



Nofrizal¹
 Nova Syafni²
 Lusya Eka Putri³
 Mifta Huljanah⁴

SKRINING PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -AMILASE SECARA IN-VITRO DARI REMPAH-REMPAH PADA MAKANAN TRADISIONAL SUKU MINANGKABAU, SUMATERA BARAT

Abstrak

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik degeneratif yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol. Kondisi ini disebabkan oleh resistensi insulin dan kurangnya produksi insulin pada sel beta pancreas. Tujuan dari kajian ini adalah untuk menilai penghambatan aktivitas enzim α -amilase dari rempah-rempah yang digunakan dalam makanan tradisional suku Minangkabau, Sumatera Barat. Metode penelitian ini yaitu 20 Jenis rempah-rempah dimaserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam DMSO 10% dalam dapar fosfat pH 6,9. Masing-masing larutan diuji daya penghambatannya terhadap aktivitas enzim α -amilase dengan menggunakan pati sebagai substrat. Absorbansi dibaca pada λ 540 nm menggunakan microplate reader. Hasil dianalisa menggunakan metoda Probit analysis untuk menentukan nilai IC_{50} dengan standar pembanding akarbosa. Hasil bahwa Ekstrak buah lada hitam menunjukkan penghambatan aktivitas tertinggi dengan IC_{50} sebesar 10,35 ppm (1,2 kali lebih kuat dari akarbosa). Tiga sampel lainnya, ekstrak kulit batang kayu manis, buah cabai, dan buah ketumbar menunjukkan aktivitas sedang dengan IC_{50} secara berturut-turut 40,17; 84,96 dan 97,42 ppm. Kesimpulan menunjukkan bahwa beberapa rempah-rempah yang digunakan dalam makanan tradisional Minangkabau berpotensi sebagai agen penghambat aktivitas enzim α -amilase

Kata Kunci: Rempah-rempah, α -amilase, Minangkabau

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a degenerative metabolic disease characterized by uncontrolled hyperglycemia. This condition is caused by insulin resistance and lack of insulin production in pancreatic beta cells. The aim of this research was to examine the inhibition of α -amylase enzyme activity from spices used in traditional food from the Minangkabau tribe, West Sumatra. This research method is that 20 types of spices are macerated using 70% ethanol solvent. Each extract was dissolved in 10% DMSO in phosphate buffer pH 6.9. Each solution was tested for its inhibitory power on the activity of the α -amylase enzyme using starch as a substrate. Absorbance was read at λ 540 nm using a microplate reader. The results were analyzed using the Probit analysis method to determine the IC_{50} value with acarbose as a comparison standard. The results showed that black pepper fruit extract showed the highest inhibitory activity with an IC_{50} of 10.35 ppm (1.2 times stronger than acarbose). Three other samples, namely cinnamon bark extract, chili fruit and coriander fruit, showed moderate activity with an IC_{50} of 40.17 respectively; 84.96 and 97.42 ppm. The conclusion shows that several spices used in traditional Minangkabau food have the potential to inhibit the activity of the α -amylase enzyme.

Keywords: Spices, A-Amylase, Minangkabau

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik degeneratif yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol. Kondisi ini disebabkan oleh resistensi insulin dan kurangnya produksi insulin pada sel beta pankreas. Kondisi ini dapat dikendalikan dengan

^{1,3,4} Universitas Dharma Andalas

² Universitas Andalas

email: nofrizal@unidha.ac.id

pengelolaan kadar gula darah yang ketat seperti mengonsumsi makanan rendah gula, berolahraga, dan menggunakan obat antidiabetes. Setidaknya ada 2 tipe DM, DM tipe-1 dan DM tipe-2. Pada DM tipe-2, keseimbangan metabolisme karbohidrat dan lipid seluler dipengaruhi oleh gangguan metabolisme glukosa. Gangguan regulasi ini menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah postprandial. Salah satu strategi efektif untuk pengelolaan DM tipe 2 adalah penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase enzim α -amilase. Penghambatan enzim α -amilase dapat secara signifikan mengurangi peningkatan glukosa darah postprandial dan oleh karena itu menjadi strategi penting dalam pengelolaan kadar glukosa darah postprandial pada pasien diabetes tipe-2.[3] Indonesia menduduki peringkat ke 7 dari 10 negara dengan jumlah penderita DM terbanyak. