

Uji In Vitro Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) Terhadap Penghambatan Enzim α -Amilase

*(In Vitro Test of Leilem Leaves (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) Ethanol Extract Activity on α -Amylase Enzyme Inhibition)*

Patrisia Christy Rembet¹⁾, Billy J. Kepel^{2)*}, Widdhi Bodhi²⁾, Fatimawali²⁾, Fona D. H. Budiarso²⁾, Aaltje E. Manampiring²⁾

¹⁾Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran UNSRAT

²⁾Bagian Kimia Fakultas Kedokteran UNSRAT Manado, 95115

*Email korespondensi: billy.kepel@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Diabetes merupakan masalah kesehatan global yang serius dengan tingkat prevalensi penderita yang semakin meningkat. Penghambatan enzim α -amilase dapat menjadi salah satu strategi dalam mengatasi masalah penyakit diabetes dengan mengurangi penyerapan glukosa oleh tubuh. Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.), sebuah tumbuhan endemis yang sering dikonsumsi oleh masyarakat Minahasa, Sulawesi Utara, memiliki potensi sebagai obat diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penghambatan enzim α -amilase oleh ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.), dibandingkan dengan efek akarbose sebagai control positif. Ekstrak kental daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dibuat melalui maserasi dengan etanol 96%. Aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase diuji in vitro dengan variasi konsentrasi ekstrak 37,5 ppm, 75 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, dan 600 ppm. Pengujian dilakukan menggunakan metode FUWA dengan amilum sebagai substrat dan dinilai menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Berdasarkan pengukuran pada panjang gelombang 670 nm, diperoleh nilai IC_{50} ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) sebesar 22,1 μ g/ml. Nilai IC_{50} tersebut menunjukkan aktivitas penghambatan yang lebih kuat 1,37 kali dibandingkan dengan akarbose yang memiliki nilai IC_{50} 30,36 μ g/ml. Berdasarkan hasil tersebut, ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) menunjukkan aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap enzim α -amilase sehingga berpotensi sebagai agen anti-diabetes yang bernilai untuk penelitian lebih lanjut.

Kata kunci: antidiabetes; daun leilem; enzim α -amilase

ABSTRACT

Diabetes is a serious global health problem with an increasing prevalence rate. Inhibition of α -amylase enzyme can be a strategy to overcome the diabetes problem by reducing body glucose uptake. Leilem, an endemic plant often consumed by the people of Minahasa, North Sulawesi, has potential as a diabetes medicine. This study aims to determine the inhibitory effect of α -amylase enzyme by ethanol extract of Leilem leaves, compared with the effect of akarbose as a positive control. Thick extract of Leilem leaves was prepared through maceration with 96% ethanol. The inhibitory activity against α -amylase enzyme was tested in vitro by varying extract concentrations to 37.5 ppm, 75 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, and 600 ppm. The test was conducted using the FUWA method with amylum as a substrate and assessed using UV-Vis spectrophotometry. Based on spectrophotometric measurements at a wavelength of 670 nm, the IC_{50} value of Leilem leaf extract was 22.1 μ g/ml. This IC_{50} value indicates a 1.37 times stronger inhibition activity compared to akarbose which has an IC_{50} 30.36 μ g/ml. Based on these results, Leilem leaf extract showed significant inhibitory activity against α -amylase enzyme and has potential as an anti-diabetic agent worthy of further research.

Key words: antidiabetes; leilem leaves; α -amylase enzyme

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah gangguan metabolisme persisten yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah di atas nilai normal atau disebut hyperlipidemia. Hal ini diakibatkan oleh pankreas yang tidak lagi memiliki kemampuan untuk

mensekresi insulin atau tubuh yang menjadi resisten terhadap insulin. Defisit insulin tidak terkontrol jika dibiarkan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan disfungsi dan kegagalan signifikan berbagai organ, seperti jantung, pembuluh darah, saraf, ginjal, dan mata hingga kematian (World Health Organization, n.d.). Menurut laporan dari *International Diabetes Federation*, pada tahun 2021 sekitar 537 juta orang dewasa antara usia 20 dan 79 tahun di seluruh dunia merupakan penderita diabetes. Diproyeksikan jumlah ini akan terus meningkat pada tahun 2030 menjadi 643 juta dan pada tahun 2045, diproyeksikan menjadi 783 juta orang dalam kelompok usia yang sama (International Diabetes Federation, 2021).

