

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK KULITBAWANG MERAH (*Allium cepa L.*) TERHADAP INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE

Febi Dian Nadera, Tutik*, Gusti Ayu Rai Saputri

Prodi Farmasi, Universitas Malahayati Bandar Lampung, Indonesia
*Korespondensi Penulis Email: tutiksantarjo@gmail.com

ABSTRACT

Shallots peel (Allium cepa. L) is an annual herb from the Liliaceae family that grows almost all over the world. The outer peel of dried shallots contains fiber and secondary metabolites that have the potential to inhibit antidiabetic activity against α -glucosidase enzyme inhibition. The strength of the activity of the α -glucosidase enzyme can be affected by the extraction method, either with heating or without heating. The purpose of this study was to reduce hyperglycemia to the α -glucosidase enzyme and to find out how much IC50 the antidiabetic activity of shallots peel extract was. The method used in this study is the reflux extraction method using methanol as a solvent and testing the α -glucosidase IC50 enzyme from shallots peel using spectrophotometric analysis techniques. The yield resulting from the extraction of shallots peel by reflux method was obtained as much as 12%. Extraction of methanol from shallot peel by reflux method contains positive compounds of flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, while triterpenoid compounds have negative results. Results The IC50 value from the methanol extraction of shallots peel was 13,43 ppm while the yield from the standard acarbose was 1,04 ppm. From the results of IC50 extraction of shallots peel methanol and acarbose standard included in the strong group.

Keywords: Shallot Peel, Reflux, Antidiabetic

ABSTRAK

Kulit bagian luar bawang merah yang mengering mengandung serat dan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai penghambat aktivitas antidiabetes terhadap inhibisi enzim α -glukosidase. Tujuan penelitian ini untuk menurunkan hiperglikemia terhadap enzim α -glukosidase dan mengetahui berapakah IC50 dari aktivitas antidiabetes ekstrak kulit bawang merah. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode ekstraksi refluks dengan menggunakan pelarut metanol dan pengujian terhadap enzim α -glukosidase dengan metode spektrofotometri. Hasil ekstraksi di peroleh rendemen sebesar 12% . Hasil skriningfitokimia di peroleh senyawa metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tanin, saponin mendapatkan hasil positif, sedangkan senyawa triterpenoid terdapat hasil yang negativ. Hasil uji antidiabetes ekstrak metanol kulit bawang merah terhadap enzim α -glukosidase diperoleh nilai IC50 13,43 ppm dengan kategori aktivitas antidiabetes sedang, dibandingkan dengan kontrol positif akarbose dengan nilai IC50 1,04 ppm yang termasuk kategori kuat.

Kata Kunci : Kulit Bawang Merah, Refluks, Antidiabetes.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) banyak dikenal sebagai salah satu penyakit tidak menular yang menjadi masalah global karena insidensinya setiap tahun yang terus meningkat di seluruh dunia. Kondisi hiperglikemia pada diabetes melitus mempunya efek yang sangat berpengaruh pada endotel pembuluh darah akibat adanya proses auto-oksidasi glukosa dalam membentuk radikal bebas yang pada akhirnya akan menghasilkan disfungsi makro dan mikrovaskular. Kondisi inilah yang selanjutnya akan menimbulkan komplikasi, dan selanjutnya akan meningkatkan angka morbiditas maupun mortalitas pada penderita diabetes melitus. Penggunaan antioksidan pada penderita diabetes melitus ternyata diketahui efektif dalam mengurangi munculnya komplikasi yang timbul. Hal ini didukung dengan berbagai penelitian yang membuktikan manfaat antioksidan terkait proses patologi dari diabetes melitus akibat kondisi stres oksidatif. Pada masa yang akan datang, keamanan dan keefektifan suplemen atau makanan yang mengandung antioksidan dalam upaya mengatasi kondisi diabetes dan

tetap harus dibuktikan lebih lanjut (Prawitasari, 2019).

