

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATAN ENZIM α -AMILASE DARI EKSTRAK LIMBAH BATANG KEMANGI

Witti Pawah¹, Edi Suryanto*¹, Feti Fatimah¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi

*Email: edi7suryanto@gmail.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan ekstrak sekuensial dari batang kemangi (*Ocimum sanctum* L.), kemampuannya untuk menangkal radikal bebas, dan fenolik, flavonoid, tannin terkondensasi dan kemampuan menghambat aktivitas enzim α -amilase. Serbuk batang kemangi diekstraksi secara sekuensial menggunakan heksana, etil asetat, etanol dan metanol. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol (EE) memiliki kandungan fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi tertinggi daripada ekstrak etil asetat (EEA), ekstrak methanol (EM) dan ekstrak n-heksana (ENH). Ekstrak EE (89,91%) dan EEA (88,75%) menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH paling tinggi daripada ekstrak EM (81,89%) dan ENH (39,11%), tetapi lebih rendah daripada α -tokoferol (99,46%) sebagai kontrol positif. Hasil ini juga menunjukkan bahwa ekstrak EE memiliki aktivitas penangkal radikal bebas ABTS lebih tinggi (70,69%) dibandingkan dengan ekstrak EEA (61,86%), EM (61,59%), dan ENH (6,67%). Hasil pengujian aktivitas penghambatan enzim α -amilase menunjukkan bahwa ekstrak EM, EE, EEA tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan acarbose sebagai kontrol positif. Ekstrak batang kemangi memiliki potensi antioksidan yang kuat dan dapat menghambat enzim α -amilase dalam pencegahan hiperglikemia.

Kata kunci: Batang kemangi, aktivitas antioksidan, enzim α -amilase

ABSTRACT

The objective of this study were to evaluate the antioxidant activities of extracts sequential of stem basil (*Ocimum sanctum* L.), their abilities to scavenge free radicals and phenolic, flavonoid tannin condensed contents and as well as their ability to inhibit α -amylase enzyme activity. The ground stem basil was sequential extracted using hexane, ethyl acetate, ethanol and methanol. The results showed that the ethanol extract (EE) has the highest phenolic, flavonoid and condensed tannin content compared to ethyl acetate extract (EEA), methanol extract (EM) and n-hexane extract (ENH). EE extracts (89.91%) and EEA (88.75%) showed the highest DPPH free radical scavenging activity compared to EM extracts (81.89%) and ENH (39.11%), but lower than α -tocopherol (99.46%) as a positive control. The results also showed that the EE extract had higher ABTS free radical scavenging activity (70.69%) compared to the EEA extract (61.86%), EM (61.59%), and ENH (6.67%). The results of the α -amylase inhibitory activity test showed that the EM, EE, EEA extracts did not show a significant difference with acarbose as the positive control. Basil stem extract has strong antioxidant potential and can inhibit the alpha amylase enzyme in preventing hyperglycemia.

Keywords: Basil stem, antioxidant activity, α -amylase enzyme

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki salah satu tradisi budaya tertua, terkaya dan paling beragam yang berhubungan dengan penggunaan tanaman obat dan tanaman kuliner tradisional. Kemangi (*Ocimum sanctum* L.) merupakan salah satu tanaman yang sudah lama sering digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk pengobatan dan memberi aroma dan citra rasa pada makanan tradisional serta memiliki sifat antimikroba.

Tanaman kemangi sering digunakan untuk pengobatan tradisional, diantaranya untuk meredakan kelelahan, demam, kejang urat, rhinitis dan dapat membantu pada luka akibat sengatan (Bilal dkk., 2012).

Salah satu manfaat dalam penelitian ini adalah menggunakan limbah batang kemangi yang tidak dipakai atau dibuang begitu saja. Batang kemangi adalah salah satu bagian dari tanaman kemangi yang kurang dimanfaatkan oleh masyarakat. Umumnya batang kemangi ini

dibuang karena tidak dapat dimanfaatkan dalam penggunaan pada masakan atau memberikan cita rasa pada makanan. Padahal limbah batang kemangi ini dapat dimanfaatkan sebagai suatu produk samping karena memiliki komponen-komponen kimia di dalam batang kemangi.

Berdasarkan beberapa laporan penelitian menyatakan bahwa bagian tanaman kemangi yang sering dimanfaatkan adalah berupa daun baik sebagai pengobatan maupun sebagai kuliner tradisional (Sangi dkk., 2011; Bilal dkk., 2012; Wijayati & Kusuma, 2014; Solikhah dkk., 2016; Arrayan dkk., 2019). Padahal menurut Prakash & Gupta (2005), tidak hanya daun kemangi saja yang mengandung minyak atsiri, tetapi bagian tanaman kemangi lain seperti batang juga mengandung minyak atsiri.

Berdasarkan laporan bahwa komposisi penyusun batang kemangi memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid dan steroid. Sedangkan minyak atsiri pada daun kemangi menunjukkan hasil positif alkaloid, flavonoid, saponin dan steroid (Wijayanti & Kusuma, 2014). Kandungan kimia di dalam batang tanaman kemangi adalah minyak atsiri, fitosterol, alkaloid, senyawa fenolik, tanin, lignin, saponin, flavonoid, terpenoid dan antrakuinon. Tetapi bagian tanaman kemangi lain seperti batang juga mengandung senyawa metabolit sekunder yang mungkin juga memiliki aktivitas antimikroba (Solikha dkk., 2016). Selain itu, senyawa fenolik, tanin, lignin, saponin, flavonoid, dan terpenoid dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antikanker, antidiabetes, antikolestrol (Kumar dkk., 2013).