Penggunaan enzim pencernaan untuk mencegah penyerapan gula dalam tubuh adalah salah satu strategi pengobatan diabetes yang dapat dilakukan. Enzim α -amilase adalah enzim yang mengambil peran yang penting dalam strategi ini. Enzim α -amilase adalah enzim yang berperan sebagai endoamilase yang berfungsi memutuskan ikatan α -1,4 glikosidik antara molekul glukosa pada rantai linier amilosa atau amilopektin untuk menghasilkan produk dengan konfigurasi α (Wahyuni, 2017). Melalui pemberian penghambat enzim α -amilase, pemecahan karbohidrat menjadi glukosa dapat dikurangi, sehingga penyerapan glukosa oleh tubuh juga dapat berkurang, sehingga dampaknya akan terlihat pada penurunan kadar glukosa darah (Ogunyemi *et al.*, 2022). Oleh karena itu, penemuan senyawa penghambat α -amilase menjadi suatu alternatif dalam upaya mengurangi prevalensi penyakit diabetes. Terdapat dua golongan penghambat α -amilase, yaitu golongan protein dan golongan non protein. Penghambat non protein terdiri atas berbagai senyawa organik seperti flavonoid yang dapat diperoleh dari tumbuhan (Bilal Shah *et al.*, 2018).

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki keanekaragaman hayati dan memiliki kepercayaan secara turun temurun mengenai pengobatan secara tradisional. Tumbuhan Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) adalah tanaman yang berpotensi digunakan sebagai obat diabetes. Tumbuhan Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) sendiri umumnya dimanfaatkan sebagai bahan sayuran, sering ditambahkan dalam hidangan daging, dan secara empiris dimanfaatkan sebagai obat tradisional oleh masyarakat. Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) adalah salah satu spesies clerodendrum yang banyak tumbuh di wilayah Sulawesi Utara, khususnya di Minahasa. Genus *Clerodendrum* ini memiliki peran penting dalam pengembangan pengobatan, termasuk sebagai agen anti-inflamasi, antidiabetes, dan antibakteri yang telah diidentifikasi melalui pendekatan etnofarmakologi. Penelitian yang dilakukan oleh Kairupan *et al.* (2019) mendapatkan kandungan kimia yang terkandung didalam daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) antara lain fenol, flavonoid, steroid, saponin, dan alkaloid, dimana senyawa-senyawa tersebut dapat berperan dalam menghambat enzim α -amilase. Namun penelitian tentang potensi daun leilem yang termasuk genus *clerodendrum* hingga saat ini masih relatif sedikit dan sangat terbatas.

Berdasarkan uraian di atas, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fitokimia yang terdapat dalam ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dan untuk mengetahui bagaimana efek penghambatannya dalam mempengaruhi aktivitas enzim α -amilase sebagai kandidat anti diabetes.

METODE

Pengambilan dan Pengolahan Sampel

Sampel daun tanaman Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) yang digunakan diperoleh dari Desa Kayuuwi, Kecamatan Kawangkoan Barat, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara yang terletak di antara 1°12'34.9" LU 124°46'29.4" BT dan Desa Rumooong Atas, Kecamatan Tareran, Kabupaten Minahasa Selatan, Provinsi Sulawesi Utara yang terletak di antara 1°13'45.5" LU 124°44'13.0" BT. Sampel dipetik dan disortasi kemudian di bawah ke Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. Sampel kemudian dicuci dengan air mengalir lalu dikeringkan hingga diperoleh kadar air <10%. Sampel yang sudah kering dibuat serbuk menggunakan blender kemudian diayak menggunakan ayakan 100 mesh untuk mendapatkan serbuk halus yang berukuran homogen.

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan menimbang sebanyak 400 Gram serbuk simplisia daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.), kemudian direndam menggunakan 2000 ml etanol 96% selama 3 hari. Ampas yang tersisa dari maserasi direndam kembali dengan 500 mL pelarut yang sama selama 2 hari untuk remaserasi. Filtrat maserasi dan remaserasi kemudian dipekatkan menggunakan oven selama 3 hari sampai diperoleh ekstrak kental (Utami *et al.*, 2017).

Skrining Fitokimia

Alkaloid

Sebanyak 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak dicampur dengan ekstrak kemudian dipanaskan, dikocok dan disaring. Tambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N, kemudian campurkan dan diamkan. Bagian atas dari filtrat diambil kemudian dibagi menjadi tiga dan diuji dengan menggunakan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorff. Adanya alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih, cokelat, dan jingga.

Flavonoid

Sebanyak 3 mL etanol 70 % dicampur dengan ekstrak lalu dikocok, dipanaskan, dan dikocok lagi lalu disaring. 0,1 gram serbuk Mg dan 2 tetes HCl pekat ditambahkan ke filtrat yang dihasilkan. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna merah pada lapisan etanol.

Saponin

Sebanyak 10 mL air panas ditambahkan ke dalam ekstrak yang telah dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah dingin, kocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk buih setinggi 1-10 cm dalam waktu 10 menit atau lebih dan ketika penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang, maka dikatakan positif mengandung saponin.

Tanin

Ekstrak disari dengan 10 mL air kemudian disaring, filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Sebanyak 2 mL larutan diambil dan ditambahkan FeCl 1 % sebanyak 2 tetes. Adanya tannin ditunjukkan dengan terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman.

Terpenoid/Steroid

Sebanyak 3 mL kloroform atau 3 mL etanol 70 % dicampur dengan ekstrak dan ditambahkan 2 mL asam sulfat pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Adanya senyawa steroid ditunjukkan dengan perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau dan adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna kecoklatan antar permukaan.

Fenolat

Ekstrak dilarutkan menggunakan metanol. Ekstrak cair sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan larutan FeCl 1% sebanyak 3-5 tetes. Adanya senyawa fenol dalam ekstrak ditunjukkan dengan munculnya warna hijau kehitaman.

Penyiapan Larutan Uji*Pembuatan larutan enzim α -amilase*

Larutan enzim α -Amilase dibuat dengan menimbang enzim α -Amilase sebanyak 500 mg kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dan diaduk sampai homogen.

Pembuatan larutan pati 1%

Larutan pati 1% dibuat dengan menimbang 1000 mg amilum kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dan diaduk sampai homogen.

Pembuatan larutan HCl

Larutan HCl dibuat dengan mengambil 0,83 mL larutan HCl pekat kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades dan diaduk sampai homogen.

Pembuatan larutan iodine

Larutan iodine dibuat dengan mengambil sebanyak 0,5 gram iodium dan 0,5 gram kalium iodida kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades sampai larut sempurna.

*Pembuatan seri konsentrasi larutan ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.)*

Larutan ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dibuat dengan menimbang sebanyak 20 mg ekstrak kental daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) lalu dilarutkan ke dalam 20 mL DMSO untuk menghasilkan larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm. Siapkan 6 labu ukur 10 mL, bagi larutan stok ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dengan memipet 0,375 mL, 0,75 mL, 1,5 mL, 3 mL, 4,5 mL, dan 6 mL dimasukkan ke masing-masing labu ukur. Kemudian dicukupkan dengan aquades sampai 10 mL sehingga menjadi seri konsentrasi 37,5 ppm, 75 ppm, 150 ppm, 300 ppm, 450 ppm, dan 600 ppm. Larutan kontrol disiapkan menggunakan prosedur yang sama, dengan menggantikan ekstrak dengan akardose 20 mg yang dilarutkan dalam 20 mL aquades.

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase

Pengujian efek penghambatan enzim oleh larutan ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dibuat dengan memasukkan 1 mL larutan pati 1% ke dalam tabung reaksi kemudian dari konsentrasi 37,5; 75; 150; 300; 450; dan 600 ppm larutan ekstrak diambil masing-masing 1 mL kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi berbeda. Lalu, masukkan 1 mL larutan enzim α -Amilase dan 2 mL buffer fosfat pH 7 ke dalam larutan dan diaduk sampai homogen

kemudian diinkubasi selama 10 menit. Untuk menghentikan reaksi, tambahkan 1 mL HCl 1 N lalu tambahkan 0,1 mL indikator iodine. Larutan uji lain disiapkan menggunakan prosedur yang sama, dengan menggantikan ekstrak dan enzim dengan aquadest pada blanko dan menggantikan ekstrak dengan akardose pada kontrol positif. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum yang diukur dari blanko (Alda *et al.*, 2022).

Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan perhitungan nilai % inhibisi penghambatan aktivitas enzim α -amilase oleh ekstrak dan akardose dengan menggunakan rumus (Alda *et al.*, 2022):

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

A kontrol: Absorbansi larutan blanko (tanpa ekstrak dan enzim)

A sampel: Absorbansi larutan uji (ekstrak atau akardose)

Regresi linier antara konsentrasi sebagai sumbu X dan % inhibisi sebagai sumbu Y akan menghasilkan persamaan regresi linier $y = bx + a$ yang kemudian digunakan untuk penilaian IC_{50} dengan memasukkan ke dalam persamaan (Pratasik *et al.*, 2022). Setelah itu dilanjutkan dengan menghitung nilai IC_{50} dari sampel dengan rumus (Alda *et al.*, 2022):

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Nilai IC_{50} yang diperoleh sampel dan kontrol positif yaitu akardose kemudian dibandingkan untuk mendapatkan nilai potensi relatif dengan rumus: (Shoffiyanti *et al.*, 2019)

$$\text{Potensi relatif} = \frac{\text{Nilai } IC_{50} \text{ akardose}}{\text{Nilai } IC_{50} \text{ ekstrak daun leilem}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Maserasi

Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) segar yang dipetik sebanyak 5000 gram setelah dikeringkan menghasilkan bobot kering sebesar 970,59 gram dan 716,32 gram serbuk simplisia halus. Dari 400 gram simplisia halus yang dimaserasi, didapatkan hasil rendemen sebanyak 28,84 gram atau sama dengan 7,21% persen rendemen.

Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia (**Tabel 1**) pada ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) didapatkan reaksi positif pada senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, saponin, steroid, dan terpenoid. Hasil uji menunjukkan perubahan warna menjadi merah jingga, menunjukkan adanya flavonoid. Luteolin dan myrecitin adalah golongan flavon yang dipercaya berkhasiat sebagai penghambat enzim α -amilase (Shoffiyanti *et al.*, 2019)

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun Leilem

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil Pengamatan
Alkaloid	Mayer	++
	Wagner	+
	Dragendrof	+
Flavonoid	HCl + Mg	+
Fenol	FeCl ₃	+
Tannin	FeCl ₃	+
Saponin	Air + HCl	+
Steroid	H ₂ SO ₄ + CH ₃ COOH	+
Terpenoid	H ₂ SO ₄ + CH ₃ COOH	+

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase

Penelitian ini dilakukan untuk menguji kemampuan ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn.*) dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase (**Tabel 2**). Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -amilase dalam penelitian ini dilakukan secara in vitro menggunakan metode FUWA (Fleischer, 2019). Hasil pembacaan ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 670 nm, dengan dengan absorbansi blangko sebesar 0,891.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim oleh sampel

Konsentrasi (ppm)	Percobaan			Rata-Rata absorbansi	%inhibisi
	1	2	3		
600	0,765	0,730	0,737	0,744	7,23
450	0,637	0,685	0,689	0,670	16,42
300	0,606	0,578	0,596	0,593	26,02
150	0,527	0,601	0,519	0,549	31,55
75	0,469	0,530	0,528	0,509	36,53
37,5	0,477	0,455	0,486	0,473	41,06

Nilai aktivitas inhibisi yang dihasilkan sampel kemudian dibandingkan dengan aktivitas inhibisi akarbosa sebagai kontrol positif (**Tabel 3**). Penggunaan akarbosa sebagai pembanding karena akarbosa adalah obat antidiabetes yang bekerja dengan menghambat hidrolisis karbohidrat, disakarida, dan absorpsi glukosa, sehingga memperlambat penyerapan gula setelah makan. Akarbosa bekerja dengan menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Fitrianingsih *et al.*, 2016).

Tabel 3. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim oleh akarbosa

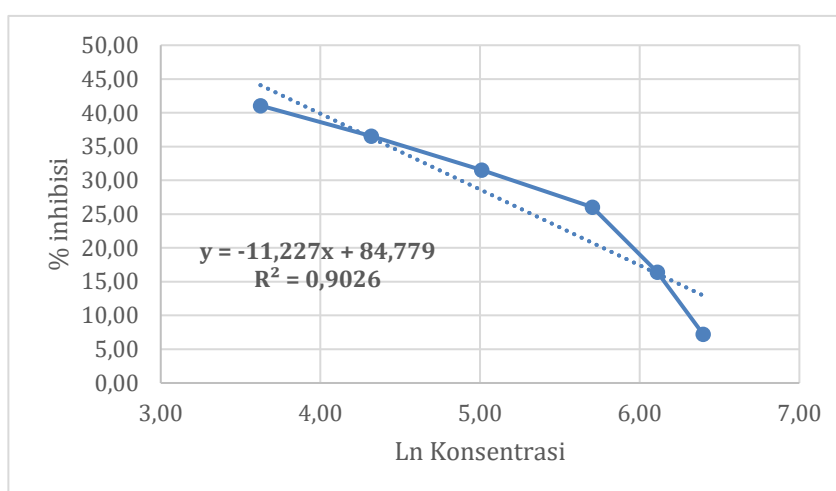
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	%inhibisi
600	0,575	28,30
450	0,564	29,68
300	0,568	29,18
150	0,439	45,26
75	0,443	44,76
37,5	0,440	45,14

Hasil pembacaan menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan nilai absorbansi yang semakin menurun seiring dengan penurunan konsentrasi sampel, berbanding dengan nilai % inhibisi yang makin lama makin meningkat. Kedua larutan sama-sama memiliki tingkat persen inhibisi terendah pada konsentrasi 600 ppm, yang menunjukkan bahwa kedua larutan pada konsentrasi tersebut memiliki kemampuan terbaik untuk menghambat enzim amilase daripada konsentrasi pengenceran lainnya. Menurut nilai % inhibisi pada konsentrasi tersebut diketahui bahwa aktivitas inhibitor α -amilase ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) lebih baik dari akarbose, karena mempunyai nilai persen inhibisi 7,23% dibandingkan akarbose pada konsentrasi yang sama mempunyai nilai persen inhibisi 28,30%.

Nilai % inhibisi disini merujuk pada seberapa banyak pati yang masih bisa dihidrolisis oleh enzim setelah diberikan penghambat. Hal ini terjadi karena semakin rendah konsentrasi sampel, semakin lemah penghambatan yang dilakukan, maka semakin banyak pati yang dapat terhidrolisis. Akibatnya, jumlah pati yang dapat berinteraksi dengan iodine dan membentuk kompleks biru akan menurun. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa konsentrasi inhibitor, baik ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) maupun akarbose sebagai kontrol positif, berkorelasi negatif dengan jumlah pati yang terhidrolisis. Ini karena kerja inhibitor menghambat kerja enzim α -amilase dalam menghidrolisis pati. Hal ini berarti jumlah konsentrasi mempengaruhi kekuatan efek penghambatan yang dihasilkan.

Analisis Nilai IC₅₀

Untuk mengetahui aktivitas penghambatan sampel terhadap enzim, diperlukan nilai IC₅₀ yang menunjukkan sejumlah konsentrasi sampel untuk menghambat aktivitas enzim sebesar 50%.



Gambar 1. Grafik hasil uji aktivitas penghambatan enzim oleh sampel

Nilai IC₅₀ ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) didapatkan dari persamaan regresi linier yang ada pada **Gambar 1**. Diperoleh nilai korelasi (r) = 0,9026, nilai intersep (a) = 84,779, dan nilai slope (b) = -11,227. Dari persamaan tersebut, terdapat koefisien x yang adalah konsentrasi ekstrak yang akan

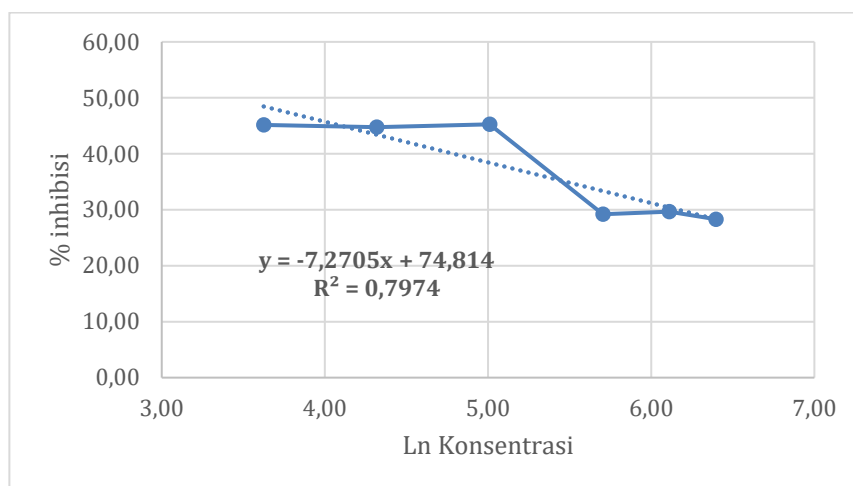
dicari nilainya, dan koefisien y adalah IC_{50} . Dari persamaan tersebut, didapatkan nilai IC_{50} dari ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) adalah sebesar 22,1 ppm dengan perhitungan sebagai berikut:

$$x = \frac{50 - 84,779}{-11,227}$$

$$x = 3,10$$

$$IC_{50} = \text{Anti Ln } X$$

$$IC_{50} = 22,1 \text{ ppm}$$



Gambar 2. Grafik hasil uji aktivitas penghambatan enzim oleh akarbose

Nilai IC_{50} larutan akarbose sebagai kontrol positif didapatkan dari persamaan regresi linier yang ada pada **Gambar 2**. Diperoleh nilai korelasi (r) = 0,7974, nilai intersep (a) = 74,814, dan nilai slope (b) = -7,2705. Dari persamaan tersebut, didapatkan nilai IC_{50} dari akarbose adalah sebesar 30,36 ppm dengan perhitungan sebagai berikut:

$$x = \frac{50 - 74,814}{-7,2705}$$

$$x = 3,41$$

$$IC_{50} = \text{Anti Ln } X$$

$$IC_{50} = 30,36 \text{ ppm}$$

Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan penghambatan yang lebih baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) lebih rendah daripada akarbose sebagai pembanding. Ini menunjukkan bahwa ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase daripada kontrol positif, akarbose.

Perhitungan Potensi Relatif

Hasil perhitungan nilai potensi relatif sebagai perbandingan antara ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dengan akarbose sebagai kontrol positif adalah 1,37, yang berarti ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim 1,37 kali lebih kuat daripada akarbose. Dengan perhitungan:

$$\begin{aligned} \text{Potensi relatif} &= \frac{30,36}{22,10} \\ &= 1,37 \end{aligned}$$

Potensi yang cukup kuat dari ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase diduga disebabkan karena terdapat senyawa kimia aktif di dalam daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) yang diidentifikasi melalui hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan. Senyawa-senyawa ini memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase.

Hal ini sejalan dengan temuan dari Kepel *et al.*, (2022) bahwa senyawa utama dalam Leilem (Lup-20(29)-en-3-ol, asetat (3beta)-) menunjukkan potensi besar sebagai agen antidiabetes, dimana senyawa ini memiliki daya ikat energi yang jauh lebih tinggi daripada acarbose serta memenuhi aturan lima Lipinski, memiliki sifat ADMET yang aman, dan berpotensi sebagai obat antidiabetes menurut prediksi PASS.

Penelitian lain oleh Utami *et al.* (2018) menemukan bahwa flavonoid adalah senyawa terbanyak dalam ekstrak daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). Senyawa ini diduga memiliki peran dalam menghambat enzim α -amilase (Fitrianingsih *et al.*, 2016). Flavonoid adalah senyawa polifenol yang memiliki potensi sebagai agen antidiabetes karena kemampuannya untuk menghambat kerja enzim α -glukosidase, maltase, dan α -amilase. Flavonoid mampu merangsang pengambilan glukosa otot dengan mengatur GLUT-4 (Plasmawati *et al.*, 2023). Flavonoid juga dapat meningkatkan produksi GLP-1, yang dapat merangsang pulau langerhans untuk regenerasi sel β dan merangsang sekresi insulin. Beberapa flavonoid yang dikaitkan dengan penghambatan α -amilase adalah luteolin, quercetin, dan myricetin (Kusmiyati *et al.*, 2023; Shoffiyanti *et al.*, 2019).

Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) juga mengandung saponin, yang memiliki aktivitas antidiabetes yang signifikan. Itu telah terbukti menghambat enzim alfa-amilase dan alfa-glukosidase pada hati tikus yang menderita diabetes mellitus tipe 2 (Waisundara *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka didapati bahwa ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) mengandung senyawa bioaktif berupa alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, saponin, steroid, dan terpenoid. Ekstrak etanol daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) juga didapatkan memiliki aktivitas penghambatan terhadap aktivitas enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} 22,10 ppm dan mempunyai potensi relatif 1,37 kali lebih kuat daripada akarbose sebagai kontrol positif, sehingga dapat menjadi kandidat anti diabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Alda, L., Program, A., Farmasi, S., Ilmu, F., Universitas, K., Karawang, S., Jl, H. S., Ronggowaluyo, T. T., & Kabupaten, K. (2022). Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase oleh Ekstrak Herba Ciplukan (*Physalis Angulate* L) Secara In Vitro. *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 8(15), 335–346. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7049485>

- Bilal Shah, S., Sartaj, L., Ali, F., Ali Shah, S. I., & Tahir Khan, M. (2018). Plant extracts are the potential inhibitors of α -amylase: a review. *MOJ Bioequivalence & Bioavailability*, 5(5), 270–273. <https://doi.org/10.15406/mojbb.2018.05.00113>
- Fitrianingsih, S. P., Maulana, I. T., Choesrina, R., Dwiputri, D., & Aprilliani, R. (2016). Uji Aktivitas Penghambatan Alfa Amilase Ekstrak Daun Tithonia Diversifolia secara In Vitro. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian Dan PKM Kesehatan*, 6(1), 108–115. <https://proceeding.unisba.ac.id/index.php/kesehatan/article/view/1418>
- Fleischer, H. (2019). The Iodine Test for Reducing Sugars – A Safe, Quick and Easy Alternative to Copper(II) and Silver(I) Based Reagents. *World Journal of Chemical Education*, 7(2), 45–52. <https://doi.org/10.12691/wjce-7-2-3>
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas 10th edition*. https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf
- Kairupan, C. F., Mantiri, F. R., & H Rumende, R. R. (2019). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) as an Antihyperlipidemic and Antiatherosclerotic Agent. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012016>
- Kepel, B. J., Fatimahwali, Tallei, T. E., & Kalalo, M. J. (2022). Unraveling Anti-Diabetic and Pharmacological Properties of Green Gedi, Leilem, and Sesewanua Using A Pharmacoinformatics Approach. *Jurnal Littri*, 28(1), 21–34. <https://doi.org/10.21082/littri>
- Kusmiyati, M., Sudaryat, Y., Rismiarti, Z., & Sari, E. D. (2023). Uji Aktivitas Ekstrak Daun Dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Sebagai Antidiabetes Melalui Inhibisi α -Amilase. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung*, 15(1). <https://doi.org/10.34011/juriskesbdg.v15i1.2118>
- Ogunyemi, O. M., Gyebe, G. A., Saheed, A., Paul, J., Nwaneri-Chidozie, V., Olorundare, O., Adebayo, J., Koketsu, M., Aljarba, N., Alkahtani, S., Batiha, G. E. S., & Olaiya, C. O. (2022). Inhibition Mechanism of Alpha-Amylase, A Diabetes Target, by A Steroidal Pregnane and Pregnane Glycosides Derived from *Gongronema Latifolium* Benth. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.866719>
- Plasmawati, K. D., Artini, K. S., & Permatasari, D. A. I. (2023). Penetapan Kadar Flavonoid dan Uji Aktivitas Penghambat Enzim α -Amilase Ekstrak Etanol dan Fraksi Kulit Pisang Emas (*Musa Acuminata* Colla) Secara In-Vitro. *Pharmasipha : Pharmaceutical Journal of Islamic Pharmacy*, 7, 108–119. <https://doi.org/10.21111/pharmasipha.v7i2>
- Pratasik, V., Mege, R., & Yermia, M. S. (2022). In Vitro Antidiabetic Activity Of *Apis dorsata* Binghami Nest Extract. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 8(3), 733–743. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3196>
- Shoffiyanti, N. F., Dwita, L. P., & Anggia, V. (2019). Penghambatan α -Amilase dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Alpukat. *Prosiding POKJANAS TOI Ke 57*. <https://ffs.uhamka.ac.id/wp-content/uploads/2020/07/Naskah-17.pdf>

- Utami, Y. P., Halim Umar, A., Syahrani, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). In *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* (Vol. 2, Issue 1).
- Utami, Y. P., Imrawati, I., & Rasyid, A. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae* Teijsm Dan Binn.) dengan Metode Spektrofotometri. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(2), 82–92. <https://doi.org/10.35799/pmj.1.2.2018.21655>
- Wahyuni, S. (2017). *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Unimal Press. <https://repository.unimal.ac.id/3575/>
- Waisundara, V. Y., Watawana, M. I., & Jayawardena, N. (2015). *Costus Speciosus* and *Coccinia Grandis* : Traditional Medicinal Remedies for Diabetes. *South African Journal of Botany*, 98, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.01.012>
- World Health Organization. (n.d.). *Diabetes*. Who.Int. Retrieved July 26, 2023, from https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1