Induk Kuersetin*

Larutan induk kuersetin dibuat dengan konsentrasi 100 ppm dengan cara menimbang dengan seksama serbuk kuersetin sebanyak 2,5 mg dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian dilarutkan dengan methanol p.a sampai tanda batas.

5. *Pembuatan Larutan Seri Kuersetin*

Dari larutan induk kuersetin konsentrasi 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm.

6. *Penentuan Panjang Gelombang Maksimum*

Larutan seri kuersetin konsentrasi 20 ppm diambil 1 mL ditambah 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M, kemudian diukur serapannya pada rentang panjang gelombang 400-450 nm dan dicatat nilai absorbansinya.

7. *Penentuan Operating Time*

larutan seri kuersetin konsentrasi 20 ppm diambil 1 mL, kemudian ditambahkan 1 mL larutan AlCl_3 10% dan 1 mL larutan natrium asetat 1 M dan dibaca pada gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit sampai diperoleh absorbansi konstan.

8. *Penetapan Kurva Baku Kuersetin*

Diambil masing-masing larutan kuersetin konsentrasi (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm) sebanyak 1 mL dimasukkan ke tabung reaksi dan diberi label. Ditambahkan 1 mL AlCl_3 10% dan 1 mL Natrium asetat 1 M, lalu dikocok sampai homogen dan diinkubasi selama waktu *operating time* kemudian di baca pada panjang gelombang maksimum. Dicatat nilai absorbansinya.

9. *Penetapan Kadar Flavonoid*

Ekstrak etanol kulit pisang emas masing-masing ditimbang 10 mg dilarutkan dalam 10 mL methanol p.a. Larutan konsentrasi 1000 ppm dipipet 1 mL diencerkan dengan metanol p.a dalam labu ukur 10 mL. Selanjutnya diambil 1 mL ditambahkan 0,2 mL AlCl_3 10%, 0,2 mL natrium asetat 1 M dan di kocok homogeny lalu diinkubasi sesuai waktu *operating time* kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Dicatat nilai absorbansinya dan dihitung.

Penetapan Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase

1. *Larutan Amilum 1%*

Amilum sebanyak 1 g ditimbang dan disuspensikan dalam 100 mL aquadest dan dipanaskan sampai larut. Larutan amilum dibuat beberapa saat sebelum digunakan untuk mencegah rusak.

2. Larutan Dapar Fosfat pH 6,90,02 M
Aquadest 800ml diambil dan dimasukkan kedalam labu ukur 1000 mL. Ditimbang 2.861 g sodium fosfat dibasic heptahidrat (Na_2HPO_4) dan 1,287 g sodium fosfat monobasic monohidrat masukan ke dalam labu ukur 1000 mL. Dan larutkan sampai homogen tambahkan larutan dengan pH akhir yang diinginkan menggunakan HCl atau NaOH. Tambahkan aquadest sampai tanda batas.
3. Larutan DMSO 1%
Larutan stok DMSO 1% dibuat dengan mengambil 1,010 mL dari dari larutan DMSO 99% dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas.
4. Larutan Enzim α -Amilase
Enzim α -amilase diambil sebanyak 2,5 μL ke dalam labu ukur 50mL dan ditambahkan larutan dapar fosfat sampai tanda batas.
5. *Larutan HCl 1 N*
HCl 2 N diambil sebanyak 50 mL dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan diencerkan dengan 50 mL aquadest bebas CO_2 sampai tanda batas. Gojog sebentar kemudian masukkan kedalam botol kaca tertutup dan tambahkan label.
6. *Larutan Iodin 1%*
Kalium Iodida ditimbang sebanyak 1,5 g dan 1 g Iodium. Di masukkan Iodium kedalam beaker glass dan dilarutkan dalam 50 mL aquadest aduk sampai larut sempurna. Tambahkan Kalium iodide dan aduk kembali sampai larut sempurna. Masukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditambahkan aquadest sampai tanda batas. Pindahkan larutan ke dalam botol kaca gelap dan diberi label.
7. *Larutan Induk Akarbose 500 ppm*
Akarbose tablet 50 mg digerus dan diambil sebanyak 5 mg di masukkan kedalam labu ukur 10 mL untuk membuat larutan induk dengan konsentrasi 500ppm, kemudian ditambahkan 5 μL DMSO, kemudian ditambahkan dapar fosfat pH 6,9 sampai tanda batas. Di gojog selama 15 menit sampai larut sempurna serbuk akarbose, lalu disaring (Wirasti, 2021). Masukkan kedalam botol kaca tertutup dan beri label.
8. *Larutan Seri Konsentrasi Akarbose*
Dari larutan induk dibuat seri 6,25ppm, 1,25ppm, 2,5 ppm, 5 ppm dan 10 ppm dengan memipet masing-masing 62,5 μL , 125 μL , 250 μL , 500 μL dan 1000 μL kemudian dimasukkan dalam labu ukur 50 mL kemudian dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 6,9 hingga tanda batas. Masukkan ke dalam botol kaca tertutup dan diberi label.
9. Larutan Induk Ekstrak dan Fraksi Kulit Pisang Emas 1000 ppm
Pembuatan larutan induk 1000 ppm. Ekstrak etanol dan fraksi kulit pisang emas 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. Masukkan dalam botol kaca tertutup dan beri label.
10. Larutan Seri Konsentrasi Ekstrak dan Fraksi Kulit Pisang Emas
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 (125 μ L), 0,25 mL (250 μ L), 0,50 mL (500 μ L), 1 mL (1000 μ L), dan 2 mL (2000 μ L) menggunakan pipet mikro, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan buffer fosfat pH 6,9 sampai tanda batas. Masukkan ke dalam botol kaca tertutup dan beri label.

11. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Buffer fosfat diambil 500 μ L pH 6,9 ditambahkan 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37^o C selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi pada suhu 37^oC selama 15 menit, ditambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan dibaca pada gelombang 500-650 nm dan dicatat nilai absoransinya.

12. Penentuan *Operating Time*

Buffer fosfat diambil 500 μ L pH 6,9 ditambahkan 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37^o C selama 10 menit. Setelah itu ditambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi pada suhu 37^o C selama 0 menit sampai 20 menit dengan interval waktu 2 menit. Kemudian ditambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan dibaca pada gelombang maksimum. Di catat nilai absorbansi dan ditentukan dengan nilai absorbansi yang konstan.

13. *Pengujian Blanko*

Buffer fosfat diambil 500 μ L 0,02 M pH 6,9 ditambah 500 μ L larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37^oC selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (*Operating Time*). Setelah inkubasi tambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan 20 μ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

14. *Pengujian Kontrol Blanko*

Buffer fosfat diambil 1000 μ L 0,02M pH 6,9 tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% dan diinkubasi sesuai hasil penetapan OT (*Operating Time*). Setelah inkubasi tambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan 20 μ L dan HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum dan catat nilai absorbansinya.

15. *Pengujian Sampel (Ekstrak, Fraksi Dan Akarbose)*

Sampel diambil 500 μ L ditambah 500 μ L 0,04 unit larutan enzim α -amilase dan diinkubasi pada suhu 37^oC selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% inkubasi pada suhu 37^oC sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan 20 μ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

16. *Pengujian Kontrol Sampel (Ekstrak, Fraksi Dan Akarbose)*

Sampel diambil 500 μ L sampel ditambah 500 μ L buffer fosfat 0,02 M pH 6,9 dan diinkubasi pada suhu 37^o C selama 10 menit. Kemudian tambahkan 500 μ L larutan amilum 1% inkubasi pada suhu 37^oC sesuai hasil OT. Setelah inkubasi tambahkan 100 μ L larutan iodium 1% dan 20 μ L HCl 1 N untuk menghentikan reaksi enzimatik. Ukur absorbansi pada gelombang maksimum.

Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini dilihat dari nilai IC_{50} yang disajikan berupa table dan deskripsi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Presentase Kulit Pisang Emas

Simplisia kulit pisang emas yang sudah kering diserbukkan dengan cara diblender kemudian ditimbang dan didapatkan hasil simplisia serbuk 500 g. Serbuk simplisia kulit pisang emas disimpan dan dilakukan maserasi. Presentase bobot kering terhadap bobot basah dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Perhitungan Presentase Simplisia Kulit Pisang Emas

Kulit Basah(g)	Kulit Kering(g)	Persentase(%)
4000	845	21,12

Berdasarkan tabel 1, dapat diketahui bahwa kulit pisang emas sebanyak 4000 gram yang dikeringkan dan diperoleh bobot kering sebesar 845 gram. Simplisia kulit pisang emas kemudian dihitung persentasenya terhadap berat awal daun basah dan diperoleh hasil 21,12 %. Selanjutnya simplisia diserbuk dan diayak menggunakan ayakan mesh 40.⁷

Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Kulit Pisang Emas

Proses ekstraksi ini bertujuan untuk melarutkan semua zat yang terkandung dalam sampel menggunakan pelarut yang sesuai serta mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa-senyawa metabolit. 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. Kemudian hasil rendaman disaring menggunakan kertas saring bertingkat untuk menghindari endapan serbuk simplisia yang menumpuk.

Maserat yang diperoleh ditampung dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40⁰-60⁰ C dengan kecepatan 60 rpm. Selanjutnya ekstrak dipekatkan lagi diatas penangas air (*waterbath*). Ekstrak kental yang didapatkan kemudian ditimbang dan selanjutnya dihitung % rendemennya.

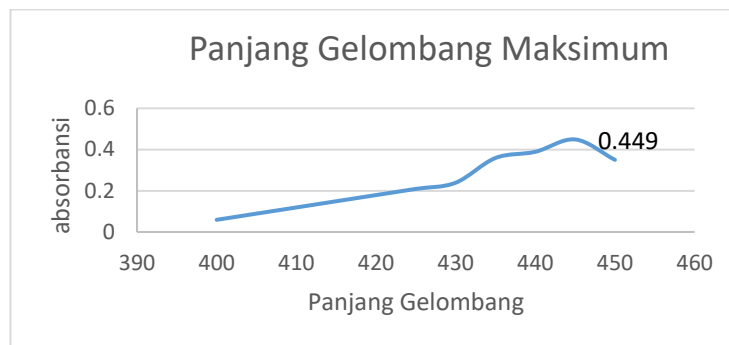
Tabel 2. Rendemen Ekstrak

Bobot Serbuk	Bobot Ekstrak	% rendemen	Persyaratan
500 g	73,68 g	14,73	<7,2 %

Berdasarkan perhitungan hasil rendemen ekstrak etanol kulit pisang emas tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 73,68 gram dengan rendemen sebesar 14,73 % dari serbuk simplisia sebanyak 500 gram.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid

Pada penelitian ini untuk menetapkan kadar flavonoid pada ekstrak etanol kulit pisang emas digunakan kuersetin sebagai larutan standar dengan seri konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, dan 25 ppm. Penggunaan seri konsentrasi kuersetin bertujuan sebagai kurva baku dalam mendapatkan persamaan regresi linier yang dapat digunakan dalam menghitung persen kadar flavonoid. Senyawa kuersetin dipilih sebagai larutan standar karena kuersetin merupakan senyawa flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keton pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang bertetangga.⁸ Pengukuran panjang gelombang maximum dilakukan dengan menggunakan larutan standar kuersetin konsentrasi 20 ppm dan diukur pada gelombang 400-450 nm, didapatkan hasil panjang gelombang maksimum larutan kuersetin yaitu 445 nm dengan absorbansi 0,449. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur serapan kurva baku kuersetin dan sampel ekstrak etanol kulit pisang emas. Hasil panjang gelombang dapat dilihat pada gambar 1.



