

Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase oleh Ekstrak Etanol Hasil Soxhletasi dan Refluks Daun Manggis (*Garcinia mangostana* L.)

Putri Firania Pettanaga¹, Dewa Gede Katja^{1*}, Harry Steven Julius Koleangan¹

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

*Email korespondensi: dewakatja@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi dalam ekstrak etanol yang diperoleh melalui soxhletasi dan refluks daun manggis dan untuk menentukan efektivitasnya terhadap penghambatan enzim α -amilase. Penelitian dikerjakan melalui tahapan-tahapan preparasi, ekstraksi, penentuan kandungan total fenolik, flavonoid, dan tanin terkondensasi, serta penentuan aktivitas penghambatan enzim α -amilase. Rendemen tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol hasil refluks selama 4 jam (R4) (19,88%) dan terendah diperoleh pada ekstrak etanol hasil soxhletasi selamas 2 jam (S2) (7,97%). Kandungan total fenolik dan flavonoid tertinggi ditemukan pada ekstrak etanol hasil soxhletasi selama 8 jam (S8) (226,73 $\mu\text{g/mL}$ dan 266,76 $\mu\text{g/mL}$). Kandungan tanin terkondensasi tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol hasil soxhletasi selama 4 jam (S4) (24,36 $\mu\text{g/mL}$). Aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etanol hasil soxhletasi selama 4 jam (S4) 750 $\mu\text{g/mL}$ (92,95%). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun manggis yang diperoleh melali proses soxhletasi lebih efektif dalam menghambat enzim α -amilase dibandingkan dengan yang diperoleh melalui proses refluks.

Kata Kunci: *Garcinia mangostana*, soxhletasi, refluks, α -amilase

ABSTRACT

This research was aimed to determine the content of phenolic compounds, flavonoids, and condensed tannins in ethanol extracts obtained through soxhletation and reflux of mangosteen leaves, and to determine their effectiveness in inhibiting the α -amylase enzyme. The research was conducted through the stages of preparation, extraction, determination of total phenolic, flavonoid, and condensed tannin content, as well as determination of α -amylase enzyme inhibition activity. The highest yield was obtained from the ethanol extract produced by reflux for 4 hours (R4) (19.88%) and the lowest was obtained from the ethanol extract produced by Soxhletation for 2 hours (S2) (7.97%). The highest total phenolic and flavonoid content was found in the ethanol extract produced by Soxhletation for 8 hours (S8) (226.73 $\mu\text{g/mL}$ and 266.76 $\mu\text{g/mL}$). The highest condensed tannin content was obtained in the ethanol extract produced by Soxhletation for 4 hours (S4) (24.36 $\mu\text{g/mL}$). The highest α -amylase enzyme inhibition activity was shown by the ethanol extract produced by Soxhletation for 4 hours (S4) 750 $\mu\text{g/mL}$ (92.95%). It can be concluded that the ethanol extract of mangosteen leaves obtained through the Soxhletation process is more effective in inhibiting the α -amylase enzyme compared to that obtained through the reflux process.

Keywords: *Garcinia mangostana*, soxhletation, reflux, α -amilase

PENDAHULUAN

Tanaman manggis (*Garcinia mangostana* L.) merupakan salah satu tanaman yang banyak tersebar di negara tropis termasuk Indonesia (Dyahnugra & Widjanarko, 2015). Tanaman manggis yang termasuk dalam keluarga *Guttiferae*, tumbuh subur di berbagai negara di Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, Srilanka, Filipina, dan Thailand (Gutierrez & Failla, 2013). Bagian dari tanaman manggis yang telah banyak dimanfaatkan adalah bagian buah, kulit buah serta batangnya, sedangkan daun manggis belum banyak dimanfaatkan (Pangow dkk., 2018). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pangow dkk. (2018), ekstrak etanol daun manggis mengandung senyawa metabolit sekunder fenolik, salah satunya flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman (Ajie, 2015). Flavonoid telah terbukti memiliki potensi untuk

mengurangi risiko penyakit jantung dan kanker (Ukoha dkk., 2011). Senyawa flavonoid juga memiliki aktivitas antioksidan yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh terhadap penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Kemampuan antioksidan dalam flavonoid telah terbukti dapat menghambat akumulasi lemak, yang bisa membantu dalam penanganan obesitas, salah satu pemicu diabetes melitus (Anwar dkk., 2017). Flavonoid dilaporkan memiliki sifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin (Ajie, 2015). Flavonoid juga termasuk senyawa antioksidan yang memiliki efek hipoglikemik pada penderita Diabetes Mellitus (DM) (Fitriani dkk., 2020).

Diabetes mellitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah karena produksi insulin yang tidak mencukupi. Kondisi ini terkait dengan ketidaknormalan dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein, yang mengarah pada komplikasi kronis seperti neuropati kronis, serta masalah mikrovaskuler dan makrovaskuler. Penyebabnya dapat berasal dari faktor genetik dan lingkungan yang mempengaruhi sekresi insulin (Gaspersz dkk., 2022). Pada tahun 2019 menurut *International Diabetes Federation* (IDF), jumlah kasus diabetes secara global pada tahun 2019 diperkirakan mencapai 9,3% dari populasi (sekitar 463 juta orang). Proyeksi menunjukkan peningkatan menjadi 10,2% (sekitar 578 juta orang) pada tahun 2030, dan mencapai 10,9% (sekitar 700 juta orang) pada tahun 2045.

Salah satu penyebab diabetes mellitus adalah enzim α -amilase, yang berperan dalam mengkatalisis ikatan 1,4-glikosidik pada pati, mengubahnya menjadi glukosa yang dapat diserap oleh tubuh (Alfiani, 2022). Penghambatan terhadap enzim α -amilase dapat menunda dan memperlama waktu cerna karbohidrat (Wardani dkk., 2017). Enzim α -amilase bertanggung jawab memecah polisakarida, oligosakarida, dan disakarida menjadi monosakarida. Dengan menghambat aktivitas enzim ini, proses penyerapan dan pencernaan glukosa menjadi lebih lambat, yang pada akhirnya dapat menurunkan kadar gula dalam darah (Bhutkar & Bhise, 2012). Menurut Alfiani (2022) seseorang dapat dikatakan menderita DM jika glukosa dalam darah melebihi batas normal, sehingga penderita DM diharuskan mengonsumsi obat dalam jangka panjang.

Pentingnya penggunaan obat antidiabetes yang aman dan minim efek samping semakin terasa mengingat pengobatan diabetes bersifat jangka panjang. Saat ini, terapi medis umumnya melibatkan obat sintesis yang berpotensi menimbulkan kerusakan organ permanen dan memerlukan biaya yang tinggi. Dua faktor ini menjadi penyebab tingginya angka kematian di antara penderita diabetes. Oleh karena itu, masyarakat mulai mencari alternatif pengobatan, termasuk penggunaan tanaman obat yang mudah didapat dan memiliki efek samping yang minim (Rahimi, 2015).

Salah satu faktor yang berpengaruh terhadap mutu ekstrak adalah metode yang digunakan dalam proses ekstraksi (Nurhasnawati dkk., 2017). Pemilihan metode ekstraksi soxhletasi dan refluks karena peneliti ingin membandingkan dua metode cara panas. Ekstraksi refluks adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya selama jangka waktu tertentu. Proses ini melibatkan penggunaan jumlah pelarut yang terbatas dan relatif konstan, serta dilengkapi dengan pendingin balik. Dengan cara ini, ekstraksi berlangsung cepat dan pelarut dapat menarik senyawa dalam sampel secara lebih efektif (Susanty & Bachmid, 2016). Sedangkan metode soxhletasi adalah metode ekstraksi panas yang mampu menghasilkan lebih banyak ekstrak. Metode ini menggunakan lebih sedikit pelarut (efisiensi bahan) dan memastikan sampel diekstraksi secara sempurna karena prosesnya dilakukan berulang-ulang (Puspitasari & Prayogo, 2017). Berdasarkan uraian di atas penulis tertarik untuk melakukan penelitian mengenai aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari ekstrak etanol daun manggis dengan dua metode ekstraksi panas yaitu soxhletasi dan refluks.

BAHAN DAN METODE

Daun manggis diperoleh dari Desa Tetey, Kecamatan Dimembe, Kabupaten Minahasa Utara, Sulawesi Utara. Bahan kimia meliputi etanol, reagen Follin-Ciocalteu, kalium iodida, natrium karbonat, natrium dihidrogen fosfat monohidrat, dinatrium hidrogen fosfat dodekahidrat, aluminium klorida, pati, asam klorida dan natrium hidroksida diperoleh dari E. Merck (Darmstaff, Germany). Vanilin, kuersetin, asam galat, asam askorbat, dan enzim α -amilase diperoleh dari Sigma-Aldrich, sedangkan acarbose diperoleh dari Dexa Medica.

Preparasi sampel

Sampel daun manggis dicuci dengan air mengalir sampai bersih dan dipotong kecil-kecil, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60 °C hingga kering. Setelah itu, sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender kemudian diayak menggunakan ayakan 80 mesh untuk mendapatkan serbuk yang seragam.

Ekstraksi

Soxhletasi

Sebanyak 50 g sampel dibungkus menggunakan kertas saring dan dimasukkan kedalam tabung Soxhlet, ditambahkan pelarut etanol 80% sebanyak 300 mL kemudian disoxhletasi selama 2 jam (S2). Filtrat disaring lalu diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator. Cara yang sama dilakukan dengan waktu soxhletasi 4 jam (S4) dan 8 jam (S8). Hasil yang diperoleh adalah ekstrak kental daun manggis.

Refluks

Sebanyak 50 g sampel serbuk daun manggis dimasukkan di dalam labu 500 mL dan diekstraksi menggunakan 300 mL etanol 80% dan direfluks selama 2 jam (R2), kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat serta endapan. Filtrat disaring lalu diuapkan menggunakan rotary vacuum evaporator. Cara yang sama dilakukan dengan waktu refluks 4 jam (R4) dan 8 jam (R8). Kemudian, diperoleh ekstrak kental daun manggis.

Pembuatan seri konsentrasi ekstrak daun manggis

Ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg. Ekstrak kental daun manggis yang sudah ditimbang dilarutkan kedalam labu takar 10 mL dengan menambahkan etanol sampai tanda batas hingga diperoleh konsentrasi 1000 µg/mL. Cara yang sama dilakukan dengan mengganti pelarut etanol menggunakan akuades dengan ekstrak sebanyak 1; 7,5; dan 10 mg hingga diperoleh ekstrak akuades 100, 750 dan 1000 µg/mL.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong (Jeong dkk., 2004). Sebanyak 0,1 mL sampel (1000 µg/mL) ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 mL reagen Follin-Ciocalteu 50% dan divortex selama 3 menit. Setelah itu, ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%, kemudian larutan diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansi kemudian dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 750 nm. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat µg/mL ekstrak.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan Penentuan kandungan flavonoid menggunakan metode Meda (Meda dkk., 2005). Sebanyak 2 mL larutan ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 mL AlCl₃ 2%, kemudian divortex. Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin µg/mL ekstrak.

Penentuan kandungan total tanin terkondensasi

Kandungan total tanin terkondensasi diukur menggunakan metode Julkunen-Tiitto (1985). Sebanyak 0,1 mL ekstrak etanol daun manggis dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang dibungkus aluminium foil. Kemudian, 1,5 mL vanilin 4% yang dilarutkan dalam metanol ditambahkan dan divortex. Setelah itu, 1,5 mL HCl pekat ditambahkan dan divortex lagi. Larutan tersebut diinkubasi selama 20 menit pada suhu ruang, kemudian absorbansinya diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 500 nm. Kandungan total tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam µg/mL ekstrak. Absorbansi kemudian dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 750 nm. Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat µg/mL ekstrak.

Pembuatan enzim α-amilase

Sebanyak 0,1 g enzim α -amilase ditimbang dan dilarutkan dengan akuades dalam gelas kimia, kemudian diaduk hingga homogen. Larutan homogen tersebut dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL, ditambahkan akuades hingga mencapai volume 100 mL, lalu dikocok hingga homogen.

Penentuan aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Kemampuan penghambatan enzim α -amilase ditentukan dengan metode Bhutkar & Bhishe (2012) yang dimodifikasi. Dipipet 1 mL campuran buffer fosfat pH 7, enzim α -amilase 1000 μ g/mL, dan sampel, diinkubasi selama 30 menit, ditambahkan 1 mL larutan pati 2% dan diinkubasi kembali selama 10 menit, lalu ditambahkan 1 mL HCl 1 M dan 0,1 mL KI 0,01 N. Prosedur yang sama dikerjakan untuk acarbose (kontrol positif) dan akuades (blanko). Absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 614 nm. Aktivitas penghambatan enzim kemudian ditentukan dengan persamaan:

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen hasil ekstraksi

Rendemen ekstrak etanol daun manggis diperoleh melalui proses ekstraksi menggunakan metode refluks dan soxhletasi dengan etanol 80% sebagai pelarut. Metode refluks dan Soxhlet dipilih karena pemanasan memungkinkan cairan penyari untuk mudah menembus dinding sel simplisia. Hal ini membuat proses ekstraksi berlangsung singkat, menghasilkan ekstrak dalam jumlah lebih banyak, dan memastikan sampel terekstraksi secara sempurna (Olivia, 2022).

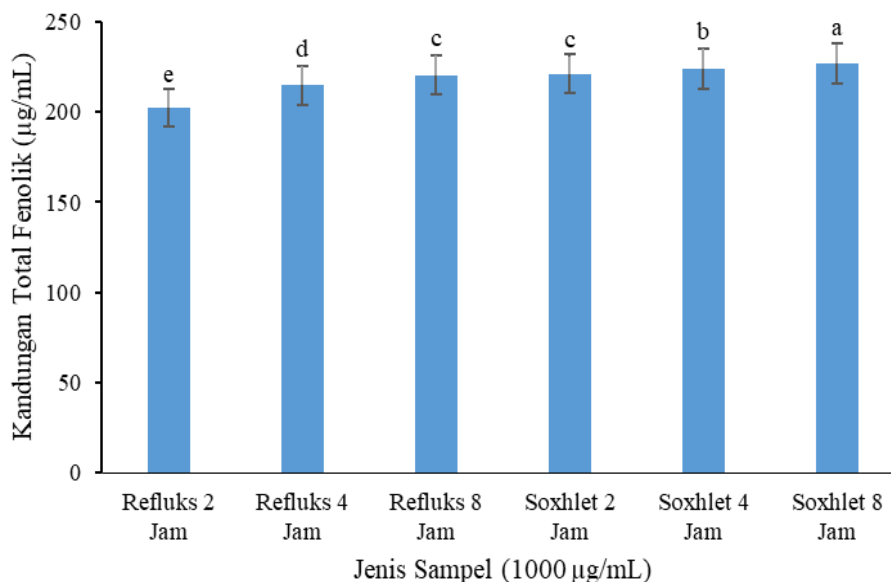
Tabel 1. Rendemen ekstrak etanol daun manggis

Metode Ekstraksi	Waktu ekstraksi (Jam)	Rendemen (%)
Refluks (R)	2	18,24
	4	19,88
	8	19,58
Soxhletasi (S)	2	7,97
	4	9,24
	8	10,48

Pada Tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan hasil rendemen ekstrak daun manggis. Ekstraksi dilakukan dengan waktu 2, 4, dan 8 jam dengan suhu 70 °C dilakukan sebanyak dua kali ekstraksi didapatkan rata-rata persentase tertinggi pada R4 sebesar 19,88% (b/b) dan terendah pada S2 sebesar 7,97% (b/b). Pengaruh pemanasan pada proses refluks dan soxhletasi meningkatkan kemampuan pelarut dalam mengekstrak senyawa yang tidak larut pada suhu kamar, sehingga menghasilkan aktivitas ekstraksi senyawa yang lebih optimal dan rendemen yang diperoleh lebih tinggi (Harborne, 1987). Metode refluks mempunyai rendemen yang lebih tinggi dibandingkan soxhletasi. Hal ini dapat disebabkan oleh proses ekstraksi secara soxhletasi yang membutuhkan waktu lama untuk terjadinya kontak antara sampel dan pelarut, sedangkan pada proses ekstraksi secara refluks butuh waktu yang relatif lebih singkat (Utami dkk., 2023).

Kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik dapat diketahui dengan melakukan pengujian ekstrak daun manggis dengan reagen Folin-Ciocalteu. Prinsip dari metode Folin-Ciocalteu adalah pembentukan senyawa kompleks berwarna biru yang dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 765 nm (Agbor dkk., 2014). Kandungan total fenolik ekstrak etanol daun manggis ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kandungan total fenolik ekstrak etanol daun manggis. Huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Gambar 1 menunjukkan kandungan total fenolik yang paling tinggi adalah pada S8 (226,73 µg/mL) diikuti oleh S4 (224,14 µg/mL), S2 (221,27 µg/mL), R8 (220,44 µg/mL), R4 (214,88 µg/mL), dan paling rendah pada R2 (202,38 µg/mL). Kandungan total fenolik yang lebih tinggi terdapat pada ekstrak dengan metode soxhletasi. Soxhletasi merupakan cara ekstraksi dengan memanaskan dan merendam sampel yang mengakibatkan pecahnya dinding dan membran sel karena adanya perbedaan tekanan antara bagian luar dan dalam dalam sel sehingga metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma larut dalam pelarut organik. Larutan yang menguap akan melewati pendingin dan menyebabkan uap berkondensasi. Sirkulasi ini terjadi ketika larutan melewati batas lubang pada sisi Soxhlet. Dengan mengulangi sirkulasi ini, ekstrak berkualitas tinggi dihasilkan (Anam dkk., 2014).

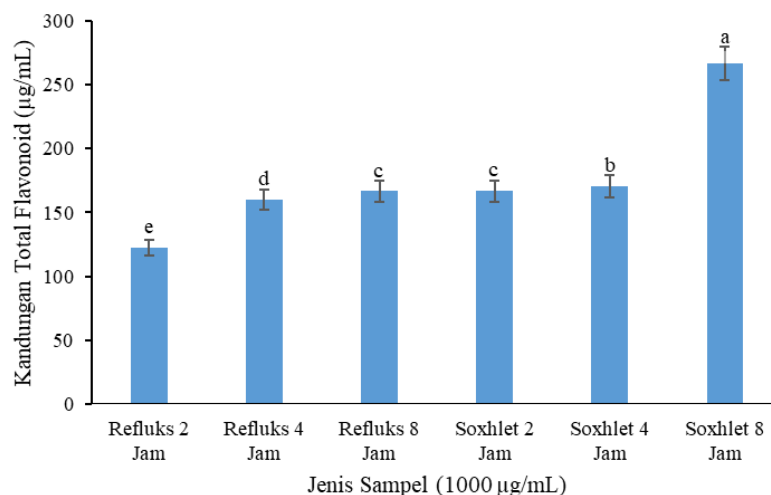
Pada penelitian Settharaksa dkk. (2012), suhu dan lama waktu pemanasan pada proses ekstraksi dapat memengaruhi konsentrasi senyawa yang dihasilkan. Umumnya kelarutan bahan aktif yang diekstraksi meningkat seiring dengan meningkatnya suhu. Namun, peningkatan suhu ekstraksi juga harus diperhatikan, karena suhu yang terlalu tinggi dapat merusak bahan yang diproses (Margaretta dkk., 2011). Puspitasari & Prayogo (2017) melaporkan, perbandingan metode ekstraksi pada ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura* L.) menghasilkan kadar fenolik tertinggi pada metode soxhletasi.

Kandungan total flavonoid

Pada penelitian ini, analisis total flavonoid dilakukan menggunakan metode $AlCl_3$. Prinsip dari metode ini adalah terbentuknya kompleks yang mengakibatkan perubahan panjang gelombang ke arah nampak. Proses ini terjadi ketika $AlCl_3$ bereaksi dengan gugus keto pada C-4 dan gugus OH pada C-3 atau C-5 pada senyawa flavon atau flavonol, membentuk senyawa kompleks yang stabil (Evayana & Aminah, 2022). Gambar 2 menunjukkan kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun manggis.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa kandungan total flavonoid tertinggi pada S8 sebesar 266,76 µg/mL diikuti dengan S4 (170,37 µg/mL), S2 (166,85 µg/mL), R8 (166,57 µg/mL), R4 (159,91 µg/mL) dan terendah pada R2 sebesar 122,41 µg/mL. Kandungan total flavonoid ekstrak yang dihasilkan dengan metode soxhletasi lebih besar dibandingkan dengan refluks. Hal ini dapat dijelaskan oleh proses ekstraksi pada metode refluks yang melibatkan pencampuran pelarut dan bahan simplisia dalam satu wadah, serta pemanasan langsung saat pencampuran berlangsung. Temuan ini sejalan dengan penelitian Safitri dkk. (2018), yang menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak refluks cenderung tidak stabil terhadap panas. Metode refluks, yang melibatkan pemanasan langsung, dapat menyebabkan kejenuhan pelarut dan kemungkinan kerusakan pada senyawa flavonoid yang peka terhadap panas, mengurangi kandungan flavonoid total yang diekstraksi. Hasil

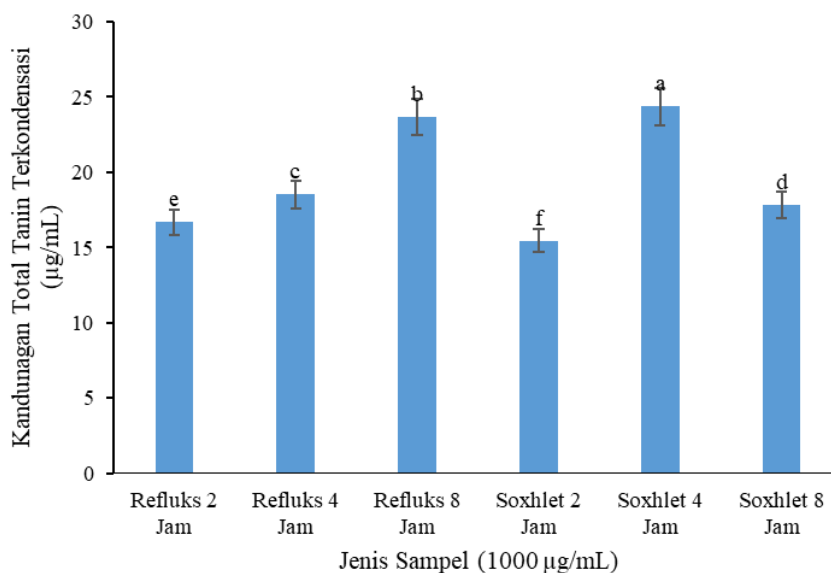
yang diperoleh sesuai dengan penelitian Hatam dkk., (2013) yang juga menunjukkan bahwa metode soxhletasi menghasilkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode refluks. Temuan serupa juga dilaporkan oleh Khotimah (2020), yang menemukan bahwa ekstraksi menggunakan metode refluks menghasilkan kadar flavonoid yang lebih rendah daripada metode maserasi, perkolasi, dan soxhletasi pada ekstrak etanol rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.).



Gambar 2. Diagram batang kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun manggis. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Kandungan total tanin terkondensasi

Metode uji vanilin-HCl digunakan untuk mengukur kandungan tanin terkondensasi. Prinsipnya adalah protonasi vanilin dalam suasana asam yang menghasilkan pembentukan karbokation dan yang kemudian bereaksi dengan flavonoid. Senyawa antara yang terbentuk mengalami dehidrasi dan dihasilkan senyawa berwarna merah atau ungu (Udjaili dkk., 2015). Kandungan total tanin terkondensasi ekstrak etanol daun manggis ditunjukkan pada Gambar 3 yang menunjukkan bahwa kandungan total tannin terkondensasi tertinggi pada S4 sebesar 24,36 µg/mL diikuti dengan R8 (23,68 µg/mL), R4 (18,53 µg/mL), S8 (17,80 µg/mL), R2 (16,69 µg/mL) dan yang terendah S2 sebesar 15,46 µg/mL.

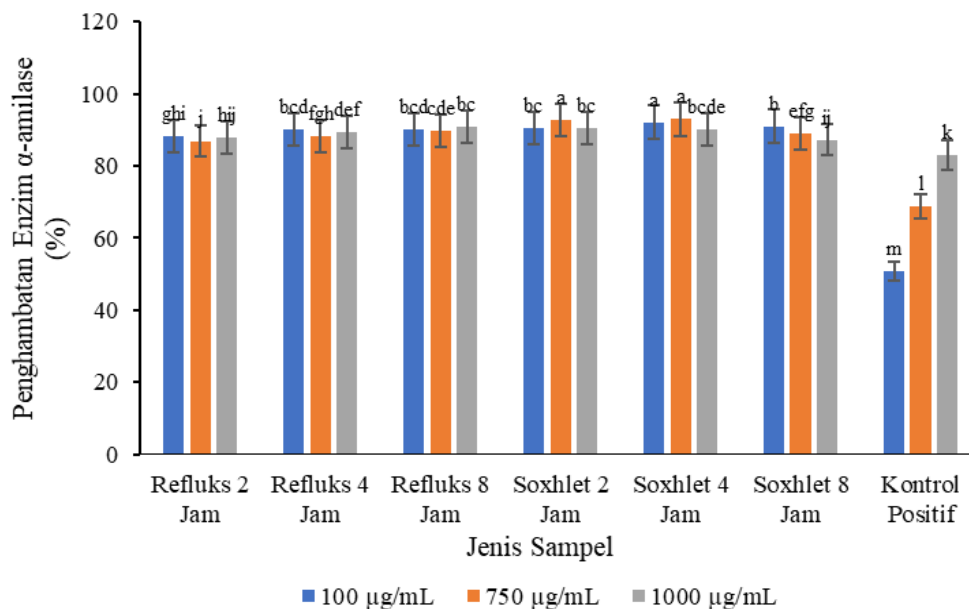


Gambar 3. Diagram batang kandungan total tanin terkondensasi ekstrak etanol daun manggis. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Tingginya kandungan total tanin terkondensasi pada S4 1000 $\mu\text{g/mL}$ didukung dengan penelitian Riyanti dkk. (2023) yang melaporkan kandungan tanin terkondensasi tertinggi terdapat pada ekstraksi soxhletasi, hal ini dapat disebabkan karena ada faktor sirkulasi pelarut pada metode Soxhlet yang dapat meningkatkan laju perpindahan massa senyawa tanin dari sel daun manggis. Menurut Markom dkk., (2007) waktu kontak secara signifikan mempengaruhi hasil ekstraksi tanin. Rendahnya kandungan total tanin terkondensasi pada S4 dibandingkan S8 diduga karena tanin telah terekstrak secara maksimal pada waktu ekstraksi 4 jam dan terdegradasi sebagian pada waktu ekstraksi 8 jam.

Penentuan aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Pengujian penghambatan α -amilase dilakukan untuk mengevaluasi penurunan aktivitas enzim α -amilase dalam pemecahan pati. Lebih banyaknya maltosa yang terbentuk dari pati menunjukkan tingkat hidrolisis yang lebih tinggi dari pati menjadi maltosa dan glukosa (Fitrianiingsih dkk., 2016). Prinsipnya adalah penurunan intensitas warna biru dari kompleks iodium-amylum karena enzim α -amilase menghidrolisis amilum dan mengubahnya menjadi glukosa yang tidak mengalami reaksi dengan iodium. Oleh karena itu, nilai absorbansi yang diukur adalah sisa substrat amilum yang berinteraksi dengan iodium. Semakin tinggi aktivitas ekstrak yang digunakan, makin sedikit pati yang mengalami hidrolisis, menghasilkan glukosa yang lebih sedikit karena penghambatan aktivitas enzim α -amilase oleh ekstrak (Hidayah dkk., 2023). Aktivitas penghambatan enzim α -amilase ekstrak etanol daun manggis ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram batang penghambatan enzim α -amilase ekstrak etanol daun manggis. Acarbose sebagai kontrol positif. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Gambar 4 menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi pada S4 750 $\mu\text{g/mL}$ (92,95%) yang tidak berbeda nyata dengan S2 750 $\mu\text{g/mL}$ (92,71%) dan S4 100 $\mu\text{g/mL}$ (92,08%). Aktivitas paling rendah adalah pada R2 750 $\mu\text{g/mL}$ (86,92%) yang hasilnya memperlihatkan perbedaan signifikan dengan acarbose (82,86%, 68,68% dan 50,83%). Ini menunjukkan bahwa komponen bioaktif yang mampu menghambat enzim α -amilase adalah yang tahan panas dan memberikan nilai inhibisi lebih tinggi daripada acarbose.

Senyawa yang diduga memiliki peran dalam penghambatan enzim α -amilase adalah flavonoid, sebagaimana ditunjukkan oleh penelitian Teder dkk. (2005). Hidroksilasi pada cincin C flavonoid juga dapat mengurangi kemampuan enzim untuk berikatan dengan α -amilase, seperti yang disebutkan oleh Kusmiyati dkk. (2023). Flavonoid merupakan agen antidiabetes yang dapat

menurunkan kadar glukosa darah dengan menghambat absorpsi glukosa dan aktivitas enzim alfa-amilase, sehingga mengurangi fluktuasi glukosa plasma dengan menunda pemecahan disakarida dan polisakarida menjadi glukosa pada usus (Nurjanah dkk., 2020)

Menurut Pujiyanto dkk. (2019) aktivitas inhibitor α -amilase mampu menghambat enzim α -amilase, sehingga menurunkan kadar gula darah. Semakin rendah nilai absorbansi, semakin tinggi persentase inhibisi sampel, dan sebaliknya (Mames dkk., 2022). *Acarbose*, obat antidiabetes yang digunakan sebagai pembanding, memperlambat penyerapan gula dengan menunda reaksi hidrolisis karbohidrat, disakarida, dan absorpsi glukosa, serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (You dkk., 2012).

KESIMPULAN

Kandungan total fenolik dan flavonoid tertinggi diperoleh pada ekstrak etanol yang diperoleh lewat soxhletasi selama 8 jam (S8). kandungan total tanin terkondensasi tertinggi diperoleh pada ekstrak yang disoxhletasi selama 4 jam (S4), dan aktivitas penghambatan enzim α -amilase tertinggi terdapat pada ekstrak etanol dengan metode soxhletasi selama 4 jam (S4). Ekstrak etanol daun manggis yang diperoleh lewat metode soxhletasi lebih efektif sebagai agen penghambat enzim α -amilase dibandingkan dengan yang diperoleh lewat refluks. Semua ekstrak memiliki aktivitas penghambatan enzim α -amilase yang lebih besar dibanding kontrol positif acarbose.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, G.A., Joe, A.V., & Patrick, E.D., 2014. Folin-ciocalteu reagent for polyphenolic assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*. 3(8), 147-156.
- Ajie, R.B. 2015. White dragon fruit (*Hylocereus undatus*) potential as diabetes mellitus treatment. *Jurnal Majority*, 4(1), 69-72.
- Alfiani, L.A. 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.
- Anam, C., Tri, W.A., & Romadhon. 2014. Pengaruh pelarut yang berbeda pada ekstraksi *Spirulina platensis* serbuk sebagai antioksidan dengan metode soxhletasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(4), 106-112.
- Anwar, K., Fadlillaturrahmah, & Sari, D.P., 2017, Analisis kandungan flavonoid ekstrak etanol daun binjai (*Mangifera caesia* Jack.) dan pengaruhnya terhadap kadar glukosa darah tikus yang diinduksi fruktosa lemak tinggi. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 20-30.
- Bhutkar, M.A., & Bhise, S.B. 2012. In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *Sadguru Publication*, 10(1), 457-462.
- Dyahnugra, A.A., & Widjanarko, S.B. 2015. Pemberian ekstrak bubuk simplisia kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan kondisi hiperglikemik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(1), 113-123.
- Evayana & Aminah, S. 2022. Penentuan kadar total flavonoid kunyit putih (*Curcuma zedoria* Rosc.) dengan variasi jenis pelarut. *Media Eksakta*, 18(1), 1-5.
- Fitriani., Sampepana, E., & Saputra, S.H. 2020. Karakteristik tanaman akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) dari loakulu kabupaten kutai kartanegara. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 14(2), 365-376.
- Fitrianiingsih, S.P., Maulana, I.T., Choesrina, R., Dwiputri, D., & Apriliani, R. 2016. Uji aktivitas penghambatan alfa amilase ekstrak daun tithonia diversifolia secara in vitro. *Prosiding SnaPP*. 6(1), 108-115.
- Gaspersz, N., Fransina, E., & Ngarbingan, A. 2022. Uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase dan glukamilase dari ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 19(2), 51-57.
- Gutierrez, F., & Failla, M.L. 2013. Biological activities and bioavailability of mangosteen xanthenes: a critical review of the current evidence. *Nutrients*. 5(8), 3163-3180.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode fitokimia: penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*. ITB Press. Bandung.
- Hatam, S.F., Suryanto, E., & Abidjulu, J. 2013. Aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit nanas (*Ananas comosus* L). *PHARMACON*, 2(1), 8-11.
- Hidayah, N., Pratama, K.J., & Raharjo, D. 2023. Aktivitas penghambatan enzim alfa-amilase ekstrak dan fraksi daun nipah (*Nypa fruticans* Wurmb). *Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan*, 9(25), 677-687.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Jo, S.C., Nam, D.U., & Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Jurnal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 213-217.
- Julkunen-Titto, R. 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(2), 213-217.
- Khotimah. 2020. Perbandingan metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak etanol rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.). [Skripsi]. Universitas Wahid Hasyim. Semarang.
- 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), 163-171.
- Mames, N.P.P., Suryanto, E., & Momuat, L.I. 2022. Aktivitas antioksidan dan penghambatan enzim α -amilase dari alga (*Euclima spinosum*). *Chemistry Progress*, 15(2), 108-116.
- Margaretta, S., Handayani, N., Indraswati, & Hindraso, H. 2011. Ekstraksi senyawa phenolics Pandanus amaryllifolius Roxb. sebagai antioksidan alami. *Widya Teknik*, 10(1), 21-30.
- Markom, M., Hasan, M., Daud, W.R.W., Singh, H., & Jahim, J. M. 2007. Extraction of hydrolysable tannins from phyllanthus niruri linn.: effects of solvents and extraction methods. *Separation and Purification Technology*, 52(3), 487-496.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(3), 571-577.
- Nurhasnawati, H., Sukarmi, & Handayani, F. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun jambu bol (*Syzygium malaccense* L.). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 3(1), 91-95.
- Nurjanah, S., Marliana, E., & Astuti, W. 2020. Uji aktivitas inhibisi amilase pada tanaman *Melicope* yang berpotensi sebagai antidiabetes. *Jurnal Atomik*, 5(2), 94-98.
- Olivia, F. 2022. Uji efektivitas larvasida terhadap larva nyamuk aedes aegypti ekstrak metanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode ekstraksi refluks dan sokletasi. *Proceeding Senada*, 1(1), 185-193.
- Pangow, M.E., Bodhi, W., & Queljoe, E. 2018. Skrining fitokimia dan uji toksisitas dari ekstrak etanol daun manggis (*Garcinia Mangostana* L.) dengan metode brine shrimp lethality test. *Pharmacoon*, 7(3), 97-209.
- Puspitasari, A. D., & L. S. Proyogo. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 2(1), 1-8.
- Rahimi, M. 2015. A review: anti diabetic medical plants used for diabetes mellitus. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 4(2), 163-181.
- Riyanti, H.B., Yeni, & Wilianita, R.A. 2023. Penetapan kadar tanin dalam ekstrak etanol daun angsana (*Pterocarpus indicus* Willd) hasil maserasi dan sokletasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis. *Medical Sains*, 8(1), 241-252.
- Safitri, I., Nuria, M.C., & Puspitasari, A.D. 2018. Perbandingan kadar flavonoid dan fenolik total ekstrak metanol daun beluntas (*Plechea indica* L.) pada berbagai metode ekstraksi. *Inovasi Teknik Kimia*, 3(1), 31-36.
- Settharaksa, S., Jongjareonrak, A., Hmadhlu, P., Chansuwan, W., & Siripongvutikom, S. 2012. Flavonoid, phenolic, contents and antioxidant properties of thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent, types and temperature. *International Food Research Journal*, 19(4), 1581-1587.

- Susanty & Bachmid, F. 2016. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Konversi*, 5(2), 87-93.
- Tedera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. 2006. Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(2), 149-53.
- Udjaili, S., Abidjulu, J., & Suryanto, E. 2015. Aktivitas antioksidan dari akar bawang daun (*Allium fistulosum* L.). *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 4(1), 20-23.
- Ukoha, P.O., Cemaluk, E.A.C., Nnamdi, O.L., & Madus, E.P., 2011. Tannins and other phytochemical of the *Samanea saman* pods and their antimicrobial activities. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 5(8), 237-244.
- Utami, D.M., Tutik, & Ulfa, A.M. 2023. Penetapan kadar flavonoid, alkaloid, dan fenolik ekstrak metanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) menggunakan metode ekstraksi sokletasi dan refluks. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 6(1), 90-102.
- Wardani, N.A., Andini, Indriani, P., & Sarinastiti, D. 2017. Enzim α -amilase inhibitor pada ekstrak air kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) untuk penanggulangan diabetes melitus. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, 1(2), 50-59.
- You, Q., Chen, F., Wang, X., Jiang, Y., & Lin, S. Anti-diabetic activities of phenolic compounds in muscadine against alpha-glucosidase and pancreatic lipase. *Food Science and Technology*, 46(1), 164-168.