Diabetes merupakan salah satu penyakit kronis yang ditandai dengan kekurangan insulin yang menyebabkan peningkatan glukosa darah secara terus menerus serta perubahan metabolisme lipid dan protein. Akibatnya, dapat terjadi beberapa komplikasi termasuk neuropati diabetes, penyakit jantung koroner dan hipertensi (Bhutkar & Bhise, 2012; Bhutkar dkk., 2017). Berdasarkan data dari World Health Organization (WHO), Indonesia menempati urutan ke 4 dengan prevalensi penderita diabetes mellitus di dunia dan WHO memperkirakan jumlah penyandang diabetes pada tahun mendatang akan mengalami peningkatan yang cukup besar. Pada tahun 2000 jumlah penderita diabetes mellitus di Indonesia sebesar 8,4 juta dan WHO memperkirakan akan mengalami kenaikan sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (Pratiwi dkk., 2014).

Enzim α -amilase dan α -glukosidase pankreas adalah enzim kunci dalam usus kecil.

Enzim ini memainkan peran utama dalam pencernaan pati menghasilkan glukosa dan maltosa, menyebabkan peningkatan kadar glukosa postprandial (Eichler dkk., 1984). Oleh karena itu, mengurangi tingkat pencernaan pati oleh penghambatan enzim seperti α -amilase dan α -glukosidase adalah cara terbaik untuk pengelolaan diabetes (Sudha dkk., 2011).

Sebagian besar spesies oksigen reaktif akibat stres oksidatif dicegah oleh sistem pertahanan endogen seperti enzim katalase, superoksidadismutase dan sistem peroksidase-glutathione. Namun, ketidakberdayaan sistem untuk menangkal radikal bebas membutuhkan antioksidan oksigen yang berasal dari sumber alami. Antioksidan dari sumber tanaman diketahui dapat mengurangi stres oksidatif dan melindungi tubuh terhadap toksisitas radikal bebas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi kandungan fitokimia fenolik, aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase ekstrak sekuensial dari limbah batang kemangi dengan pelarut heksana, etil asetat, etanol dan metanol.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah batang kemangi. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis yaitu n-heksana, etil asetat, etanol, metanol, α -tokoferol, pati, buffer fosfat pH 7, kalium iodida, aluminium klorida, vanilin, asam klorida, Folin-Ciocalteu, dan natrium karbonat diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany) sedangkan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid (ABTS) dan enzim α -amilase diperoleh dari Sigma Aldrich.

Preparasi sampel

Limbah batang kemangi yang telah diperoleh dari berbagai tempat warung makan, kemudian limbah batang kemangi dibersihkan menggunakan air yang mengalir untuk memisahkan dari sisa-sisa kotoran yang masih menempel pada limbah batang kemangi dan kemudian dikering anginkan selama 2 minggu. Limbah batang kemangi yang telah kering selama 2 minggu kemudian dihaluskan menggunakan blender. Setelah itu, hasilnya digiling menggunakan alat miling Fomac tipe FCT-Z200 selama 2 menit. Hasil miling dalam bentuk serbuk, lalu diayak menggunakan ayakan 50 mesh.

Ekstraksi serbuk batang kemangi

Serbuk ditimbang sebanyak 25 g lalu disoXHletsi dengan 300 mL pelarut *n*-heksana selama 6 jam sehingga didapatkan filtrat dan residu, lalu filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50°C kemudian ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan sehingga didapatkan ekstrak *n*-heksana (ENH). Kemudian sisa hasil residu dari soXHletasi *n*-heksana, dibuka bungkus kertas saring dan dikeringkan anginkan kembali selama 1 jam dan disoXHletsi kembali dengan menggunakan 300 mL pelarut etil asetat selama 6 jam sehingga didapatkan filtrat dan residu, lalu filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi dan dimasukkan ke dalam oven pada suhu 50 °C kemudian ekstrak kental yang diperoleh ditimbang dan disimpan sehingga didapatkan ekstrak etil asetat (EEA). Selanjutnya dilakukan hal yang sama untuk pelarut ekstrak etanol (EE), dan ekstrak metanol (EM).

Uji kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong (Maukar dkk., 2013) yang sedikit dimodifikasi. Sebanyak 0,1 mL masing-masing sampel ekstrak ENH, EEA, EE, dan EM (1000 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Follin-Ciocalteu 50%, divortex selama 3 menit. Setelah itu ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%, kemudian larutan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Dan absorbansi ekstrak dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 750 nm. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *gallic acid equivalent* (GAE) ekstrak.

Uji kandungan total flavonoid

Penentuan kandungan flavonoid menggunakan metode Meda (Rompas dkk., 2016) yang sedikit dimodifikasi. Sebanyak 2 mL larutan masing-masing ekstrak ENH, EEA, EE, dan EM (1000 µg/mL) dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 mL AlCl₃2%, kemudian divortex. Absorbansi ekstrak dibaca pada spektrofotometer UV-Vis pada λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin/kg ekstrak.

Uji kandungan tanin terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi ditentukan berdasarkan metode Malanggi dkk.

(2012). Sebanyak 0,1 mL larutan ekstrak ENH, EEA, EE, dan EM (1000 µg/mL) ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dibungkus dengan aluminium foil, kemudian ditambahkan 2 mL larutan vanilin 4% (b/v) dalam metanol dan divortex. Selanjutnya ditambahkan 1 mL HCl pekat dan divortex lagi. Absorbansi dibaca pada λ 500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan dalam mg katekin/kg ekstrak.