DM dapat diterapi dengan obat antidiabetes. Antidiabetes untuk saat ini yang sering menggunakan obat-obatan sintesis seperti akarbose dan butylhydroxyanisole (BHA). Terapi obat akarbose tersebut memiliki efek negatif seperti gangguan saluran cerna yang muncul akibat penggunaan akarbose seperti perut kembung, mual, diare. Sedangkan terapi obat BHA memiliki sifat toksik dan karsinogenik. Akarbose merupakan inhibitor enzim α -glukosidase. Akarbose dapat menghambat kinerja kerja enzim α -glukosidase yang menyebabkan penurunan hidrolisis amilum di usus halus. Hidrolisis amilum menurun mengakibatkan sedikit glukosa yang terbentuk dan dapat diserap oleh mukosa usus halus. Akarbose memiliki efek negatif dari terapi obat, oleh karena itu dibutuhkan obat dari bahan alam yang lebih alami seperti flavonoid, alkaloid, dan tanin (Rosak dan Mertes, 2012).

Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman dapat menunda absorpsi dan menghambat enzim α -glukosidase. Penelitian yang telah dilakukan pada ekstrak etanol 70% daun

surian memiliki nilai aktivitas penghambat paling besar dengan nilai IC₅₀ sebesar 64,35 µg/mL, terhadap enzim α- glukosidase sebagai agen antidiabetes memberikan aktivitas dengan nilai IC₅₀ dari ekstrak tanaman sebesar 50,44 µg/mL (Monisa, 2016).

Aktivitas antioksidan dari senyawa metabolit sekunder ekstrak metanol kulit bawang merah dengan metode refluks memiliki nilai IC₅₀ sebesar 7,953 mg/L sedangkan aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit bawang merah dengan metode sokletasi memiliki nilai IC₅₀ sebesar 10,650 mg/L. Kedua nilai IC₅₀ tersebut masuk dalam golongan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Metode refluks lebih tinggi nilai aktivitas antioksidannya dibandingkan dengan metode sokletasi (Tapalina, 2021). Penelitian penetapan kadar flavonoid telah dilakukan dengan metode refluks dan sokletasi dengan pelarut etanol. Hasil ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) menggunakan pelarut etanol dengan metode refluks diperoleh rendemen sebanyak 8,68% sedangkan hasil ekstraksi dengan metode sokletasi diperoleh rendemen sebanyak 9,55% dengan kadar flavonoid

sebesar 105,55 mg/g atau 10,55% dan 108,21 mg/g atau 10,82% ekstrak (Putri, 2021).

Berdasarkan uraian, maka akan dilakukan penelitian ekstraksi kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode refluks menggunakan pelarut metanol. Ekstrak yang diperoleh akan diuji aktivitas antidiabetes dengan kinetika inhibisi enzim α- glukosidase.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan dalam penelitian refluks, rotary evaporatory, kertas saring, batu didih, beaker gelas, erlenmayer, oven, pipet tetes, rak tabung, tabung reaksi, spatula, batang pengaduk, botol kaca, aluminium foil, kertas label. Sedangkan alat yang digunakan untuk penelitian akarbose yaitu oven, waterbath, corong pisah, rotary evaporator, pH meter (Eutech Instrumens), vortex mixer (BI type 37600 mixer), microplate reader (Bioteck Epoch), inkubator, buret (Pyrex), elisa reader dan alat gelas yang biasa digunakan seperti tabung reaksi, cawan, gelas ukur.

Bahan yang digunakan ekstraksi refluks yaitu simplisia kulit bawang merah, metanol 96%, asam askorbat, serbuk mg, HCl,

FeCl₃, pereaksi mayer. Bahan yang digunakan dalam uji aktivitas enzim α-glukosidase yaitu akuades, Na₂CO₃, larutan standar, blanko dan sampel, larutan buffer fosfat pH 7, substrat p-nitrofenil-α-D-gluko-piranosida (pNPG), enzim α-glukosidase, larutan akarbose.

Populasi pada penelitian ini adalah kulit bawang merah (*Allium cepa L.*) yang diambil langsung dari pasar Wayhalim. Pengambilan sampel menggunakan sampel acak sederhana yang bisa disebut Simple Random Sampling. Sampel diambil dari beberapa pasar yang berada didaerah Wayhalim. Teknik pengambilan sampel dengan metode ini memberikan kesempatan yang sama untuk kulit bawang merah yang akan dijadikan sampel untuk penelitian.

