

AKTIVITAS PENGHAMBATAN α -AMILASE OLEH EKSTRAK DAUN BAKAU MERAH (*Rhizophora stylosa*)

Ayu Dyah Purwati¹, Dwi Bagus Pambudi^{2*}, Wirasti³, Khusna Santika Rahmasari⁴

^{1,2,3,4}*Farmasi, Fakultas ilmu kesehatan, Univesitas Muhammadiyah Pekajangan
Pekalongan, Indonesia*

Jl. Raya Ambokembang No.8, Kambang Tengah, Ambokembang, Kec. Kedungwuni,
Kabupaten Pekalongan, Jawa Tengah 51172.

*Email: dwibagus589@umpp.ac.id

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit degeneratif yang prevalensinya terus meningkat di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi daun bakau merah (*Rhizophora stylosa*) sebagai agen antidiabetes alami melalui penghambatan enzim α -amilase. Ekstrak etanol daun bakau merah diperoleh melalui metode maserasi. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif. Aktivitas penghambatan α -amilase diuji menggunakan metode spektrofotometri dengan *acarbose* sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki aktivitas penghambatan α -amilase yang sangat aktif dengan nilai IC_{50} 16,074 $\mu\text{g/mL}$ lebih rendah dibandingkan *acarbose* (20,607 $\mu\text{g/mL}$). Skrining fitokimia mengungkapkan keberadaan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, steroid, dan tanin yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas penghambatan α -amilase.

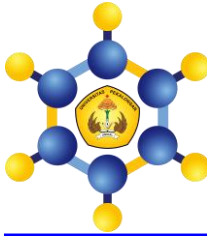
Kata kunci: *Rhizophora stylosa*, penghambatan α -amilase, antidiabetes.

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is one of the degenerative diseases whose prevalence continues to increase in Indonesia. This study aims to evaluate the potential of red mangrove leaves (*Rhizophora stylosa*) as a natural antidiabetic agent through inhibition of the α -amylase enzyme. Ethanol extract of red mangrove leaves was obtained through the maceration method. Phytochemical screening was carried out to identify bioactive compounds. The α -amylase inhibitory activity was tested using the spectrophotometric method with *acarbose* as a positive control. The results showed that the ethanol extract had very active α -amylase inhibitory activity with an IC_{50} value of 16.074 $\mu\text{g/mL}$ lower than *acarbose* (20.607 $\mu\text{g/mL}$). Phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, phenols, saponins, steroids, and tannins that potentially contribute to α -amylase inhibitory activity.*

Keywords: *Rhizophora stylosa*, α -amylase inhibition, antidiabetic.

A. Pendahuluan

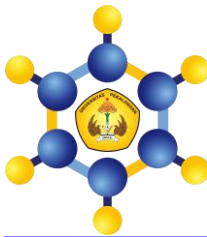


Penyakit degeneratif telah menjadi masalah kesehatan yang signifikan di Indonesia, dengan prevalensi yang terus meningkat. Beberapa contoh penyakit degeneratif yang umum ditemui termasuk diabetes, hipertensi, aterosklerosis, penyakit jantung koroner, stroke, osteoporosis, dan berbagai jenis kanker (Pardi et al., 2023). Salah satu faktor utama yang berkontribusi terhadap perkembangan penyakit degeneratif adalah radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang sangat reaktif karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Sifat reaktif ini menyebabkan radikal bebas cenderung mencari pasangan elektron baru dengan cara berikatan dengan molekul-molekul penting dalam tubuh seperti lipid, protein, dan DNA. Proses ini dapat mengakibatkan kerusakan sel dan jaringan, yang pada akhirnya berkontribusi pada perkembangan berbagai penyakit degeneratif (Pardede et al., 2023).

Dalam penghambatan enzim amylase dapat menggunakan tanaman bakau merah, bakau merah dapat tumbuh di tanah berlumpur atau berpasir di sekitar

pantai, menunjukkan ketahanannya terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem. Menurut (Wardani, 2018) bakau merah memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk antimikroba, antifungi, antidiabetes, antikanker, anti-inflamasi, penyembuhan luka, dan antioksidan. Masyarakat pesisir telah lama memanfaatkan berbagai bagian tanaman ini, termasuk akar, batang, daun, dan buah, sebagai obat tradisional untuk berbagai kondisi seperti luka, sakit gigi, diare, dan diabetes.