Uji aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas ditentukan dengan metode Togolo dkk. (2013). Sebanyak 0,5 mL sampel ekstrak ENH, EEA, EE, dan EM ditambahkan dengan 2 mL larutan DPPH dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna ungu menjadi kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansinya (A) diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna larutan DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRB (\%)} = 1 - \frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Uji aktivitas penangkal radikal bebas kation ABTS

Aktivitas penangkal radikal bebas kation ABTS diukur dengan metode Cao dkk. (2015) yang dimodifikasi. Sebanyak 0,1 mL sampel ENH, EEA, EE, dan EM ditambahkan 2 mL larutan stok 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid (ABTS), lalu divortex. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 6 menit dan absorbansi (A) diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm. Uji peredaman 2,2-Azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid (ABTS) dinyatakan sebagai persen (%) penghambatan terhadap radikal ABTS. Persen aktivitas antioksidan dihitung sebagai persentase berkurangnya warna ABTS dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRB (\%)} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{(A_{\text{kontrol}})} \times 100\%$$

Uji penghambatan enzim α-amilase

Penentuan uji penghambatan enzim dilakukan menurut Buthkar dkk. (2018) yang

dimodifikasi. Pengujian dilakukan dengan cara mencampurkan 1 mL pati 3% (3 g/100 ml) dengan 1 mL sampel ENH, EEA, EE, dan EM, 1 mL enzim α -amilase dan 1 mL buffer fosfat serta diinkubasi selama 30 menit reaksi dihentikan dengan 1 mL HCl 1 M, kemudian ditambahkan 0,1 M larutan kalium iodida kemudian dibaca absorbansinya (A) pada panjang gelombang 614 nm. Kemudian dihitung (%) penghambatannya dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}})}{(A_{\text{kontrol}})} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah batang kemangi, sampel tersebut dibuat dalam bentuk serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender kemudian di milling. Hal ini bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel. Karena semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya, sehingga penyerapan pelarut dapat berjalan lebih optimal. Hasil sampel ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Berdasarkan pada Tabel 1. nilai serbuk limbah batang kemangi yang diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol dan metanol berturut-turut adalah 0,241; 0,324;

2,219 dan 0,279%. Berdasarkan data rendemen yang diperoleh pada keempat jenis pelarut menghasilkan rendemen yang berbeda, hal ini disebabkan karena hasil rendemen bergantung kepada sifat kelarutan komponen bioaktifnya. Tingginya rendemen pada sampel etanol menunjukkan bahwa pelarut etanol mampu mengekstrak lebih banyak komponen bioaktif yang sifat kepolaran tinggi dari sampel serbuk limbah batang kemangi. Selain itu, penentuan rendemen juga berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut yang digunakan.

Tabel 1. Rendemen ekstrak

Sampel	Rendemen (%)
ENH (ekstrak n-heksana)	0,241 ± 0,01 ^a
EEA (ekstrak etil asetat)	0,324 ± 0,13 ^a
EE (ekstrak etanol)	2,219 ± 0,38 ^b
EM (ekstrak metanol)	0,279 ± 0,02 ^a

Semakin besar nilai rendemen yang diperoleh, maka semakin banyak senyawa bioaktif yang terestkrak. Penggunaan pelarut etanol karena merupakan pelarut universal, pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun senyawa non polar (Noviyanti, 2016).

Tabel 2. Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dari ekstrak batang kemangi

Jenis ekstrak	Total fenolik (µg/mL)	Flavonoid (µg/mL)	Tanin terkondensasi (µg/mL)
ENH (ekstrak n-heksana)	20,05±0,58 ^a	13,38±0,14 ^e	5,59±0,88 ^f
EEA (ekstrak etil asetat)	54,21±3,80 ^b	24,01±0,77 ^f	9,63±0,23 ^g
EE (ekstrak etanol)	59,07±1,89 ^c	26,13±1,27 ^g	10,81±0,48 ^h
EM (ekstrak metanol)	39,62±5,41 ^d	13,42±0,22 ^e	8,14±0,58 ⁱ

Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi

Kandungan total fenolik ekstrak n-heksana (ENH), ekstrak etil asetat (EEA), ekstrak etanol (EE) dan ekstrak methanol (EM) dari batang kemangi dengan konsentrasi 1000 µg/mL dapat dilihat pada Tabel 2. Pengujian kandungan total fenolik adalah untuk mengetahui potensi antioksidan dalam suatu ekstrak. Ekstrak etanol (EE) menunjukkan kandungan fenolik paling tinggi daripada ekstrak EEA, EM dan dan paling rendah terdapat pada ENH. Hasil kandungan total fenolik dari EE, EEA, EM dan ENH berturut-turut adalah 59,07; 54,21; 39,62 dan 20,05 µg/mL

Tinggi rendahnya kandungan total fenolik dalam ekstrak batang kemangi berhubungan langsung dengan aktivitas antioksidan dari masing-masing pelarut yang digunakan pada ekstrak batang kemangi. Kandungan total fenolik yang tinggi pada hasil ekstraksi sekuensial menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa senyawa fenolik merupakan senyawa yang bersifat polar. Hal ini disebabkan senyawa fenol mencakup sejumlah senyawa-senyawa yang umumnya mempunyai cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi (Harbone & Baxter, 1993). Dari data ini dapat digambarkan juga bahwa senyawa fenolik dalam ekstrak batang kemangi dipengaruhi

oleh polaritas pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi. Senyawa fenolik memiliki berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda dan secara umum senyawa fenolik terdiri dari fenol sederhana, benzokuinon, asam fenolik, fenil asetat, asam sinamat, xanthon, golongan flavonoid, lignin dan biflavonoid (Dey dkk., 1989).

Hasil analisis kandungan total flavonoid terhadap keempat ekstrak disajikan pada Tabel 2. Dari data yang diperoleh pada Tabel 2, menunjukkan bahwa konsentrasi senyawa flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etanol (EE) sebesar 26,13 $\mu\text{g/mL}$ dan diikuti oleh ekstrak EEA (24,01 ($\mu\text{g/mL}$), ekstrak EM (13,42 $\mu\text{g/mL}$) dan ekstrak NH (13,38 $\mu\text{g/mL}$). Kandungan total flavonoid yang tinggi pada hasil ekstraksi sekuensial menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak batang kemangi merupakan senyawa yang bersifat polar. Hal ini dikarenakan kemampuan dan sifat pelarut dalam melarutkan senyawa flavonoid berbeda-beda, tergantung dari tingkat kepolaran pelarut dan senyawa yang diekstrak. Menurut prinsip polarisasi, suatu senyawa akan larut pada pelarut yang mempunyai kepolaran yang sama (Harborne, 1987). Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gula yang terikat, oleh karena itu flavonoid lebih cenderung larut pada pelarut polar. Menurut Harborne (1987), senyawa flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis, tiap jenis flavonoid mempunyai kepolaran yang berbeda beda tergantung dari jumlah dan posisi gugus hidroksil tiap jenis flavonoid sehingga hal tersebut akan mempengaruhi kelarutan flavonoid pada pelarut. Hasil penentuan kandungan tanin terkondensasi ekstrak batang kemangi dapat dilihat pada Tabel 2. Kandungan tanin terkondensasi dalam ekstrak batang kemangi menunjukkan bahwa kandungan tanin terkondensasi pada

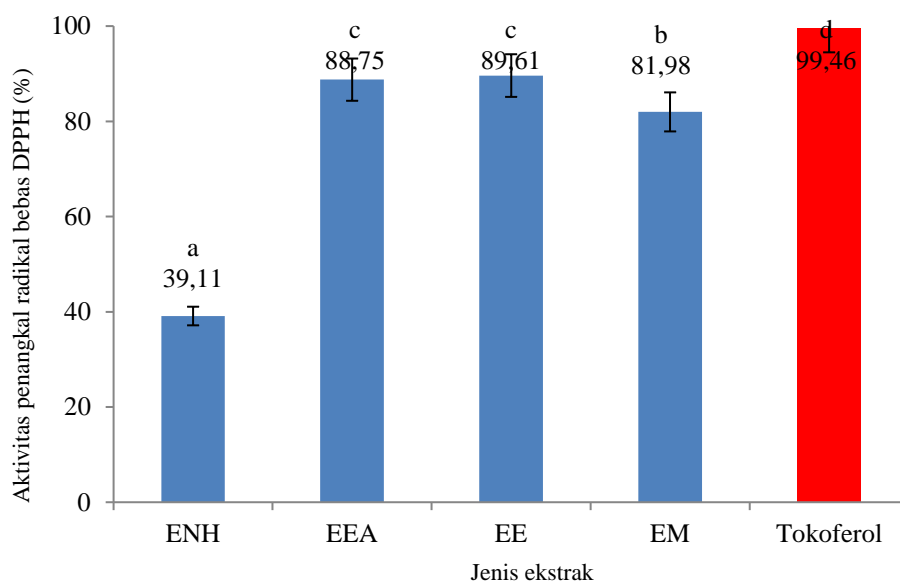
ekstrak EE (10,81 $\mu\text{g/mL}$) lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak EEA (9,63 $\mu\text{g/mL}$), ekstrak EM (8,14 $\mu\text{g/mL}$) dan ekstrak ENH (5,59 $\mu\text{g/mL}$). Kandungan tanin terkondensasi yang tinggi pada hasil ekstraksi sekuensial menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar. Kandungan tanin terkondensasi berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan karena memiliki gugus polifenolik yang dapat berperan sebagai antioksidan alami dalam tumbuhan.

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Radikal bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah DPPH. Menurut Yen & Duh (1994), makin cepat nilai absorbansi turun, makin potensial antioksidan tersebut dalam mendonorkan hidrogen. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dilihat pada Gambar 1.

Pada penelitian ini digunakan α -tokoferol sebagai pembanding pada uji DPPH. Vitamin E merupakan salah satu vitamin yang aktivitas antioksidannya tinggi dibanding dengan antioksidan lain. Vitamin E berfungsi sebagai pemelihara keseimbangan intraselluler dan sebagai antioksidan (Alava dkk., 1993). Pada Gambar 1, menunjukkan bahwa aktivitas penangkal radikal bebas yang paling tinggi yaitu ekstrak EE (89,61%), selanjutnya diikuti ekstrak EEA (88,75%); ekstrak EM (81,98%) dan ekstrak ENH (39,11%). Sebagai pembanding, α -tokoferol mempunyai kemampuan menghambat sampel lebih tinggi daripada ekstrak lainnya.

Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif pada ekstrak limbah batang kemangi memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas. Senyawa yang bereaksi sebagai penangkap radikal akan mereduksi DPPH membentuk DPPH-H yang tereduksi. Reaksi ini diamati dengan adanya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ketika elektron ganjil dari radikal DPPH telah berpasangan dengan hidrogen dari senyawa penangkap radikal bebas (Molyneux, 2004).

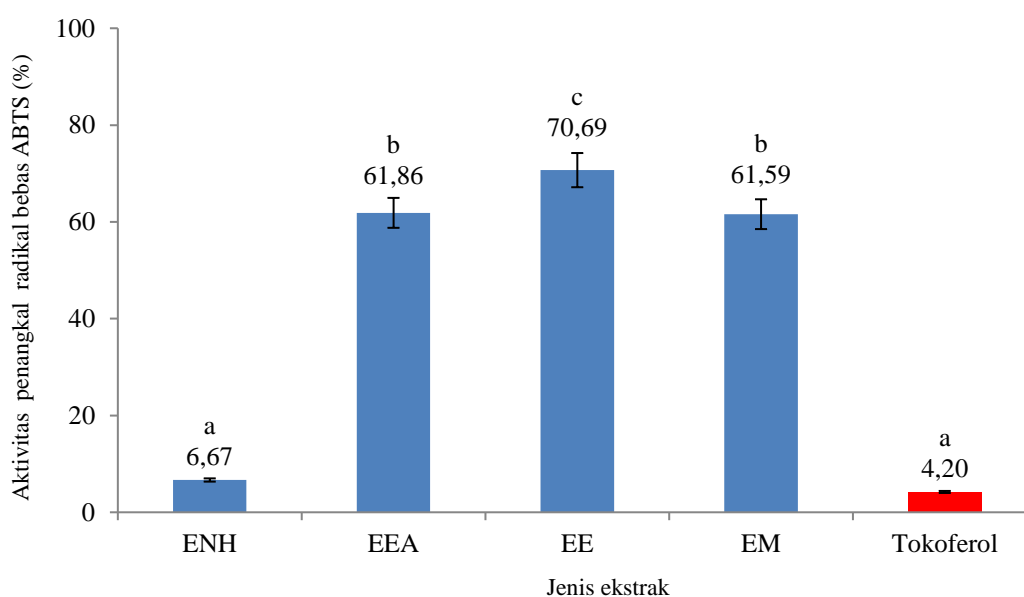


Gambar 1. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH (%) dari beberapa jenis ekstrak