Sampel yang digunakan adalah kulit bawang merah (*Allium cepa L.*). pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan metode rampang (*random sampling*) yaitu dengan mengambil sampel dari pasar Wayhalim. Bagian bawang merah yang digunakan adalah lapisan kulit. Kulit bawang merah yang diambil adalah lapisan yang terluar. Kulit bawang merah, kemudian dikumpulkan dalam satu wadah dan dicuci menggunakan air mengalir sampai bersih. Setelah itu

sampel dikeringkan dengan cara diangin- anginkan, selama 3 sampai 4 hari. Setelah kering sampel dihaluskan menggunakan blender.

Pembuatan Ekstrak Kulit Bawang Merah

Ekstraksi menggunakan metode refluks, sebanyak 100 gram serbuk kulit bawang merah dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan tambahkan 1000 mL metanol kemudian dipanaskan pada suhu 65°C selama 1 jam. Sehingga uap - uap pelarut terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul - molekul pelarut yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, kemudian menyari kembali sampel yang berasal dari labu alas bulat. Proses ini terus berlangsung secara berkesinambungan hingga mendapat penyarian sempurna. filtrat yang diperoleh yaitu ekstrak encer. Kemudian filtrat dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C. Filtrat yang sudah dievaporasi kemudian dimasukan kedalam oven untuk memperoleh hasil ekstrak yang kental.

Skrining Fitokimia

Hasil ekstraksi refluks diambil sebanyak 1 gram dilarutkan dengan 100 mL metanol.

a. Uji alkaloid

Sebanyak 1 mL larutan uji ekstrak metanol kulit bawang merah ditambahkan dengan 1 mL HCl 1% dan 1 mL pereaksi Mayer lalu dipanaskan ditangas air selama 1 menit, terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya senyawa alkaloid.

b. Uji Tanin

Sebanyak 1 mL larutan uji ekstrak metanol kulit bawang merah ditambahkan dengan 1 mL FeCl₃ 10%. Jika terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin.

c. Uji Triterpenoid

Sebanyak 1 mL asam cuka dan 1 mL asam sulfat pekat terbentuk warna biru keunguan menunjukkan warna adanya warna terpenoid (metabolit sekunder).

Uji Aktivitas α -glukosidase

Pembuatan Larutan Standar

Sebanyak 10 μ L larutan standar, blanko dan sampel (konsentrasi 5, 10, 30, 50, 100, 200, 400, 500 dan 1000 μ g/mL) dimasukkan ke dalam sumur microplate reader dan ditambahkan dengan 50 μ L larutan bufer fosfat pH 7. Selanjutnya, sebanyak 25 μ L substrat berupa p-nitrofenil- α -D-glukopiranosaida(pNPG) 10 mM ditambahkan beberapa saat

sebelum uji dimulai. Reaksi diinisiasi dengan penambahan 25 μ L enzim α -glukosidase (0.004 U/mL) dalam bufer fosfat 0.01 M (pH 7.0) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 μ L Na₂CO₃

200 mM. Hasil reaksi diukur dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm. Larutan akarbose digunakan sebagai kontrol positif dengan sistem reaksi sama seperti sampel. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan % inhibisi untuk menentukan nilai IC₅₀. (Monisa, 2016).

Sistem Reaksi Penghambatan α -glukosidase

- a. Konsentrasi ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) : 300, 700, 1000, 1500 ppm
- b. Konsentrasi akarbose standar baku : 3, 7, 10, 15 ppm.

Analisis Data

Analisis data yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan data analisis probit IC₅₀ dengan menggunakan metode refluks.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil ekstraksi dari kulit bawang merah (*Allium cepa* L.)

menggunakan metode refluks dengan menggunakan pelarut metanol dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstrak kulit bawang merah

Berat serbuk (gram)	Pelarut (L)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
100	1	12	12

Metode refluks menghasilkan rendemen dari ekstrak metanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) sebesar 12%.

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil Skirining Fitokimia dari ekstrak metanol kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Skirining Fitokimia Ekstrak kulit bawang merah

Uji kualitatif	Hasil	keterangan
Flavonoid	Larutan berwarna merah	Positif
Saponin	Larutan berwarna merah dan terbentuknya busa stabil	Positif
Alkaloid	Larutan berwarna merah dan terbentuknya endapan berwarna putih	Positif
Tanin	Larutan berwarna hijau kehitaman	Positif
Triterpenoid	Larutan berwarna hijau kehitaman	Positif

Hasil Uji Enzim α - Glukosidase IC50

Hasil uji aktivitas enzim α -glukosidase menggunakan sampel ekstrak metanol kulit bawang

merah dan menggunakan standar akarbose dengan menggunakan teknik analisis spektrofotmetri yang dapat dilihat pada tabel 3.

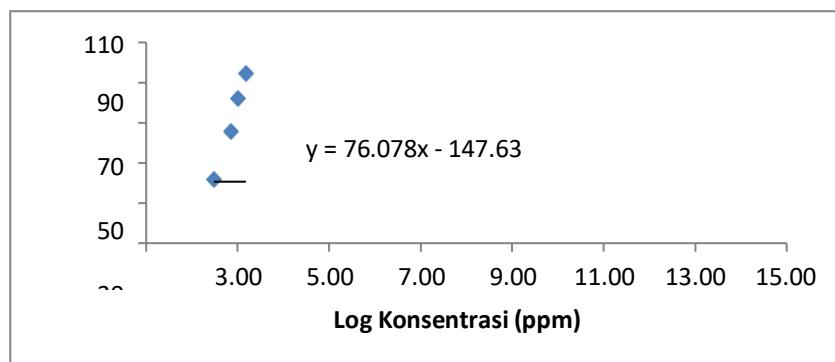
Tabel 3. Hasil uji enzim α -glukosidase kulit bawang merah (*Allium cepa* L.)

Nama Sampel	Konsentrasi (mg/mL)	% Inhibisi	IC50 (ppm)
Ekstraksi Metanol Kulit Bawang Merah	1500	94,624	13,43
	1000	82,010	
	700	65,633	
	300	41,977	
	15	94,099	
Standar Akarbose	10	74,639	1,04
	7	63,653	
	3	36,472	

Besarnya aktivitas penghambatan α -glukosidase ditandai dengan semakin kecil nilai IC₅₀ yang diperoleh. Hasil uji enzim alfa glukosidase memperlihatkan bahwa akarbose sebagai kontrol positif memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,04 ppm yang menandakan bahwa akarbose termasuk golongan yang aktif karna nilai IC₅₀ nya menunjukan hasil \leq 1.000 ppm.

Hasil uji aktivitas penghambatan α -glukosidase pada tabel 3 menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas inhibisi α -glukosidase dengan semakin kecilnya nilai IC₅₀ yang dihasilkan dari 13,43 ppm untuk ekstrak metanol kulit bawang merah dapat memberikan pengaruh terhadap peningkatan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang dihasilkan.

Kurva Analisis Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*)



Gambar 1. Kurva Analisis Probit Ekstrak Kulit Bawang Merah

Gambar 1 menunjukan persamaan regresi linier antara -log ppm dengan absorbansi didapatkan nilai $a=76,078$ $b=-147,63$ dan dengan koefisien korelasi (R^2) sebesar 0.9911.

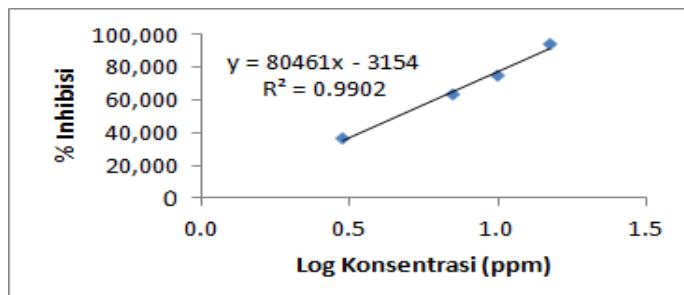
Tabel 4. Analisis Probit Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa L.*)

Konsentrasi	Log konsentrasi	% Inhibisi
1500	3,1761	94,624
1000	3,0000	82,010
700	2,8451	65,633
300	2,4771	41,977

Kode sampel	A	B	In (x)	\times IC ₅₀ (ppm)
Febi Dian Nadera, Tutik*, Gusti Ayu Rai Saputri Prodi Farmasi, Universitas Malahayati Bandar Lampung, Indonesia *Korespondensi Penulis Email: tutiksantarjo@gmail.com				

Ekstrak Kulit Bawang Merah	76,078	-147,63	2,598	13,433
----------------------------	--------	---------	-------	--------

Kurva Analisis Akarbose



Gambar 2. Kurva Persen Probit Analisis Akarbose

Persamaan regresi linier antara log ppm dengan absorbansi didapatkan nilai a = 80461 b = -3154 dan dengan koefisien korelasi (R2) sebesar 0.9902.

Tabel 5. Analisis Probit Akarbose

Konsentrasi	Log Konsentrasi	% Inhibisi
15	1,1761	94,099
10	1,0000	74,639
7	0,8451	63,653
3	0,4771	36,472

Kode sampel	A	B	In (x)	x IC50 (ppm)
Akarbose	80461	-3154	0,040	1,04

Per센tase inhibisi larutan baku pembanding standar akarbose dan larutan masing-masing hasil ekstraksi kemudian dihitung nilai IC50. Nilai IC50 dari standar akarbose sebagai pembanding diperoleh dengan cara memasukkan nilai hasil perhitungan % inhibisi ke dalam persamaan linier dengan konsentrasi (mg/L) sebagai absis

(x) dan nilai persentase inhibisi sebagai ordinat(y) dengan persamaan $y = bx+a$.

Berdasarkan perhitungan didapatkan nilai IC50 larutan baku pembanding standar akarbose sebesar 1,04% dan termasuk yang kuat. Sedangkan nilai IC50 dari ekstrak metanol kulit bawang merah yaitu sebesar 13,43%.

Persentase penghambatan dari sampel sangat dipengaruhi oleh konsentrasi sampel. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang diberikan maka akan meningkatkan persentase penghambatan yang dihasilkan. Aktivitas penghambatan α -glukosidase dari ekstrak kulit bawang merah ditunjukkan dari nilai IC₅₀. Semakin kecil nilai IC₅₀ daya penghambatan α -glukosidase semakin besar. Ekstrak metanol kulit bawang merah memiliki aktivitas penghambatan paling besar dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,43%. Dalam penelitian ini senyawa yang berperan sebagai penghambat α -glukosidase lebih banyak terdapat pada ekstrak metanol yang bersifat polar bila dibandingkan dengan pelarut air. Pelarut metanol mempunyai dua gugus yang berbeda kepolarannya yaitu gugus hidroksil dan alkil sehingga dapat mengekstrak senyawa aktif yang berbeda kepolarannya dan meningkatkan aktivitas penghambatan α -glukosidase (Suarsa et al., 2011).

Aktivitas penghambatan α -glukosidase oleh ekstrak tanin hasil fraksinasi yang paling besar juga ditunjukkan ekstrak tanin kulit bawang merah dengan nilai IC₅₀ sebesar 13,43ppm. Ekstrak tanin metanol kulit bawang merah dari

hasil identifikasi tergolong jenis tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis merupakan agen biologis yang lebih potensial dibandingkan tanin terkondensasi tidak memiliki ikatan glikosida pada strukturnya (Ismarani, 2012). Senyawa yang mempunyai ikatan glikosida memberikan aktivitas inhibisi α -glukosidase yang lebih besar (Auliawan dan Cahyono, 2014).

Hasil penelitian (Omar et al., 2012) (Toda et al., 2000) (Hayashi et al., 2002) menyatakan bahwa ellagitanin yang merupakan tanin terhidrolisis mempunyai aktivitas penghambatan α -glukosidase dan mempunyai sifat yang mirip dengan hormon insulin dan diduga banyaknya unit galloil dalam molekul dapat meningkatkan aktivitas penghambatan. Namun berdasarkan hasil penelitian Pham (2014) belum diketahui secara pasti banyaknya kelompok galloil bebas, letak heksahidroksidifenoil (HHDP) atau substitusi galloil ellagitanin yang berperan dalam meningkatkan aktivitas penghambatan α -glukosidase. Inhibitor enzim alfa-glukosidase seperti akarbosa bekerja dengan cara menunda absorpsi glukosa di dalam usus sehingga dapat mencegah kenaikan level gula

darah post-prandial. Oleh karena itu, enzim alfa-glukosidase menjadi salah satu enzim target untuk pengobatan penyakit diabetes.

Akarbose berikatan dan menghambat kerja enzim alfa glukosidase pada intestinal brush border. Alfa glikosidase adalah enzim yang mengkatalisator konversi kabrohidrat kompleks, oligosakarida, dan disakarida menjadi monosakarida dan glukosa untuk kemudian masuk ke dalam lumen intestinal dan aliran darah. Dengan menghambat kerja enzim alfa glukosidase, akarbose mampu menurunkan kadar gula darah postprandial. Dalam sebuah uji klinis, inhibitor alfa glukosidase mampu mereduksi kadar HbA1c hingga 0,5-0,8%. Karena efek ini, akarbose efektif digunakan dalam pengobatan diabetes mellitus tipe 2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian analisis α -glukosidase ekstrak metanol kulit bawang merah (*Allium cepa L.*) dengan metode ekstraksi reflux dapat disimpulkan:

1. Ekstrak kulit bawang merah (*Allium cepa L.*) dapat menghambat enzim α -glukosidase sebagai antidiabetes.

2. Nilai IC50 dari aktivitas antidiabetes ekstrak kulit bawang merah sebesar 13,43 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Auliawan R, Cahyono B. 2014. Efek hidrolisis ekstrak daun iler (*Coleus scutellarioides*) terhadap aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase. *JSM*. 22(1): 15-19.
- Hayashi T, Maruyama H, Kasai R, Hattori K, Takasuga S, Hazeki O, Yamasaki K, Tanaka T. 2002. Ellagitanins from *Lagerstroemia speciosa* as activators of glucose transport in fat cells. *Planta Medica*. 68: 173-175.
- Ismarani. 2012. Potensi senyawa tannin dalam menunjang produksi ramah lingkungan. *CEFARS Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*. 3(2).
- Monisa, F. S. 2016. Jenis Tanin, Total Tanin Dan Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase Dari Ekstrak Daun Dan Kulit Batang Surian (*Toona sinensis* Merr.) [Doctoral dissertation]. Bogor Agricultural University (IPB).
- Omar R, Li LY, Yuan T, Seeram NP. 2012. Alpha-glucosidase inhibitory hydrolyzable tannins from *Eugenia jambolana* seeds. *J of Nat Prod*. 75:1505-1509.
- Pham AT. 2014. Chemical, biological and ethnopharmacological studies of two Malian medicinal plants *Terminalia macroptera* and *Biophtum umbraculum*.

[Thesis]. Oslo (ID):
University of Oslo.

Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes melitus dan antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*. 1(1): 48-52.

Rosak, C., & Mertes, G. 2012. Evaluasi kritis peran acarbose dalam pengobatan diabetes: pertimbangan pasien. *Diabetes, sindrom metabolik dan obesitas: target dan terapi*, 5 , 357.

Suarsa IW, Suarya P, Kurniawati I. 2011. Optimasi jenis pelarut dalam ekstraksi zat warna alam dari batang pisang kepok (*Musa paradisiaca* L. Cv kepok) dan batang pisang susu (*Musa paradisiaca* L. cv susu). *Jurnal Kimia*.5(1):72-80.

Tapalina, N., Tutik, T., & Saputri, G. A. R. 2022. Pengaruh Metode Ekstraksi Panas Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.). *Jurnal Ilmu Kedokteran dan Kesehatan*. 9(1).

Toda M, Kawabata J, Kasai T. 2000. Alpha-glucosidase inhibitors from clove (*Syzgium aromaticum*). *Biosci Biotechnol and Biochem*. 64:294-298.