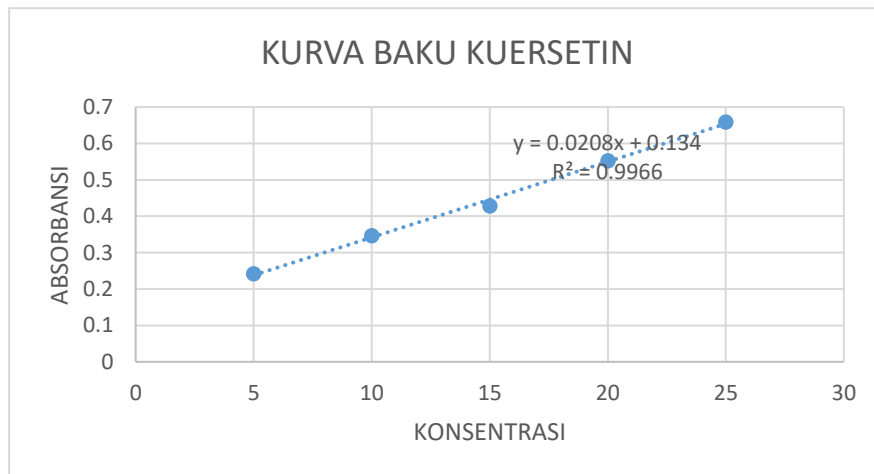
Gambar 1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Penetapan *operating time* perlu dilakukan untuk meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Hal ini disebabkan karena senyawa senyawa yang akan diukur absorbansinya dalam penelitian ini merupakan suatu senyawa kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$. Pengukuran *operating time* dilakukan menggunakan larutan konsentrasi seri kuersetin 20 ppm dan didapatkan hasil nilai absorbansi konstan pada menit ke-15 dengan absorbansi 0,290. Hasil *operating time* dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil *Operating Time* Kuersetin

Waktu(menit)	Absorbansi
0	0,395
5	0,365
10	0,331
15(OT)	0,290
20	0,290
25	0,320
30	0,304
35	0,316

Pada penentuan kurva baku didapatkan data berupa nilai absorbansi yang kemudian data diolah dan diperoleh persamaan regresi linier $y = 0,0208x + 0,134$ dan nilai r yang diperoleh adalah 0,9966. Menurut Saifudin (2017) syarat minimal dari nilai r adalah 0,997. Nilai r yang baik mendekati 1 maka kurva akan linier antara konsentrasi dan absorbansi.⁹ Persamaan ini digunakan untuk menghitung kadar flavonoid yang terkandung dalam sampel ekstrak etanol kulit pisang emas dengan (y) sebagai nilai absorbansi dan (x) menyatakan kadar flavonoid.



Gambar 2. Kurva Baku Kuersetin

Setelah dilakukan penentuan kurva baku, didapatkan hasil pengukuran kadar flavonoid. Dapat dilihat di tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Pisang Emas

Replikasi	Kadar Flavonoid (mg QE/g)	Rata-Rata Kadar Flavonoid (mg QE/g)
1	14,134	14,759
2	14,663	
3	15,480	

Pada pengukuran senyawa flavonoid dibuat sebanyak tiga replikasi yang bertujuan untuk akurasi data. Kadar flavonoid pada ekstrak etanol kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) dinyatakan pada mg QE/g ekstrak. Kadar rata-rata flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol yang diketahui dari tabel 8 adalah sebesar 14,759 mg QE/g ekstrak.

Hasil Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase

Prinsip pada pengujian ini ialah mengetahui aktivitas penghambat enzim α -amilase dengan mengamati intensitas warna biru pada kompleks iodin-amilum karena berkurangnya subtract amilum akibat hidrolisis yang dilakukan oleh enzim α -amilase menjadi monosakarida (glukosa) yang tidak bereaksi dengan iodium.¹⁰

Tabel 5. Hasil Nilai IC₅₀ dan Acarbose, Ekstrak Kulit Pisang Emas dan Fraksi

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi	% penghambat	IC₅₀ ppm
Ekstrak etanol	12,5 ppm	0,149	44,349	10,252
	25 ppm	0,133	55,651	
	50 ppm	0,125	61,803	
	100 ppm	0,088	79,828	
	200ppm	0,056	96,137	
Fraksi- Heksana	12,5 ppm	0,186	31,474	70,386
	25ppm	0,194	33,047	
	50ppm	0,165	46,352	
	100 ppm	0,157	57,082	
	200 ppm	0,204	70,386	
Fraksietilase tat	12,5 ppm	0,147	45,207	7,9982
	25ppm	0,128	57,7940	
	50ppm	0,123	62,804	
	100 ppm	0,179	70,386	
	200 ppm	0,131	93,705	
Fraksiair	12,5 ppm	0,150	43,777	19,567
	25ppm	0,133	55,651	
	50ppm	0,106	60,801	
	100 ppm	0,092	67,811	
	200 ppm	0,113	98,283	
Acarbose	0,620 ppm	0,206	37,339	1,4667
	1,25 ppm	0,174	48,641	
	2,5ppm	0,144	63,662	
	5ppm	0,126	72,389	
	10ppm	0,086	92,561	

Dari hasil pengukuran tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat (semi polar) mempunyai aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 7,9982 ppm. Hal ini dikarenakan senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat tersebut merupakan senyawa yang bersifat polar seperti senyawa fenolik dan flavonoid. Flavonoid adalah senyawa antidiabetik yang menurunkan kadar gula darah dengan berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase, maltase dan α -amilase. Flavonoid juga mampu menstimulasi pengambilan glukosa di otot melalui regulasi GLUT-4. Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin.¹¹

4. KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

- a. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) adalah flavonoid, saponin, tannin.
- b. Kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) adalah sebesar 14,759 mgQE/g ekstrak.
- c. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol dan fraksi kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) memiliki aktivitas penghambat enzim α -amilase yaitu yang tertinggi di fraksi etil asetat sebesar 7,9982ppm, ekstrak etanol kulit pisang emas (*Musa acuminata Colla*) sebesar 10,252 ppm, fraksi air 19,567ppm, fraksi *n*-Heksan sebesar 70,386 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Ajie, R. B. (2015). White Dragon Fruit (*Hyloceus undalus*) Potential A Diabetes Mellitus Treatment. *Jurnal Majority*. (4) 69-72.
- ²Patel, M. B., Mishra, S. M. (2012). Magnoflorine fro, *Tinospora cordifolia* Stem Inhibits α -glucosidase and is Antyglucemic in Rats. *J Funct Food* 4: Halaman 79.
- ³Kanazawa K, Saksakibara H. High Content of Dopamine, A Strong Antioxidant in Cavendish Banana. *J Agric Food Chem*. (2000);25(3):844-48.
- ⁴Evi D.P. Kadek. , Dewi, Abdul Wahid Jamaludin, dan Fedri Rell. (2018). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Pisang Mas (*Musa acuminata* (AA Group)) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Yang diinduksi Aloksan. *As-Syiffa* Vol 10 (02) : Hal.191-205, Desember, ISSN : 2085-4714.
- ⁵Departemen Kesehatan RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Diktorat Jendral POM-Depkes RI.
- ⁶Suharyanto. Prima, D.A.N. (2020).” Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Juice DaunUbi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Yang Berpotensi Sebagai Hepato protektor Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis”. *Cendikia Journal of Pharmacy*. Vol:4(2). Hal: 115.
- ⁷Chew K K, Khoo M Z, Ng S Y, Thoo Y Y., et al, 2011, Effect of Ethanol Concentration, Extraction Tie and Extraction Temperature on the Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Orthoshipon stamineus Extract, *International Food Research Journal*, 18(4):1427-1435.
- ⁸ Azizah, B. dan Salamah, N., (2013). Standarisasi Parameter Non Spesifik dan Perbandingan Kadar Kurkumin Ekstrak Etanol dan Ekstrak Terpurifikasi Rimpang Kunyit. *Pharmaciana*.Vol: 3(1). Hal: 48.
- ⁹Saifudin, A. (2014). *Buku Panduan Praktis Pelayanan Kesehatan Maternal*. Jakarta: YBPSP.

¹⁰ Nugrahanti, M. C. I. A. (2020). "Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Amilase Oleh Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) secara *InVitro*". *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma. Hal: 7,18.

¹¹ Panjuantiningrum, F, (2009). Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Sumatera Utara; Universitas Sumatera Utara.