Aktivitas penangkal radikal bebas ABTS

Persentase aktivitas antioksidan dari ekstrak limbah batang kemangi dapat dilihat pada Gambar 2. Pada pengujian antioksidan menggunakan metode ABTS ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol (EE) limbah batang kemangi memiliki aktivitas yang sangat kuat dengan nilai 70,69% lalu diikuti dengan ekstrak EEA sebesar 61,86%; ekstrak EM sebesar 61,59% dan ekstrak ENH sebesar 6,60%. Sebagai pembandingan, α -tokoferol diuji ABTS mempunyai kemampuan menghambat sampel lebih rendah dari ekstrak ENH. Kemampuan ekstrak batang kemangi terutama

EE dan EEA dalam menstabilkan senyawa radikal kation dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan kemampuan dalam menstabilkan atom hidrogen ke radikal bebas, struktur kimia senyawa antioksidan, dan pH campuran reaksi (Widyawati dkk., 2010). Selain itu, dapat juga dipengaruhi oleh jumlah dan posisi gugus hidroksi pada cincin aromatik. Senyawa polifenolik kelihatannya bereaksi sangat cepat dengan radikal ABTS, hal ini dapat dilihat dari perubahan warna biru kehijauan menjadi tidak berwarna atau berkurangnya intensitas warna.

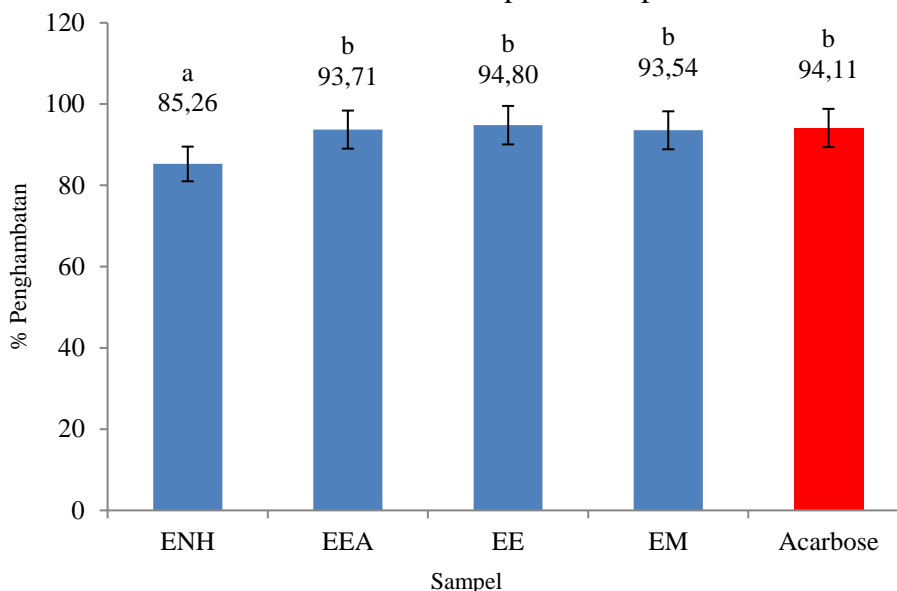


Gambar 2. Aktivitas penangkal radikal bebas kation ABTS (%) dari beberapa jenis ekstrak

Aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Prinsip pengujian pada sampel yaitu semakin aktif ekstrak yang digunakan, maka semakin sedikit pati yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan semakin sedikit, karena ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Aktivitas enzim α -

amilase yang dihambat oleh ekstrak tidak dapat bereaksi dengan substrat amilum, sehingga intensitas warna yang dihasilkan akan semakin berkurang (Zengin, 2016). Hasil data pengamatan antara konsentrasi masing-masing ekstrak dan pembanding (acarbose) dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari beberapa jenis ekstrak

