

## Karakterisasi Serat Pangan, Penghambatan Enzim $\alpha$ -Amilase dan Aktivitas Antioksidan dari Daun Kubis (*Brassica Oleracea L.*)

Davidic Origenes Adam Loway, Edi Suryanto, Feti Fatimah

<sup>1)</sup>Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Sam Ratulangi

Email: davidicloway@gmail.com

### ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit degeneratif yang ditandai meningkatnya kadar gula darah dan gangguan metabolisme lewat mengkonsumsi makanan cepat saji (*fast food*). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin, menentukan kemampuan serat pangan sebagai penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase, dan menentukan fitokimia antioksidan dari daun kubis. Metodologi penelitian meliputi preparasi sampel, ekstraksi, penentuan kandungan hemiselulosa, selulosa, lignin, penentuan serat pangan, uji penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase secara *in vitro*, penentuan fitokimia antioksidan (total fenolik, total flavonoid dan total tanin terkondensasi), aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dan radikal kation ABTS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung daun kubis yang diekstraksi dengan akuades memiliki kandungan tertinggi yaitu hemiselulosa (25,93%), selulosa (17,68%) dan lignin (15,68%). Tepung daun kubis juga menunjukkan aktivitas penghambatan pada enzim  $\alpha$ -amilase dengan persentase tertinggi pada tepung daun kubis tanpa perlakuan (KTP) yaitu sebesar 92,12%. Pada penentuan kandungan fitokimia antioksidan terbukti bahwa ekstrak kubis etanol memiliki kandungan senyawa fenolik, flavonoid dan tanin tertinggi yang sejalan dengan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dan radikal kation ABTS.

Kata kunci: Serat pangan, antioksidan, daun kubis, enzim  $\alpha$ -amilase

### ABSTRACT

Diabetes mellitus is a degenerative disease characterized by increased blood sugar levels and metabolic disorders through consuming fast food (*fast food*). This study aims to determine the content of hemicellulose, cellulose and lignin, determine the ability of dietary fiber to inhibit  $\alpha$ -amylase enzymes, and determine the antioxidant phytochemicals of cabbage leaves. The research methodology included sample preparation, extraction, determination of hemicellulose, cellulose, lignin content, determination of dietary fiber, *in vitro*  $\alpha$ -amylase enzyme inhibition test, determination of antioxidant phytochemicals (total phenolics, total flavonoids and total condensed tannins), free radical scavenging activity of DPPH and ABTS cation radicals. The results showed that cabbage leaf flour extracted with distilled water had the highest content, namely hemicellulose (25.93%), cellulose (17.68%) and lignin (15.68%). Cabbage leaf flour also showed inhibitory activity on the  $\alpha$ -amylase enzyme with the highest percentage in untreated cabbage leaf flour (KTP), namely 92.12%. In determining the antioxidant phytochemical content, it was proven that the ethanol extract of cabbage had the highest content of phenolic compounds, flavonoids and tannins which were in line with the free radical scavenging activity of DPPH and ABTS cation radicals.

Key words: Dietary fiber, antioxidant, cabbage leaves,  $\alpha$ -amilase enzyme

### PENDAHULUAN

Saat ini pola hidup orang Indonesia lebih cenderung menuju ke arah yang lebih mudah, salah satunya pola makan. Orang lebih banyak menyukai makanan cepat saji (*fast food*) yang umumnya memiliki kandungan lemak, dan kalori yang tinggi. Jika dikonsumsi secara terus menerus akan mengakibatkan obesitas (Adriani & Wirjatmadi, 2012).

Diabetes melitus merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun keduanya (Powers, 2008). Secara umum diabetes melitus dibedakan menjadi dua tipe yaitu diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 adalah penyakit yang terjadi akibat destruksi sel  $\beta$ -pankreas akibat proses autoimun (Mayer-Davis dkk., 2018), sedangkan diabetes melitus tipe 2 adalah penyakit hiperglikemi akibat kurangnya

sensitivitas sel  $\beta$ -pankreas terhadap insulin (Wild dkk., 2004). Pengobatan yang diberikan pada penderita diabetes melitus yaitu dengan menghambat penyerapan gula ke dalam tubuh dengan melibatkan enzim pencernaan. Salah satu enzim yang berperan dalam pencernaan adalah enzim  $\alpha$ -amilase.

Enzim  $\alpha$ -amilase merupakan produk yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas dan saliva, yang berfungsi memecah molekul polisakarida yang tidak terlarut menjadi molekul yang dapat diserap tubuh seperti maltose, dekstrin, dan glukosa (Ariandi, 2016). Penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dalam sistem pencernaan dapat memperlambat pencernaan pati sehingga penyerapan glukosa menjadi lebih lambat. Untuk menghambat enzim  $\alpha$ -amilase yaitu dengan memanfaatkan limbah yaitu limbah daun kubis. Kubis merupakan tanaman yang mengandung berbagai vitamin seperti vitamin A, vitamin C dan vitamin K dan juga kaya dengan senyawa fitonutrien dapat dijadikan sebagai antioksidan alami (Indrayoga dkk., 2013). Menurut Superianto dkk., 2018, kandungan nutrisi limbah kubis yaitu protein 12.64% dan serat kasar yaitu 19.67%.

Serat pangan atau *dietary fiber* merupakan bagian dari tumbuhan yang dapat dikonsumsi dan tersusun dari karbohidrat yang tidak dapat dicerna dan diserap oleh usus halus manusia serta mengalami fermentasi di usus besar (Santoso, 2011). Berdasarkan kelarutannya dalam air, serat pangan diklasifikasikan sebagai serat pangan larut (*soluble dietary fiber*, SDF) dan serat pangan tak larut (*insoluble dietary fiber*, IDF). Serat pangan ada yang bersifat larut dalam air seperti pektin dan gum, serta yang tidak larut air misalnya selulosa, hemiselulosa dan lignin (Suryanto, 2018). Menurut Anderson dkk. (2009), asupan serat pangan memberikan banyak manfaat kesehatan, seperti mengurangi resiko penyakit jantung koroner, stroke, hipertensi, diabetes, obesitas dan juga dapat meningkatkan kontrol glukosa dalam darah pada penderita diabetes. Berdasarkan uraian tersebut maka peneliti tertarik untuk memanfaatkan limbah daun kubis sebagai agen anti diabetes secara *in vitro* dan dapat mengurangi pencemaran lingkungan dari limbah daun kubis.

## BAHAN DAN METODE

Kubis diperoleh dari pasar local di Manado. Bahan kimia meliputi kalium iodida, aseton, etanol, asam sulfat, natrium karbonat, reagen Folin-Ciocalteu, asam klorida, aluminium klorida, vanillin, natrium hidroksida diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany) sedangkan enzim  $\alpha$ -amilase, enzim amiloglukosidase, 1,1-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dan 2,2-azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid (ABTS) diperoleh dari Sigma-Aldrich.

### Preparasi sampel

Sampel daun kubis dipotong kecil-kecil dan dicuci dengan air mengalir sampai bersih selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 50-60 °C selama 24 jam. Setelah itu, sampel yang telah kering dihancurkan dengan blender kemudian diayak menggunakan ayakan 50 mesh. Sampel yang diperoleh dari ayakan disimpan dalam wadah kedap udara dan selanjutnya dilanjutkan dengan analisis yaitu ekstraksi.

### Ekstraksi daun kubis

Sebanyak 20 g serbuk daun kubis yang telah dipreparasi, diperlakukan dengan 200 mL pelarut etanol dan di maserasi selama 24 jam. Setelah itu disaring untuk mendapatkan filtrat dan residu. Filtrat yang didapat diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan selanjutnya dikeringkan dalam oven. Kemudian residu dikeringkan di dalam oven pada suhu 50-60 °C selama 24 jam, serbuk yang telah kering digiling kemudian dimikronisasi dengan alat *milling* (Fomac tipe FCT-Z200) dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh dan disebut serbuk daun kubis etanol (KE). Dengan cara yang sama serbuk daun kubis diperlakukan dengan akuades dan dipanaskan pada suhu 80 °C dan disebut serbuk kubis air (KA). Sampel yang diperoleh disimpan dalam wadah kedap udara dan residu yang diperoleh dilanjutkan untuk analisis kandungan selulosa, hemiselulosa, lignin, serat pangan, penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dan untuk filtrat yang diperoleh dilanjutkan untuk penentuan kandungan total fenolik, flavonoid, tanin, dan antioksidan dengan metode DPPH dan ABTS.

### Penentuan kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin

Analisis kadar hemiselulosa, selulosa, lignin dilakukan dengan metode Datta (Karepu dkk., 2020). Serbuk KE dan KA ditimbang sebanyak 2 g kemudian dimasukkan ke dalam gelas kimia, ditambah aquades sebanyak 150 mL dan dipanaskan pada penangas air pada suhu 100 °C selama 2 jam. Sampel yang sudah berbentuk bubur disaring kemudian dicuci dengan aquades sampai volume filtrat tepat 300 mL. Residu dikeringkan dalam oven dengan suhu 105 °C sampai mencapai berat konstan. Residu yang sudah kering dimasukkan dalam labu Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambah 150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N dan direfluks diatas penangas air pada suhu 100 °C selama 1 jam. Selanjutnya larutan disaring dan residu dicuci dengan aquades sampai volume filtrat mencapai 500 mL (netral). Residu dikeringkan dan ditimbang. Residu kering dimasukkan lagi ke dalam Erlenmeyer 250 mL ditambah 10 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% dan didiamkan selama 4 jam pada suhu kamar, kemudian ditambah 150 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N dan direfluks pada pendingin balik pada suhu 100 °C selama 1 jam. Selanjutnya larutan disaring dan dicuci dengan air panas sampai netral (volume filtrat mencapai 400 mL). Residu dikeringkan dan ditimbang dan selanjutnya diabukan dan ditimbang.

$$\text{kadar fraksi hemiselulosa} = \frac{b-c}{a} \times 100\% \quad b/b \quad ..(1)$$

$$\text{kadar fraksi selulosa} = \frac{c-d}{a} \times 100\% \quad b/b \quad ..(2)$$

$$\text{kadar fraksi lignin} = \frac{d-e}{a} \times 100\% \quad b/b \quad ..(3)$$

Keterangan: berat kering bahan (a), berat kering setelah diekstraksi dengan aquades (b), fraksi yang larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N (c), fraksi yang larut dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 72% (d), kadar abu bahan (e).

### Penentuan serat pangan

Kandungan serat pangan ditentukan menggunakan metode AOAC (1995). Serbuk KE dan KA dimasukan sebanyak 1 g ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan 25 mL larutan buffer fosfat 0,1 M pH 7 dan diaduk agar terbentuk suspensi. Selanjutnya ditambahkan 0,1 mL enzim  $\alpha$ -amilase ke dalam erlenmeyer yang berisi sampel. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 100 °C selama 15 menit sambil diaduk sesekali. Sampel diangkat dan didinginkan lalu ditambahkan 20 mL aquades dan 5 mL NaOH 1 N, kemudian ditambahkan enzim amiloglukosidase sebanyak 0,1 mL. Erlenmeyer ditutup dan diinkubasi dalam penangas air bergoyang pada suhu 40 °C selama 1 jam. Campuran disaring menggunakan kertas saring yang telah diketahui beratnya. Sampel dicuci dengan 2 x 10 mL etanol dan 2 x 10 mL aseton (dipisah). Sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama satu malam lalu didinginkan dalam desikator. Sampel kemudian diabukan dalam tanur pada suhu 525 °C selama minimal 5 jam, dan ditimbang setelah didinginkan dalam desikator untuk selanjutnya disebut serat pangan tak larut (IDF/*insoluble dietary fiber*). Filtrat diatur volumenya menjadi 100 mL dan ditambahkan 400 mL etanol 95%. Filtrat dibiarkan mengendap selama 1 jam. Filtrat disaring dengan 2 x 10 mL etanol dan 2 x 10 mL aseton lalu dimasukkan ke dalam desikator. Dilakukan pengabungan dalam tanur 525 °C selama minimal 5 jam, dan ditimbang setelah didinginkan dalam desikator untuk selanjutnya disebut serat pangan terlarut (SDF/*soluble dietary fiber*). Serat pangan total dihitung dengan menjumlahkan IDF dan SDF (Serat pangan total = IDF + SDF).

### Uji penghambatan enzim $\alpha$ -amilase secara in-vitro

Uji penghambatan enzim pada tepung dilakukan dengan menggunakan metode Qi dkk., (2015). Pengujian dilakukan dengan cara ditimbang serbuk KE dan KA dengan berbagai konsentrasi 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 dan 0,4 g kemudian ditambahkan tepung enzim  $\alpha$ -amilase 4,0 mg kemudian ditambahkan 40 mL pati 3% (3 g/100 ml), selanjutnya ditambahkan 2 mL buffer fosfat pH 7 dan diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi ditambahkan 4 mL HCl 0,1 M dan disentrifugasi. Setelah disentrifugasi dipipet 2 mL supernatan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,1 mL larutan kalium iodide kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 614 nm. Kemudian dihitung (%) penghambatannya dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Uji kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong dkk. (2004). Sebanyak 0,1 mL ekstrak etanol dan akuades daun kubis dengan konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekivalen asam galat dalam mg/kg ekstrak.

### Uji kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak daun kubis ditentukan menurut metode Meda dkk., (2005). Sebanyak 2 mL ekstrak etanol dan akuades daun kubis dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 2 mL AlCl<sub>3</sub> 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, selanjutnya divortex. Absorbansi diukur pada Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm dan kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekivalen kuersetin dalam mg/kg ekstrak.

### Uji kandungan total tanin terkondensasi

Kandungan total tanin terkondensasi ditentukan dengan menggunakan metode Julkunan-Tiitto, (1985). Sebanyak 0,1 mL ekstrak etanol dan akuades daun kubis dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dibungkus dengan aluminium foil. Selanjutnya ditambahkan 1,5 mL vanilin 4% (w/v) dilarutkan dengan metanol, kemudian di vortex. Setelah itu ditambahkan 1,5 mL HCl pekat dan di vortex. Kemudian diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang dan diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 500 nm. Kandungan total tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekivalen katekin dalam mg/kg ekstrak.

### Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ditentukan dengan menggunakan metode Burda & Oleszek (2001). Sebanyak 0,5 mL ekstrak etanol dan akuades daun kubis ditambahkan 2 mL larutan DPPH kemudian divortex selama 2 menit. Perubahan warna dari ungu menjadi kuning menunjukkan adanya aktivitas penangkal radikal bebas. Selanjutnya diinkubasi selama 30 menit, absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai presentase berkurangnya warna larutan DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ APRB} = 1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

### Penentuan aktivitas penangkal radikal ABTS

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas ABTS dilakukan dengan menggunakan metode Re dkk. (1998). Sebanyak 0,1 mL ekstrak etanol dan akuades daun kubis ditambahkan 2 mL larutan stok ABTS, kemudian di vortex. Selanjutnya diinkubasi selama 6 menit dan absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm. Selanjutnya aktivitas penangkal radikal bebas dihitung sebagai persentase berkurangnya warna ABTS dengan menggunakan persamaan:

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

### Analisis data

Semua eksperimen dilakukan dengan dua kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata±SD. Analisis ragam dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan *software* SPSS versi 26.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi daun kubis

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan daun kubis yang telah dijadikan serbuk dan diayak untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam dengan tujuan agar penyerapan pelarut dapat lebih optimal karena jika semakin kecil ukuran partikel dari sampel maka luas permukaannya semakin besar. Metode yang digunakan dalam ekstraksi adalah maserasi dimana keuntungan metode ini adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan tidak menggunakan panas sehingga bahan alam tidak menjadi terurai.

Tabel 1. Hasil rendemen dari serbuk kubis etanol (KE) dan serbuk kubis air (KA)

Sampel	Rendemen (%)
Serbuk daun kubis etanol (KE)	15,15±0,30
Serbuk daun kubis air (KA)	14,45±0,42

Tabel 1. menunjukkan bahwa daun kubis yang ekstraksi dengan pelarut etanol menghasilkan rendemen sebesar 15,15% dan pelarut air sebesar 14,45%. Hal ini diduga karena pelarut etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dengan baik dan dapat menarik senyawa polar maupun non polar (Novianty, 2016).

### Penentuan kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin

Penentuan kandungan hemiselulosa, selulosa dan lignin bertujuan untuk mengetahui persentase kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin yang terkandung dalam suatu sampel. Berdasarkan Tabel 2, kandungan hemiselulosa dari setiap sampel memiliki kadar yang lebih tinggi daripada selulosa dan lignin. Kadar hemiselulosa tertinggi terdapat pada sampel KA sebesar 25,93%, diikuti oleh sampel KE sebesar 22,86% dan KTP sebesar 20,14%. Pada kadar selulosa dan lignin tertinggi terdapat pada sampel KA secara berturut-turut adalah 17,68% dan 15,68% diikuti oleh KTP dan KE.

Tabel 2. Kandungan selulosa, hemiselulosa dan lignin dari serbuk kubis etanol (KE), serbuk kubis air (KA) dan kubis tanpa perlakuan (KTP).

Komposisi kimia serat tak larut	KE	KA	KTP
Hemiselulosa (%)	22,66±0,20 <sup>b</sup>	25,93±0,02 <sup>a</sup>	20,14±0,03 <sup>c</sup>
Selulosa (%)	11,13±0,47 <sup>c</sup>	17,68±0,26 <sup>a</sup>	13,59±0,29 <sup>b</sup>
Lignin (%)	8,25±0,70 <sup>b</sup>	15,68±0,24 <sup>a</sup>	2,66±0,08 <sup>c</sup>

Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan,  $p < 0,05$ .

Hal ini disebabkan karena pelarut air memiliki polaritas yang lebih tinggi yang mengakibatkan kadar hemiselulosa, selulosa, dan lignin tertinggi ada pada sampel KA. Hemiselulosa diduga memiliki gugus OH yang menyebabkan hemiselulosa bersifat polar yang kemudian berinteraksi dengan akuades yang polar. Adanya gugus hidroksil bebas pada selulosa juga dapat membentuk ikatan hidrogen dengan molekul air yang menyebabkan pelarut akuades banyak menarik komponen polar. Menurut Dareda dkk. (2020), lignin mempunyai struktur yang amorf sehingga menyebabkan sebagian komponen lignin ikut larut dalam pelarut sehingga mengakibatkan tingginya komponen hemiselulosa yang tereksitasi.

### Penentuan serat pangan

Berdasarkan Tabel. 3 kandungan total serat pangan tertinggi terdapat pada sampel KTP sebesar 40,77% diikuti KA 40,11% dan KE 37,75%. Perbedaan kandungan serat pangan ini diduga karena pengaruh ekstraksi yang dilakukan yaitu dengan menggunakan metode maserasi dimana prinsip kerja dari maserasi yaitu sampel direndam dengan pelarut sehingga pelarut masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dari bahan dan akan larut. Kandungan serat pangan terlarut lebih kecil dibandingkan dengan kandungan serat pangan tak larut. Hal ini diduga bahwa serat pangan terlarut ikut larut dalam media perebusan sampel. Dalam metode pengujian serat pangan, dilakukan penambahan

NaOH pada suspensi serat pangan yang menyebabkan tingginya kandungan serat pangan tak larut (Tuwohingide dkk., 2022).

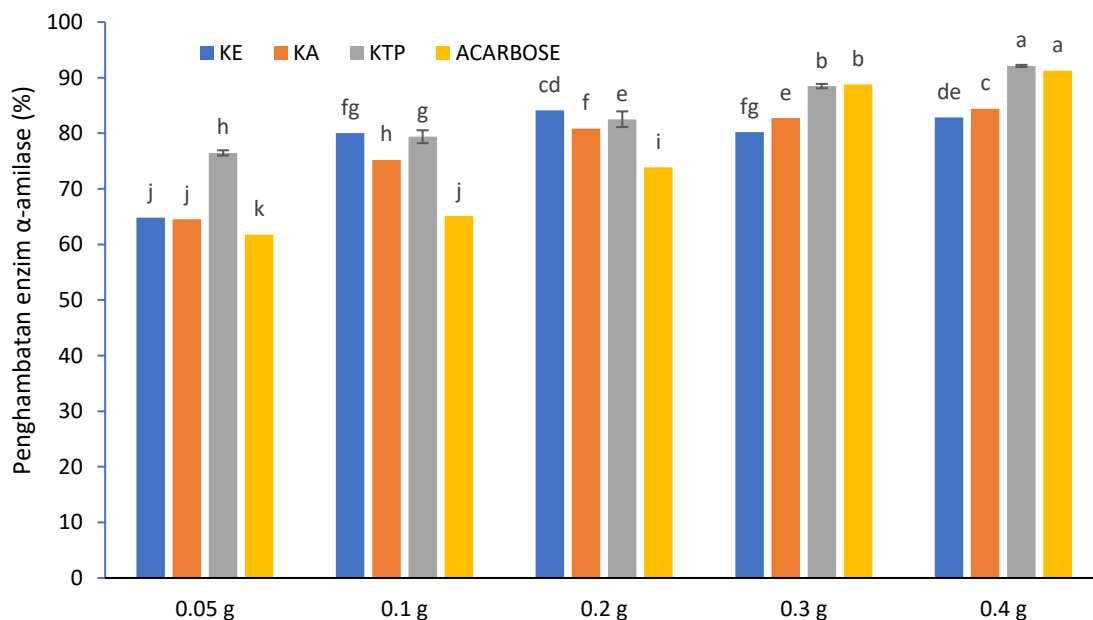
Tabel 3. Kandungan serat pangan dari serbuk kubis etanol (KE), serbuk kubis air (KA) dan kubis tanpa perlakuan (KTP)

Kandungan serat	KE (%)	KA (%)	KTP (%)
Serat pangan tak larut	36,42±0,04 <sup>c</sup>	38,66±0,17 <sup>b</sup>	39,36±0,08 <sup>a</sup>
Serat pangan terlarut	1,32±0,02 <sup>a</sup>	1,45±0,02 <sup>a</sup>	1,41±0,06 <sup>a</sup>
Serat pangan total	37,75±0,02 <sup>c</sup>	40,11±0,14 <sup>b</sup>	40,77±0,02 <sup>a</sup>

Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan,  $p < 0,05$

### Penghambatan enzim $\alpha$ -amilase secara *in-vitro*

Pengujian penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase secara *in vitro* dari tepung daun kubis dilakukan untuk mengetahui kemampuan tepung dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dalam proses pemecahan pati sehingga glukosa yang dihasilkan sedikit dengan mengamati perubahan intensitas warna biru pada senyawa kompleks iodin pati. Penggunaan pati bertujuan untuk substrat enzim  $\alpha$ -amilase.

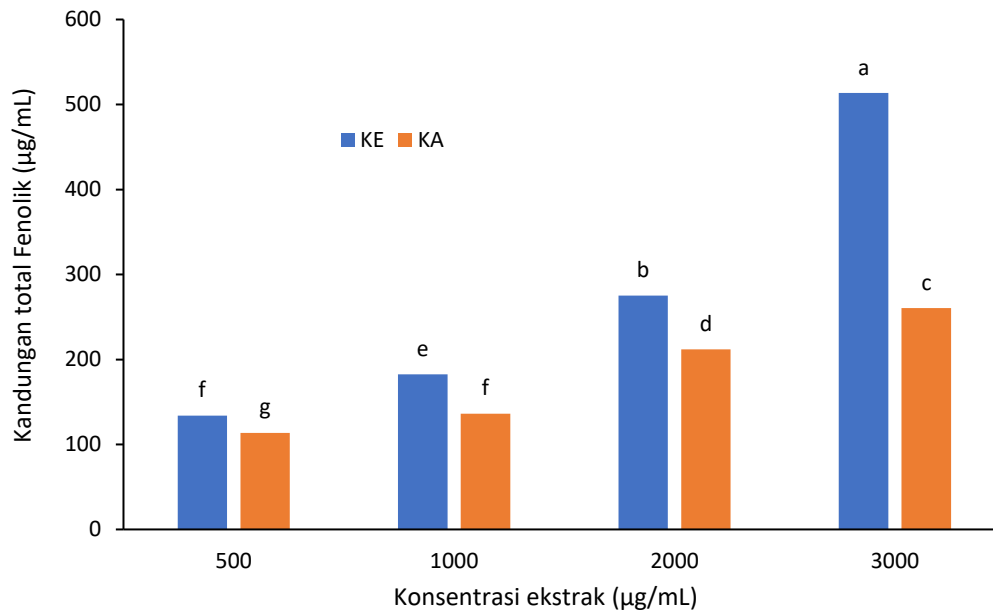


Gambar 1. Persentase penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan serbuk kubis etanol (KE), serbuk kubis air (KA) dan tepung kubis tanpa perlakuan (KTP). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Seperti pada Gambar 1, tepung daun kubis yang diekstraksi dengan pelarut etanol dan akuades menunjukkan aktivitas penghambatan lebih kecil dibandingkan dengan tepung daun kubis yang tidak diekstraksi dengan pelarut. Hal ini diduga karena adanya pengaruh dalam ekstraksi, dimana sampel yang diekstraksi dengan metode maserasi akan mengalami proses perendaman sehingga senyawa kimia di dalam tepung daun kubis akan ikut terlarut dengan pelarut. Penggunaan acarbose sebagai pembanding dikarenakan acarbose memiliki mekanisme kerja sebagai inhibitor alfa amilase pankreas dan hidrolase  $\alpha$ -glukosida pada usus. Acarbose bekerja dengan cara memperlambat penyerapan glukosa yang dapat menyebabkan penurunan konsentrasi glukosa darah postprandial dengan cara menunda pencernaan karbohidrat (Rosak & Mertes, 2012).

### Kandungan total fenolik

Penentuan kandungan total fenolik bertujuan untuk mengetahui peranan senyawa fenolik dari ekstrak daun kubis yang berperan sebagai antioksidan. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan reagen Folin-Ciocalteu untuk menentukan secara kuantitatif senyawa fenolik yang terkandung dalam ekstrak. Penentuan ini didasarkan pada kemampuan sampel dalam mereduksi reagen Folin-Ciocalteu yang mengandung senyawa fosfomolibdat-fosfotungstat. Reaksi yang terjadi adalah reaksi reduksi-oksidasi, dimana gugus hidroksil pada senyawa fenolik bereaksi dengan reagen Folin-Ciocalteu membentuk kompleks molibdenum-tungsten (Suryanto, 2012).

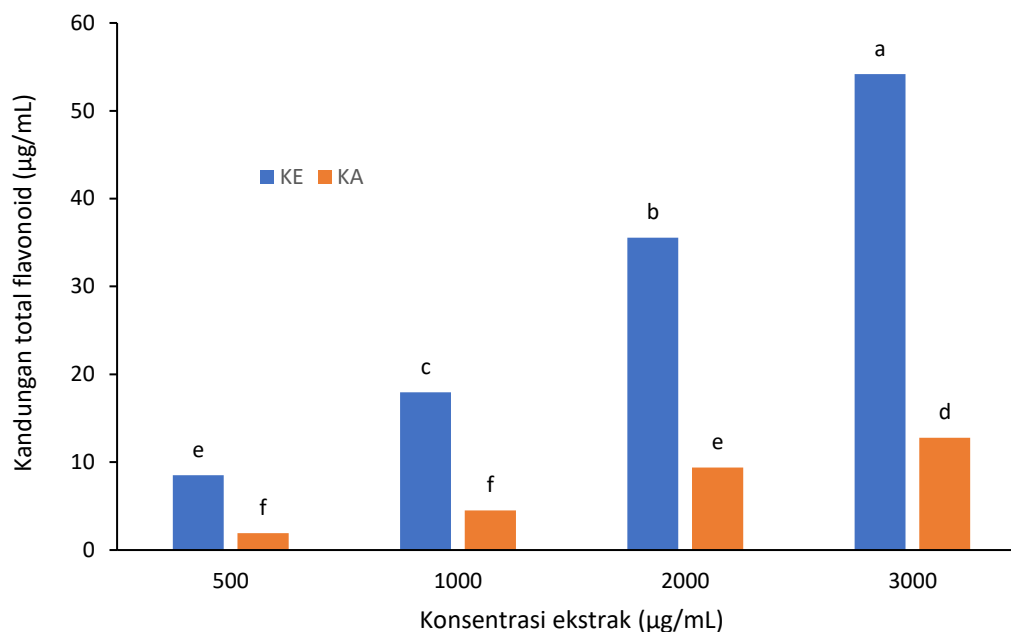


Gambar 2. Kandungan total fenolik dari ekstrak kubis etanol (KE) dan ekstrak kubis air (KA). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan,  $p < 0,05$ .

Gambar 2 menunjukkan bahwa kandungan total fenolik tertinggi terdapat pada ekstrak KE diikuti oleh ekstrak KA dengan konsentrasi 3000, 2000, 1000, 500 µg/mL secara berturut-turut sebanyak 513,55; 275,16; 182,40 dan 133,78 µg/mL pada sampel KE dan 260,56; 211,71; 136,19 dan 113,67 µg/mL pada sampel KA. Hal ini diduga bahwa ekstrak daun kubis bersifat semi polar karena kandungan fenolik yang terkandung pada ekstrak lebih banyak jika menggunakan pelarut etanol yang bersifat semi polar yang memiliki gugus polar yaitu OH dan non polar yaitu C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>. Perubahan warna biru yang terjadi berbanding lurus dengan konsentrasi ion fenolat, dimana semakin besar konsentrasi senyawa fenolik maka warna biru yang dihasilkan semakin pekat.

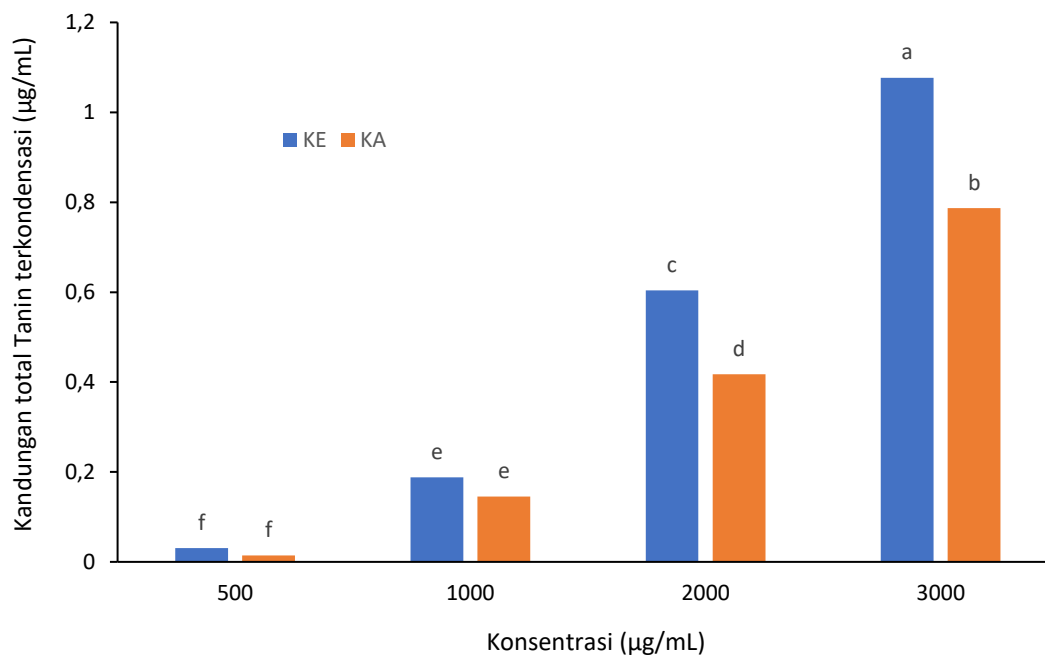
### Kandungan total flavonoid

Penentuan kandungan total flavonoid dilakukan dengan menggunakan larutan AlCl<sub>3</sub>. Prinsip penentuan total flavonoid dengan metode AlCl<sub>3</sub> adalah terbentuknya kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bersampingan dengan golongan flavon dan flavonol. Kuersetin digunakan sebagai standar pada penentuan kandungan total flavonoid karena kuersetin termasuk kedalam flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 (Azizah dkk., 2014).



Gambar 3. Kandungan total flavonoid dari ekstrak kubis etanol (KE) dan ekstrak kubis akuades (KA). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 3, kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak KE diikuti oleh ekstrak KA dengan konsentrasi 3000, 2000, 1000, dan 500 µg/mL secara berturut-turut adalah 54,17; 35,57; 17,97; 8,51 µg/mL untuk ekstrak KE dan 12,78; 9,38; 4,51 dan 1,91 µg/mL untuk ekstrak KA. Kandungan total flavonoid pada ekstrak daun kubis dengan pelarut etanol menunjukkan bahwa pelarut etanol memiliki sifat kepolaran yang mirip dan lebih efektif dalam melarutkan senyawa flavonoid pada daun kubis, sehingga ekstrak daun kubis dengan menggunakan pelarut etanol menghasilkan senyawa flavonoid tertinggi dibandingkan dengan pelarut akuades.



Gambar 4. Kandungan total tanin terkondensasi dari ekstrak kubis etanol (KE) dan ekstrak kubis akuades (KA). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).



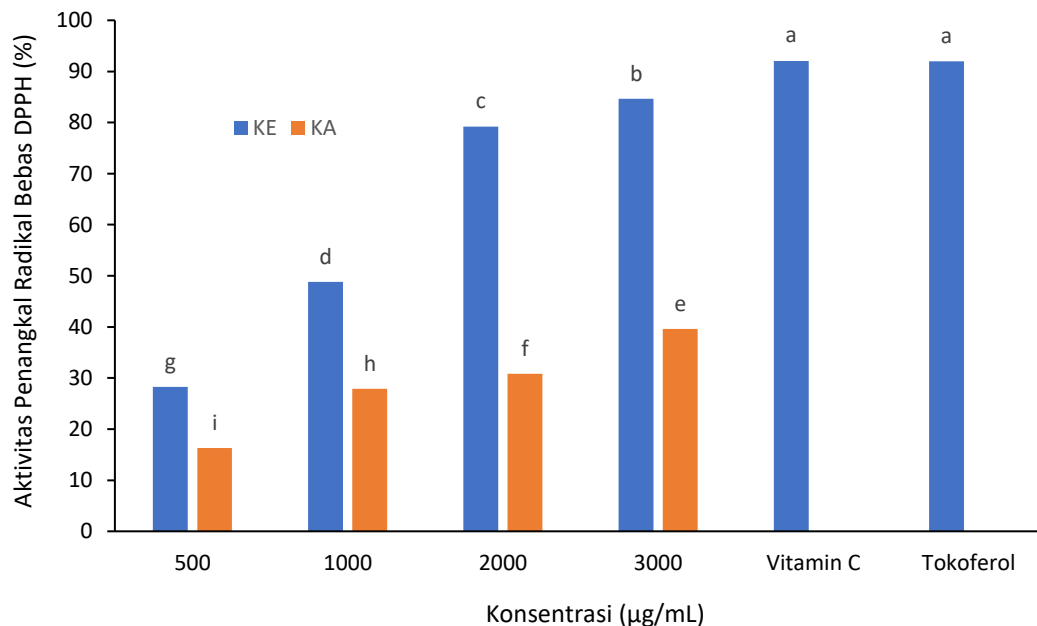
### Kandungan total tanin terkondensasi

Penentuan kandungan total tanin terkondensasi ditentukan dengan menggunakan metode vanilin-HCl. Prinsip pengujian vanilin-HCl dalam penentuan kandungan total tanin terkondensasi yaitu vanilin akan terprotonasi dalam asam sehingga membentuk karbokation dan bereaksi dengan flavonoid menghasilkan senyawa antara dengan mengalami reaksi dehidrasi dan akan membentuk senyawa berwarna ungu atau merah (Salunkhe dkk., 1990). Penentuan kandungan total tanin terkondensasi diukur menggunakan kurva standar katekin ( $\mu\text{g/mL}$ ).

Berdasarkan Gambar 3, kandungan total tanin terkondensasi tertinggi terdapat pada ekstrak KE diikuti oleh ekstrak KA dengan konsentrasi 3000; 2000; 1000 dan 500  $\mu\text{g/mL}$  secara berturut-turut adalah 1,08; 0,60; 0,19 dan 0,03  $\mu\text{g/mL}$  untuk ekstrak KE dan 0,79; 0,42; 0,15 dan 0,01  $\mu\text{g/mL}$  untuk ekstrak KE. Hal ini sejalan dengan penelitian Anastasya dkk. (2022) dimana fraksi air memiliki kadar tanin terendah dibandingkan dengan etanol walaupun tanin bersifat polar tetapi diduga tanin sukar larut dalam air. Berdasarkan data tersebut ekstrak daun kubis memiliki aktivitas yang rendah terhadap kandungan total tanin terkondensasi.

### Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Aktivitas penangkal radikal bebas ditentukan dengan menggunakan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Radikal DPPH adalah radikal bebas stabil yang menerima satu elektron atau hidrogen menjadi molekul stabil (Matthaus, 2002). Pengujian aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer dimana ekstrak akan direaksikan dengan larutan DPPH pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi pada 517 nm menurun menunjukkan reaksi antara molekul antioksidan dengan radikal DPPH (Suryanto & Wehantouw, 2009). Perubahan warna DPPH dapat terjadi karena adanya senyawa yang mendonorkan radikal hidrogen kepada 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) sehingga akan tereduksi menjadi radikal yang stabil 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) (Navitri & SBW, 2012).



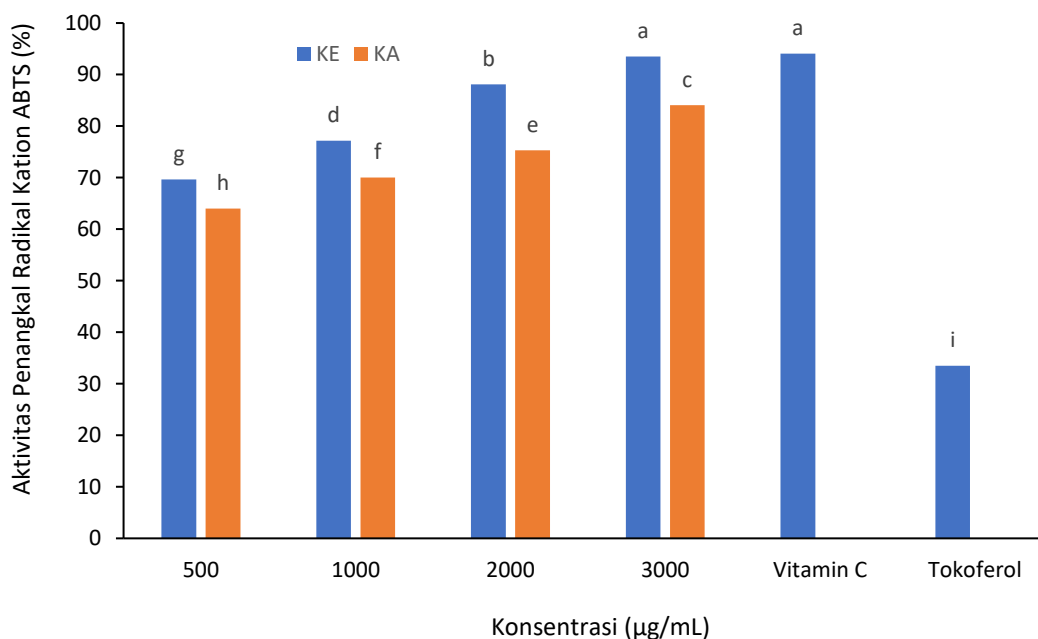
Gambar 5. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari ekstrak kubis etanol (KE) dan ekstrak kubis akuades (KA). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ).

Berdasarkan Gambar 5, aktivitas penangkal radikal bebas DPPH tertinggi terdapat pada ekstrak KE seiring dengan meningkatnya konsentrasi, pada 500  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 28.24%, dan pada 3000  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 84.62%. Sedangkan pada ekstrak KA 500  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 16.28% dan pada konsentrasi 3000  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 39.59%. Berdasarkan data kandungan total fenolik ekstrak daun kubis dapat dibuktikan bahwa kandungan total fenolik dari ekstrak daun kubis memiliki hubungan yang kuat dengan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH. Beberapa penelitian juga melaporkan bahwa

kandungan total fenolik dan aktivitas penangkal radikal bebas memiliki hubungan yang kuat (Suryanto & Taroreh, 2019; Anastasya dkk., 2022; Parinding dkk., 2021).

### Penentuan aktivitas penangkal radikal ABTS

Aktivitas penangkal radikal kation dilakukan dengan menggunakan metode 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid). Prinsip dari metode ini adalah dengan mendonorkan radikal proton kepada radikal bebas untuk menstabilkan radikal bebas yang ditandai dengan pemudaran warna dari biru kehijauan menjadi tidak berwarna atau berkurangnya intensitas warna (Shalaby dkk., 2014). Warna serapan dari ABTS diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 734 nm. Metode ini tidak membutuhkan waktu reaksi yang lama dalam pengujian.



Gambar 6. Aktivitas penangkal radikal ABTS dari ekstrak kubis etanol (KE) dan ekstrak kubis akuades (KA). Huruf yang berbeda menyatakan perbedaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ).

Berdasarkan Gambar 6, aktivitas penangkal radikal kation ABTS tertinggi terdapat pada ekstrak KE seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Pada 3000 µg/mL sebanyak 93,48% dan pada 500 µg/mL sebanyak 69,65% sedangkan pada ekstrak KA dengan konsentrasi 3000 µg/mL sebanyak 84,06% dan pada 500 µg/mL sebanyak 63,98%. Hal ini sejalan dengan data aktivitas penangkal radikal bebas dengan metode DPPH.

### KESIMPULAN

Penentuan kandungan hemiselulosa, selulosa, dan lignin pada serbuk daun kubis yang telah diekstraksi dengan pelarut etanol dan akuades menunjukkan serbuk daun kubis yang diekstraksi dengan akuades memiliki kandungan tertinggi yaitu 25,93%; 17,68% dan 15,68% dibandingkan serbuk daun kubis yang diekstraksi dengan etanol. Tepung serat pangan daun kubis memiliki kemampuan dalam menghambat enzim  $\alpha$ -amilase secara *in-vitro*, dengan sampel KTP yang memiliki aktivitas penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel KA dan KE dengan persentase penghambatan secara berturut-turut sebesar 76,47; 79,38; 82,52; 88,49% dan 92,12%. Penentuan kandungan fitokimia antioksidan seperti kandungan total fenolik, kandungan total flavonoid, kandungan total tanin, aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dan radikal kation ABTS tertinggi terdapat pada ekstrak KE diikuti oleh ekstrak KA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adriani, M., & Wirjatmadi, B. 2012. Peranan Gizi dalam Siklus Kehidupan. Prenamedia Group, Jakarta.
- Anderson, J.W., Baird, P., Davis, R.H., Ferreri, S., Knudtson, M., Koraym, A., Waters, V., & Williams, C.L. 2009. Health benefits of dietary fiber. *Internasional Life Sciences Institute*. 67(4), 188-205.
- Agustina. 2015. Pengaruh waktu penyemprotan terakhir sebelum panen terhadap residu profenofos dan karakteristik sensoris kubis (*Brassica oleracea var capitata*). *Skripsi*. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Udayana, Bali.
- Ariandi. 2016. Pengenalan enzim amilase (*Alpha-amilase*) dan reaksi enzimatisnya menghidrolisis amilosa pati menjadi glukosa. *Jurnal Dinamika*. 7(1), 74-82.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist*. AOAC International, Washington.
- Anastasya, T.P., Runtuwene, M.R.J., & Suryanto, E. 2022. Aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi pelarut dari cangkang biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Chemistry Progress*. 5(1), 9-16.
- Azizah, D.N., Kumolowati, E., Faramayuda, F. 2014. Penetapan kadar flavonoid metode  $AlCl_3$  pada ekstrak metanol kulit buah kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2), 45-49
- Bhutkar, M., Bhinge, S., Randive, D., Wadkar, G., & Todkar, S. 2018. Studies on glucose adsorption capacity of some indigenous plants. *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 5(1), 1-4.
- Burda, S. & Oleszek, W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49(6), 2774-2779.
- Cahyono, B. 2002. Cara Meningkatkan Budidaya Kubis, Analisa Kelayakan, Secara Intensif, Jenis Kubis Putih. Yayasan Pustaka Nusantara, Yogyakarta.
- De Sales, P.M., De Souza, P.M., Simeoni, L.A., Magalhães, P.D.O., & Silveira, D. 2012.  $\alpha$ -amylase inhibitors: A review of raw and isolated compounds from plant source. *Journal Pharmaceut Science*. 15(1), 141-183.
- Dareda, C.T., Suryanto, E., & Momuat, L.I. 2020. Karakterisasi dan aktivitas antioksidan serat pangan dari daging buah pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Chemistry Progress*. 13(1), 48-55.
- Hardoko. S.T., Eveline. Y.M., & Olivia. S. 2014. An in vitro study of antidiabetic activity of *Sargassum Duplicatum* and *Turbinaria Decurrens* seaweed. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 3(2), 13-18.
- Indrayoga, P.M., Sudarma, I.M., & Puspawati, N.M. 2013. Identifikasi jenis dan populasi jamur tanah pada habitat tanaman kubis (*Brassica oleraceae*) sehat dan sakit akar gada pada sentra produksi kubis di Kecamatan Baturiti Tabanan. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropica*. 2(3), 184-194.
- Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolics constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 33(2), 213-217.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K.C., Ahn, D.U. & Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(11), 3389-3393.
- Karepu, M.G., Suryanto, E., & Momuat, L.I. 2020. Komposisi kimia dan aktivitas antioksidan dari paring kelapa (*Cocos nucifera*). *Chemistry Progress*. 13(1), 39-47.
- Lemone, P., Karen, M.B., & Bauldoff, G. 2015. Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah. Edisi ke-5. EGC. Jakarta.
- Matthaus, B. 2002. Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(12), 3444-33452
- Mayer-Davis, E.J., Kahkoska, A.R., Jefferies, C., Dabelea, D., Balde, N., & Gong, C.X. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes*. 27(27), 7-19.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Milliogo, J., & Nacoulina, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline content in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91(3), 571-577.

- Navitri, A.D., SBW, M.M. 2012. Uji aktivitas antiradikal bebas ekstrak buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Burm.Fz) dengan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pikrylhidrazil). *UNESA Journal of Chemistry*. 1(2), 1-6.
- Novianty. 2016. Pengaruh kepolaran pelarut terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu Brazil batu (*Psidium guineense* L.) dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmako Bahahari*. 7(1), 29-35.
- Powers, A.C. 2008. *Diabetes Mellitus, on Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill Medical, New York.
- Parinding, Y.R., Suryanto, E., & Momuat, L.I. 2021. Karakterisasi dan aktivitas antioksidan serat pangan dari tepung biji alpukat (*Persea Americana* Mill). *Chemistry Progress*. 14(1), 22-31.
- Qi, J., Li, Y., Masamba, K.G., Shoemaker, C.F., Zhong, F., Majeed, H., & Ma, J. 2015. The effect of chemical treatment on the in vitro hypoglycemic properties of rice bran insoluble dietary fiber. *Food Hydrocolloids*. 52(2016), 699-706.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1998. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26(9-10), 1231-1237.
- Rosak, C., & Mertes, G. 2012. Critical evaluation of the role of acarbose in the treatment of diabetes: patient considerations. diabetes, metabolic syndrome and obesity: *Targets and Therapy*. 5, 357-367.
- Santoso, A. 2011. Serat Ppangan (*dietary fiber*) dan manfaatnya bagi kesehatan. *Magistra*. 75(23), 35-40.
- Salunkhe, D.K., Chavan J.K. & Kadam, S.S. 1990. *Dietary Tannins Consequences and Remedies*. CRC Press, Boca Raton.
- Shahwar, D., Shafiq-ur-Rehman, Ahmad, N., Ullah, S., Raza M.A. 2010. Antioxidant activities of the selected plants from the family *Euphorbiaceae*, *Lauraceae*, *Malvaceae* and *Balsaminaceae*. *African Journal of Biotechnology*. 9(7), 1086-1096.
- Setiawan, F., Oeke. Y., & Kurniawan, A. 2018. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sappan*) menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP. *Media Pharmaceutica Indonesia*. 2(2), 82-89.
- Singh, J.P., Kaur, A., Singh, N., Nim, L., Shevkani, K., Kaur, H., & Arora, D.S. 2016. In vitro antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT Food Science and Technology*. 65, 1025-1030.
- Superianto, & Ali, H. 2018. Nilai nutrisi silase limbah sayur kubis dengan penambahan dedak padi dan lama fermentasi yang berbeda. *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. 13(2), 172-181
- Suryanto, E. 2018. *Kimia Antioksidan*. CV. Patra Media Gravindo, Bandung.
- Suryanto, E. 2012. *Fitokimia Antioksidan*. Putra Media Nusantara, Surabaya.
- Suryanto, E., & Wehantouw, F. 2009. Aktivitas penangkap radikal bebas dari ekstrak fenolik daun sukun (*Artocarpus altilis* F.). *Chemistry Progress*. 2(1), 1-7.
- Suryanto, E & Taroreh, M.R.I. 2019. Ultrasound-assisted extraction antioksidan serat pangan dari Tongkol Jagung (*Zea mays* L.). *Chemistry Progress*. 12(2), 104-110.
- Wahyuningsih, R. 2013. *Penatalaksanaan Diet Pada Pasien*. Edisi ke-1. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Wild. S., Roglic, G., Green. A., Sicree. R., & King. H. 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*. 27(3), 1047-1053.
- Shalaby, E.A., & Shanab, M.M.S. 2014. Surfactants solubility, concentration and the other formulations effects on the drug release rate from a controlled-release matrix. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 8(13), 364-371.
- Tuwohingide, S.Y., Suryanto, E., Kubiseangan, H.S.J., & Wuntu, A.D. 2022. Karakterisasi serat pangan dan aktivitas penyerapan ion nitrit dari cangkang biji pala. *Chemistry Progress*. 15(2), 100-107.