Beberapa penelitian sebelumnya telah mengindikasikan potensi antioksidan dan antidiabetes dari *Rhizophora stylosa*. (Hanapi et al., 2019) melaporkan bahwa ekstrak metanol dari akar dan daun *Rhizophora stylosa* memiliki nilai EC_{40} masing-masing sebesar 2,44 dan 4,01 ppm berdasarkan metode DPPH. Sementara itu, ekstrak etil asetat dari akar *Rhizophora stylosa* menunjukkan nilai EC_{40} sebesar 8,41 ppm, dan ekstrak n-heksana dari daun *Rhizophora stylosa* memiliki nilai EC_{40} 33,14 ppm. Studi lain yang dilakukan oleh (Raharjo 20 et al., 2022) menunjukkan bahwa fraksi etil asetat dari akar *Rhizophora stylosa* memiliki nilai IC_{50} sebesar $24,636 \pm$



0,128 mg GAE/g berdasarkan uji antioksidan metode FRAP. Temuan-temuan ini mengindikasikan potensi signifikan *Rhizophora stylosa* sebagai agen antidiabetes.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penghambatan α -amilase pada daun bakau merah (*Rhizophora stylosa*) secara in vitro menggunakan microplate reader. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan obat herbal untuk manajemen penghambatan enzim amylase. Selain itu, temuan ini juga dapat memperkaya literatur ilmiah tentang potensi farmakologis tanaman mangrove, khususnya *Rhizophora stylosa*, serta memberikan landasan ilmiah bagi penggunaan tradisional tanaman ini dalam pengobatan berbasis masyarakat.

B. Metode Penelitian

1. Alat

Peralatan utama yang digunakan meliputi neraca analitik (OHAUS), rotary evaporator (HEIDOLPH), pH meter, oven, waterbath,

inkubator, vortex (Scilogex), Smartreader 96 Microplate Absorbance Reader, Spektrofotometer UV-VIS (SHIMADZU) Single Beam, dan moisture analyzer (MB25).

2. Bahan

Bahan utama penelitian adalah daun bakau merah (*Rhizophora stylosa*). Bahan kimia yang digunakan meliputi etanol 96%, metanol, serbuk Mg, HCl, pereaksi Meyer dan Dragendorff, kloroform, asam asetat anhidrat, H_2SO_4 , FeCl_3 , Na_2CO_3 , kuersetin, AlCl_3 , vitamin C, natrium asetat anhidrat, TPTZ (2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, DMSO, Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH, kalium natrium tartrat, DNS (asam 3,5-dinitrosalisilat), enzim α -amilase, amilum solani (pati kentang), dan akardiose.

3. Langkah Penelitian

3.1. Preparasi Sampel

Daun *Rhizophora stylosa* (10 kg) dicuci bersih dengan air mengalir, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dipotong



kecil, dihaluskan menggunakan blender, dan diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan serbuk halus (Mariani et al., 2020).

3.2. Ekstraksi

Serbuk daun *Rhizophora stylosa* (500 g) diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% (2,5 L) selama 5 hari dengan pengadukan harian selama 1 jam. Remaserasi dilakukan menggunakan 1,5 L etanol 96% selama 1 hari. Filtrat dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C, dilanjutkan dengan pemanasan di atas waterbath (70°C) hingga diperoleh ekstrak kental (Mariani et al., 2020).

3.3. Karakterisasi Ekstrak

Uji Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis dilakukan pada simplisia dan ekstrak etanol meliputi bentuk, warna, dan bau (Novriyanti et al., 2022).

Penentuan Kadar Air

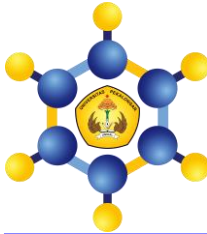
Kadar air simplisia dan ekstrak diukur menggunakan Moisture Analyzer MB25 dengan menimbang 2 g sampel (Utami, 2020).

3.4. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan senyawa fenol, flavonoid, alkaloid, saponin, steroid, terpenoid, dan tanin menggunakan metode kualitatif standar (Novriyanti et al., 2022).

3.5. Uji Penghambatan Enzim α -Amilase

Larutan dapar fosfat 0,01 M pH 7,0 dibuat dari campuran natrium dihidrogen fosfat dan natrium hidrogen fosfat, sedangkan larutan enzim α -amilase disiapkan dengan melarutkan 3,246 mg enzim dalam 100 mL dapar fosfat pH 7,0 sehingga menghasilkan aktivitas 0,5128 U/mL. Larutan amilum 0,5% dibuat dengan melarutkan 500 mg amilum dalam 100 mL air suling, larutan iodin 0,5% disiapkan dari 0,75 g kalium iodida dan 0,5 g iodin



dalam 100 mL air suling, serta larutan akarbose sebagai kontrol positif disiapkan dengan konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 µg/mL. Uji penghambatan α-amilase mengikuti metode (Wirasti et al., 2021) dengan modifikasi, menggunakan sampel berupa ekstrak etanol pada konsentrasi 25, 50, 75, dan 100 µg/mL.

Prosedur pengujian melibatkan blanko yang terdiri dari 1000 µL dapar fosfat pH 7,0 yang diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, kemudian ditambahkan 500 µL amilum 0,5%, diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu yang sama, dan ditambahkan 10 µL iodine 0,5%. Untuk kontrol sampel, 500 µL sampel dicampur dengan 500 µL dapar fosfat pH 7,0, diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu ditambahkan 500 µL dapar fosfat pH 7,0, diinkubasi kembali selama 15

menit pada suhu yang sama, dan ditambahkan 10 µL iodine 0,5%. Sementara untuk sampel, 500 µL sampel dicampur dengan 500 µL larutan enzim α-amilase, diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C, lalu ditambahkan 500 µL amilum 0,5%, diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu yang sama, dan ditambahkan 10 µL iodine 0,5%. Absorbansi diukur menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 540 nm.

C. Hasil dan Pembahasan

1. Ekstraksi Sampel

Dari 10 kg daun bakau merah segar, diperoleh 2,94 kg serbuk kering setelah melalui proses penghalusan menggunakan blender dan pengayakan dengan ayakan 40 mesh. Hasil ini menunjukkan rendemen simplisia sebesar 29,4% dengan kadar air 8,79% (Tabel 1). Kadar air yang diperoleh memenuhi syarat simplisia yaitu <10%, yang penting untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme dan menjaga stabilitas simplisia

Tabel 1. Hasil Rendemen Simplisia Daun Bakau Merah

Sampel	Berat Basah Simplisia (kg)	Berat Kering Simplisia (kg)	Rendemen (%)	Kadar Air (%)
--------	----------------------------	-----------------------------	--------------	---------------



Daun bakau merah (<i>Rhizophora stylosa</i>)	10	2,94	29,4	8,79
--	----	------	------	------

Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 g serbuk simplisia dimaserasi dengan 3 L etanol 96% selama 5 hari, dilanjutkan dengan remaserasi selama 2 hari. Hasil maserasi dan remaserasi dipekatkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dan diuapkan di atas waterbath pada suhu 60°C untuk mendapatkan ekstrak kental. Dari proses ini, diperoleh 132 g ekstrak kental dengan rendemen ekstrak 26,4% (Tabel 1).

2. Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Daun Bakau Merah

Uji senyawa	Perubahan	Ekstrak etanol
Alkaloid		
- Mayer	Endapan putih	(-)
- Dragendorff	Endapan oren	(+)
Flavonoid	Merah	(+)
Fenol	Hijau	(++++)
Saponin	Terbentuk busa	(+)
	Hijau	
Steroid	Merah	(+++)
Terpenoid	Hijau	(-)
Tanin	kehitaman	(+++)

Alkaloid terdeteksi positif pada ekstrak etanol dengan pereaksi Dragendorff. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan oranye (Dragendorff). Pembentukan endapan ini disebabkan oleh ikatan kovalen koordinasi antara ion logam (K^+ atau Hg^{2+}) dengan alkaloid (Aryanti et al., 2021). Flavonoid terdeteksi positif pada ekstrak etanol ditandai dengan perubahan warna menjadi merah kecoklatan. Hal ini disebabkan oleh pembentukan

kompleks antara ion magnesium dengan gugus OH fenolik senyawa flavonoid (Pambudi et al., 2021).

Fenol terdeteksi positif pada sampel, ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi hijau kehitaman setelah penambahan $FeCl_3$. Perubahan warna ini disebabkan oleh pembentukan ikatan kovalen koordinasi antara ion besi (III) dengan gugus OH fenolik (Aryanti et al., 2021). Saponin terdeteksi positif pada ekstrak etanol ditandai dengan



pembentukan busa setinggi 1 cm yang stabil setelah penambahan HCl 2 N. Hal ini disebabkan oleh kemampuan saponin membentuk larutan koloidal dalam air (Aryanti et al., 2021). Steroid terdeteksi positif pada sampel, ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau setelah penambahan pereaksi Lieberman-Burchard. Sementara itu, terpenoid tidak terdeteksi pada sampel. Tanin terdeteksi positif pada sampel, ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan FeCl_3 . Perubahan warna ini disebabkan oleh reaksi antara ion besi (III) dengan gugus hidroksil pada tanin (Aryanti et al., 2021). Hasil skrining fitokimia ini mengindikasikan keberagaman senyawa bioaktif dalam daun bakau merah yang berpotensi memiliki aktivitas antioksidan dan penghambatan α -amylase.

3. Aktivitas Penghambatan α -Amylase

Pengujian dilakukan pada seri konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 $\mu\text{g/mL}$ untuk sampel dan acarbose sebagai kontrol positif. Hasil menunjukkan bahwa persentase inhibisi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi sampel (Tabel 5). Kurva standar acarbose menunjukkan hubungan linear antara konsentrasi dan persentase inhibisi dengan persamaan $y = 0,1053x + 47,83$ dan $R^2 = 0,6886$. Nilai R^2 yang mendekati 1 ini menunjukkan adanya korelasi yang baik antara peningkatan konsentrasi dengan peningkatan persentase inhibisi (Gandjar et al., 2017). Nilai IC_{50} dihitung untuk menentukan konsentrasi sampel yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas α -amylase. Hasil perhitungan IC_{50} (Tabel VI) menunjukkan.

Tabel 3. Hasil IC_{50} pada Acarbose dan Sampel

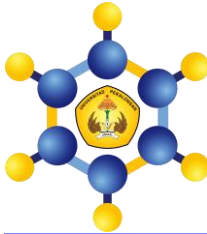
Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Acarbose	20,607
Ekstrak Etanol	16,074

Berdasarkan kategori aktivitas penghambatan α -amylase menurut (Savitri et al., 2021) hasil penelitian ini menunjukkan

bahwa Ekstrak etanol memiliki aktivitas penghambatan α -amylase yang sangat aktif ($\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/ml}$).

Tabel 4. Kategori IC_{50} Sampel

Sampel	Perhitungan Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Kategori
Acarbose	20,607	Sangat Aktif
Ekstrak Daun Bakau Merah	16,074	Sangat Aktif



Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bakau merah memiliki potensi yang sebanding dengan acarbose dalam menghambat aktivitas α -amylase. Hal ini mungkin disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, fenol, dan tanin yang terdeteksi dalam skrining fitokimia. Senyawa-senyawa ini telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat enzim pencernaan karbohidrat, termasuk α -amylase (Amari, 2023). Flavonoid, misalnya, dapat membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif enzim α -amylase, menghambat aktivitas katalitiknya. Tanin juga dapat berinteraksi dengan enzim melalui pembentukan kompleks yang tidak larut, mengurangi ketersediaan substrat bagi enzim (Gandjar, 2023).

Perbedaan aktivitas penghambatan antara ekstrak dapat dijelaskan oleh variasi kandungan senyawa bioaktif yang terekstrak pada masing-

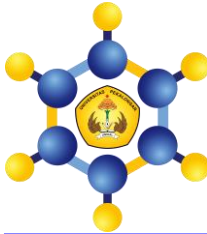
D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa daun bakau merah (*Rhizophora stylosa*) memiliki potensi yang signifikan sebagai agen antidiabetes alami. Ekstrak etanol dari daun bakau merah menunjukkan aktivitas penghambatan α -amilase yang sangat aktif, bahkan melebihi

masing pelarut. Ekstrak etanol menunjukkan aktivitas penghambatan yang tinggi di antara semua sampel, bahkan lebih tinggi dari acarbose. Hal ini mungkin disebabkan oleh efek sinergis dari berbagai senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak kasar. Kombinasi senyawa-senyawa ini mungkin bekerja melalui mekanisme yang berbeda-beda, menghasilkan efek penghambatan yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa tunggal atau fraksi-fraksi yang lebih murni.

Perlu dicatat bahwa meskipun ekstrak etanol menunjukkan aktivitas penghambatan yang sangat aktif, efektivitasnya masih perlu dievaluasi lebih lanjut melalui uji in vivo dan uji klinis. Selain itu, mekanisme penghambatan α -amylase oleh ekstrak daun bakau merah perlu diteliti lebih lanjut untuk memahami interaksi spesifik antara senyawa bioaktif dan enzim target.

acarbose sebagai obat antidiabetes standar. Nilai IC_{50} ekstrak etanol (16,074 $\mu\text{g/mL}$) lebih rendah dibandingkan acarbose (20,607 $\mu\text{g/mL}$), menunjukkan potensi penghambatan α -amilase yang lebih kuat.. Skrining fitokimia mengungkapkan keberadaan berbagai senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, fenol,



saponin, steroid, dan tanin dalam ekstrak dan fraksi daun bakau merah. Senyawa-senyawa ini kemungkinan berkontribusi terhadap aktivitas penghambatan α -amilase yang diamati. Perbedaan aktivitas antar ekstrak menunjukkan pentingnya pemilihan metode ekstraksi dan pelarut yang tepat untuk mengoptimalkan ekstraksi senyawa bioaktif.

E. Referensi

- Ahmad Hanapi, A. Ghanaïm Fasya, A. S. (2019). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak n-Heksana, Etil Asetat, Metanol Daun dan Akar Bakau Merah (Rhizophora Stylosa) dengan Metode DPPH*.
- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24.
- Mariani, Y., Yusro, F., & Wardenaar, E. (2020). Aktivitas Ekstrak Metanol Daun Ulin (*Eusideroxylon Zwageri* Teijsm & Binn) Terhadap Empat Jenis Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis*, 20(1), 94–101.
- Novriyanti, R., Putri, N. E. K., & Rijai, L. (2022). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Menggunakan Metode DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 15, 165–170.
- Pambudi, D. B., Raharjo, D., Fajriyah, N. N., & Sya'bania, M. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kersen (Muntingia Calabura L.) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Proceeding of The 14th University Research Colloquium 2021: Bidang Kesehatan*, 979–985.
- Raharjo, D., Listyani, T. A., & Pambudi, D. B. (2022). Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Akar *Rhizophora stylosa* Metode ABTS dan FRAP. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 15(2), 123–137.
- Utami, Y. P. (2020). PENGUKURAN PARAMETER SIMPLISIA DAN EKSTRAK ETANOL DAUN PATIKALA (*Etilingera elatior* (Jack) R.M. Sm) ASAL KABUPATEN ENREKANG SULAWESI SELATAN. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*, 24(1), 6–10.
- Wardani, N. A. K. (2018). Enzim α -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian*, 1(2), 50–59.
- Willian, N., Pardi, H., & Arief, S. (2023). Pembuatan dan Karakterisasi Nanopartikel Perak Menggunakan Ekstrak Buah Mangrove *Rhizophora stylosa*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 19(1), 53.
- Wirasti, W., Lestari, T., Kesehatan, F. I., Muhammadiyah, U., Pekalongan, P., Studi, P., Keperawatan, D., Kesehatan, F. I., Pekajangan, U. M., & Indonesia, J. T. (2021). *Penghambatan Ekstrak Daun Kremah (Alternanthera sessilis)*



BENZENA
Pharmaceutical Scientific Journal
Vol.03 No. 02 (Desember) (2024)
e-ISSN 2961-7375

*Terhadap Enzim α -amilase
secara In-Vitro In-vitro Study of
 α -Amylase Inhibition of Kremah*

*Leaves Extract (*Alternanthera
sessilis*). 18(1), 68–74.*