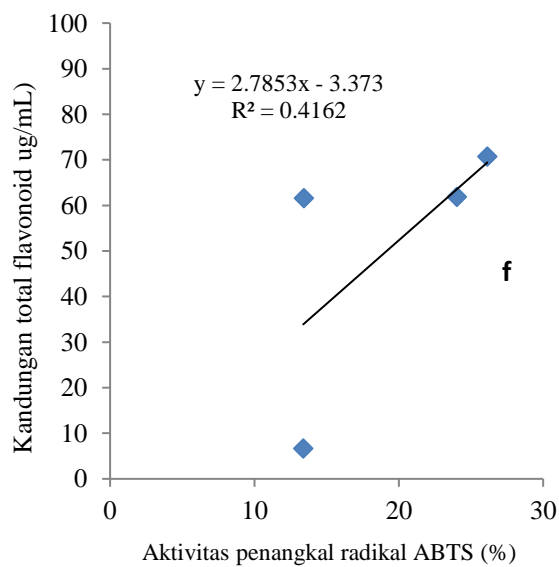
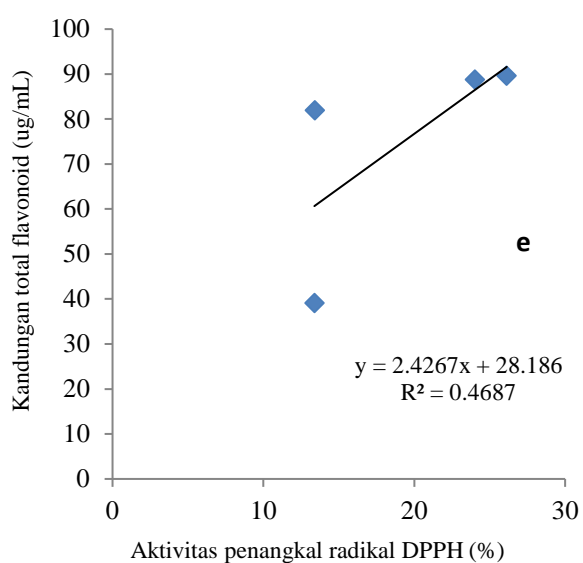
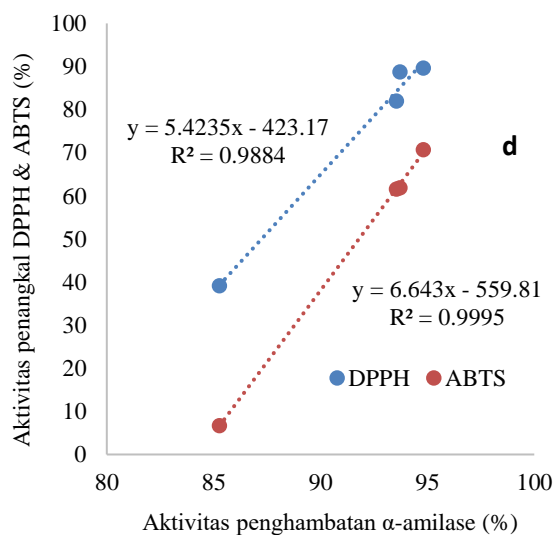
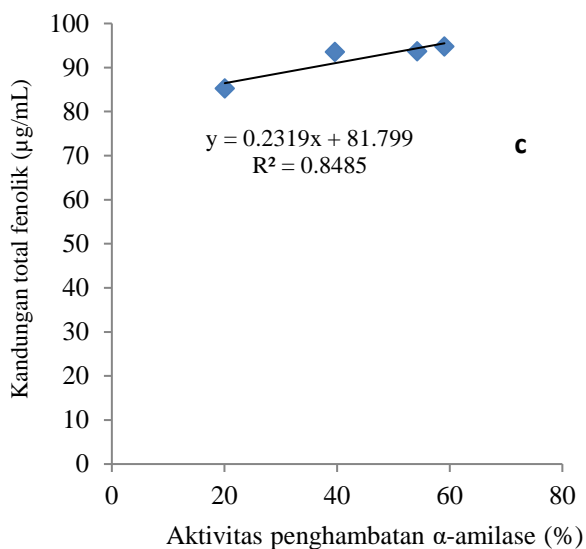
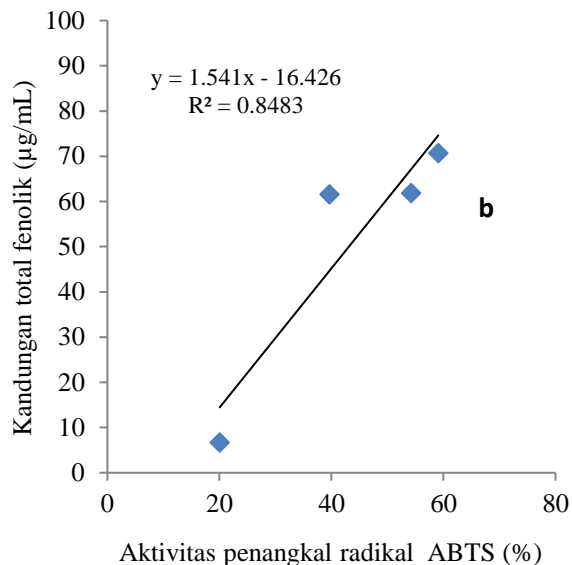
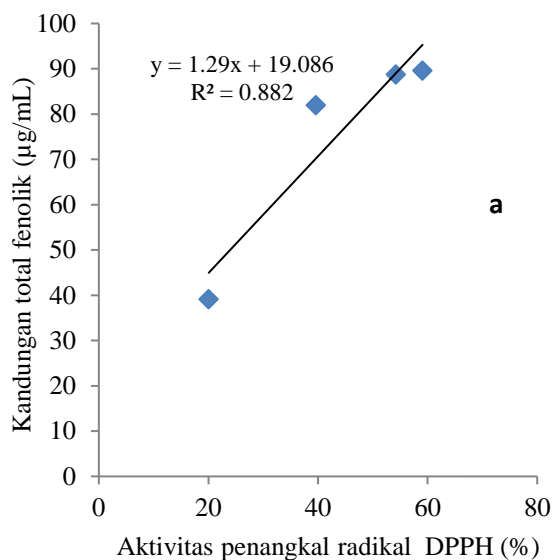
Dari Gambar 3, hasil data keseluruhan ekstrak didapatkan ekstrak dengan % penghambatan terbaik adalah ekstrak EE dengan besar % penghambatan adalah 94,80% kemudian diikuti oleh acarbose dan ekstrak EEA sebesar 94,11% dan 93,71%. Sedangkan % penghambatan EM dan ENH berada di bawah pembanding acarbose yaitu 93,54% dan 85,26%. Hal ini dikarenakan limbah batang kemangi mempunyai senyawa kimia aktif yang dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Menurut Pujiyanto (2017), semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin tinggi aktivitas penghambatan enzim. Senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat dari hasil skrining fitokimia, namun senyawa yang berpotensi dalam menghambat enzim α -amilase adalah senyawa golongan glikosida, alkaloid dan flavonoid

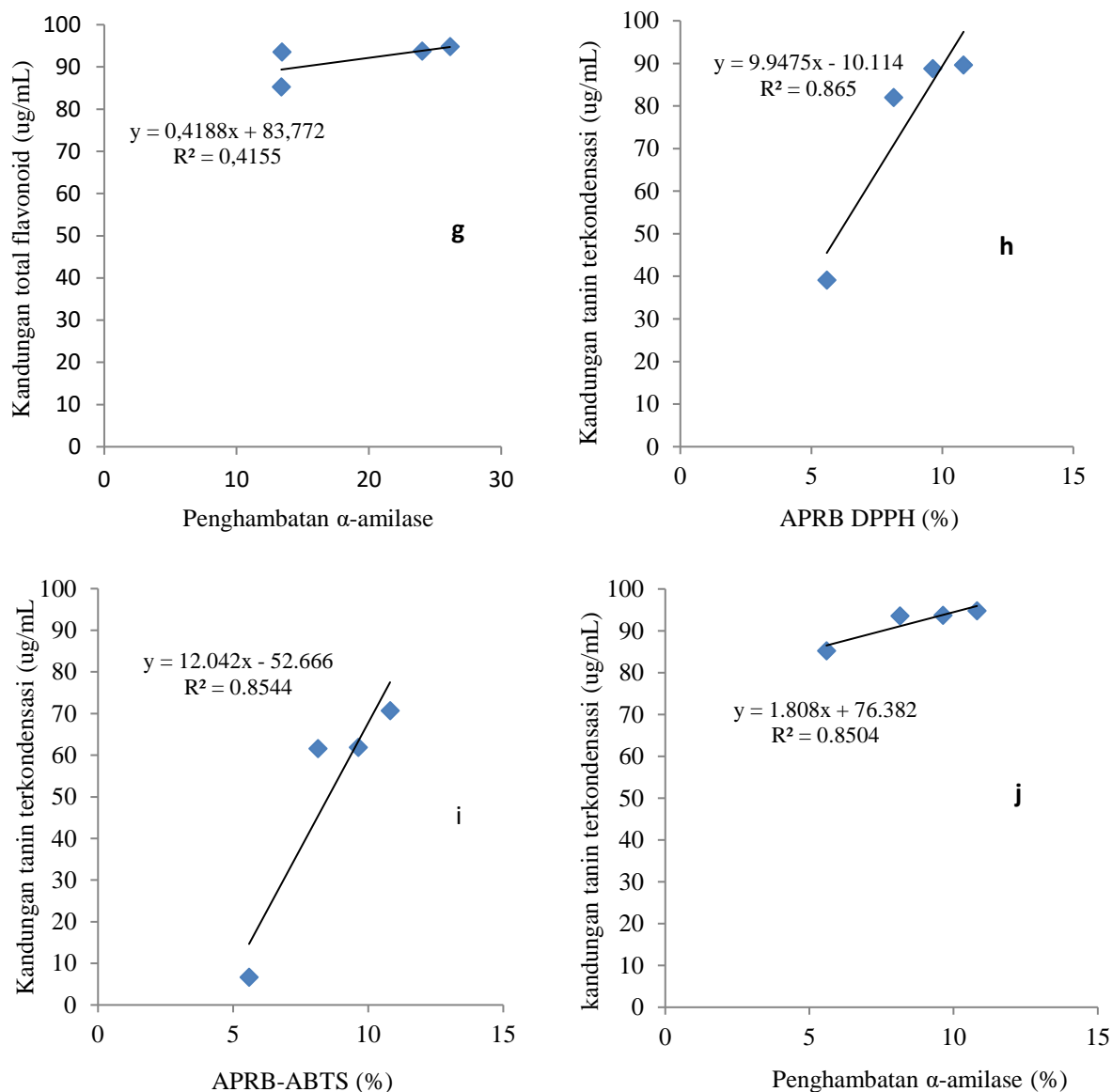
Hubungan total fenolik, flavonoid, tanin dengan aktivitas penangkal radikal bebas dan penghambatan enzim α -amilase

Gambar 4 menunjukkan analisis korelasi antara kandungan fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi dengan aktivitas antioksidan dan penghambat enzim α -amilase.

Hasil korelasi pada Gambar a, b, c, d, h, i dan j memiliki nilai korelasi linear (R^2) = 0,85-0,99 yang signifikan yang mana hubungan kandungan total fenolik dan tanin dengan antioksidan (DPPH, ABTS) adalah sama, dikarenakan semakin tinggi kandungan total fenolik berbanding lurus dengan meningkatnya APRB DPPH dan ABTS sebaliknya hubungan fenolik dengan penghambatan enzim α -amilase juga sama. Namun hal ini berbanding jauh dengan kurva hubungan pada flavonoid dengan aktivitas antioksidan dan juga penghambatan enzim α -amilase pada ekstrak beberapa variasi pelarut sama dimana dari hasil hubungan pada Gambar e, f, dan g dari kurva korelasi linear didapatkan nilai (R^2) = 0,42-0,47.

Kurva korelasi pada di lima hubungan kandungan total fenolik dan tanin dengan penghambatan enzim α -amilase memiliki nilai R^2 = 0,85 sedangkan hubungan APRB (DPPH, ABTS) dengan inhibisi enzim α -amilase adalah (R^2) = 0,99. Jadi dapat disimpulkan bahwa ada hubungan dari hasil pengujian kandungan yang kuat antara senyawa fenolik dengan aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase yang diekstraksi dengan pelarut heksana, etil asetat, etanol dan metanol.





Gambar 4. Hubungan antara kandungan total fenolik, flavonoid, tanin dengan aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase

KESIMPULAN

Ekstrak etanol dari batang kemangi menunjukkan kandungan senyawa fenolik, tannin terkondensasi dan flavonoid kapasitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etil asetat, etanol dan metanol. Secara khusus, ekstrak etil asetat, etanol dan metanol memiliki potensi dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase daripada ekstrak heksana. Kandungan total fenolik dan tannin terkondensasi, aktivitas antioksidan (penangkalan radikal bebas DPPH dan ABTS) serta aktivitas penghambatan enzim α -amilase menunjukkan hubungan yang kuat dalam ekstrak limbah batang kemangi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arrayyan, M.A., Dwiloka, B., & Susanti, S. 2019. Pengaruh perbedaan konsentrasi lemak enflurasi nabati terhadap aktivitas antioksidan dan karakteristik fisik minyak atsiri kemangi (*Ocimum americanum* L.). *Jurnal Teknologi Pangan*. 3(2), 221-227.
- Bhutkar, M.A. & Bhise, S.B. 2012. In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *International Journal of Chemical Sciences*. 10(1), 457-462.
- Bhutkar, M.A., Bhinge, S.D., Randive, D., Wadkar, G.H., & Todkar, S.S. 2018. In vitro studies on alpha-amylase inhibitory

- activity of some indigenous plants. *Modern Applications in Pharmacy. Modern Application in Pharmacy and Pharmacology*. 1(4), 1-15.
- Bhutkar, M.A., Bhinge, S.D., Randive, D.S., & Wadkar, G.H. 2017. Hypoglycemic effects of berberis aristata and tamarindus indica extracts in vitro. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*. 55(1), 91-94.
- Bilal, A., Jahan, N., Ahmed, A., Bilal, S.N., Habib, S., & Hajra, S. 2012. Phytochemical and pharmacological studies on *Ocimum basilicum* Linn-A review. *International Journal of Current Research and Review*. 4(23), 73-83.
- Cao, H., Xie, Y., & Chen, X. 2015. Type 2 diabetes diminishes the benefits of dietary antioxidants: Evidence from the different free radical scavenging potential. *Food Chemistry*. 186(11), 106-112.
- Dey, P.M. & Harbone, J.B. 1989. *Methods in plant biochemistry: Plant phenolics*. Academic Press, London
- Eichler, H. G., Korn, A., Gasic, S., Pirson, W., & Businger, J. 1984. The effect of a new specific a-amylase inhibitor on post-prandial glucose and insulin excursions in normal subjects and type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 26(4), 278-281.
- Harbone, J. B., & Baxter, H. 1993. *Phenylpropanoids alkaloids*. In Taylor, F., Ed., *Phytochemical Dictionary*, Bristol.
- Harborne J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Kumar, S., & Pandey, A.K. 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The scientific World Journal*. 2013, 1-16.
- Malanggi, L., Sangi, M., & Pacndong, J. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa*. 1(1), 5-10.
- Maukar, M.A., Runtuwene, M.R., & Pontoh, J. 2013. Analisis kandungan fitokimia dari uji toksisitas ekstrak metanol daun soyogik (*Sauraula bracteosa* DC) dengan menggunakan metode maserasi. *Jurnal Ilmiah Sains*. 13(2), 98-101.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*. 26(2), 211-219.
- Noviyanti, G. 2016. Antioksidan ekstrak etanol daun jambu Brazil batu (*Psidium guineense* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Farmako Bahari*. 7(1), 29-35.
- Prakash, P.A.G.N., & Gupta, N. 2005. Therapeutic uses of *Ocimum sanctum* Linn (Tulsi) with a note on eugenol and its pharmacological actions: a short review. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 49(2), 125-131.
- Pratiwi, P., Amatiria, G., & Yamin, M. 2014. Pengaruh stress terhadap kadar gula darah sewaktu pada pasien diabetes melitus yang menjalani hemodialisa. *Jurnal Kesehatan*. 5(1), 11-16.
- Pujiyanto, S., Wijanarka, W., & Raharjo, B. 2019. Aktivitas inhibitor a-amilase ekstrak etanol tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*. 21(2), 91-99.
- Rompas, D.E., Runtuwene, M.R., & Koleangan, H.S. 2016. Analisis Kandungan Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan dari Tanaman Lire (*Hemigraphis repanda* (L) Hall F.) *Jurnal MIPA*. 21(2), 91-99.
- Sangi, M.S., & Katja, D.G. 2011. Aktivitas Antioksidan pada Beberapa Rempah-Rempah Masakan Khas Minahasa. *Chemistry Progress*. 4(2), 66-74.
- Solikhah, S., Kusuma, S.B.W., & Wijayati, N. 2016. Uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol batang dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5(2), 104-107.
- Sudha, P., Zinjarde, S.S., Bhargava, S.Y., & Kumar, A.R. 2011. Potent a-amylase inhibitory activity of Indian Ayurvedic medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11(5), 1-10.
- Togolo, E., Suryanto, E., & Sangi, M.S. 2013. Aktivitas antioksidan dari tepung pisang goroho yang direndam dengan lemon kalamansi. *Jurnal MIPA*. 2(2), 105-108.
- Wang, C.C., Chu, C.Y., Chu, K.O., Choy, K.W., Khaw, K.S., Rogers, M.S., & Pang, C.P. 2004. Trolox-equivalent antioxidant capacity assay versus oxygen radical absorbance capacity assay in plasma. *Clinical Chemistry*. 50(5), 952-954.
- Wijayati, N., & Kusuma, S.B.W. 2014. Isolasi dan uji daya antimikroba batang dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). *Media Farmasi Indonesia*. 9(2), 770-781.

- Widyawati, P.S., Wijaya, C.H., Harjosworo, P.S., & Sajuthi, D. 2010. Pengaruh ekstraksi dan fraksinasi terhadap kemampuan menangkap radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-Pikrilhidrazil) ekstrak dan fraksi daun beluntas (*Pluchea indica* Less). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. C18.1-C18.7, UNDIP, Semarang.
- Yen, G.C., & Duh, P.D. 1993. Antioxidative properties of methanolic extracts from peanut hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70(4), 383-386.
- Zengin, G. 2016. A study on in vitro enzyme inhibitory properties of *Asphodeline anatolica*: New sources of natural inhibitors for public health problems, *Industrial Crops and Products* 83(2016), 39-43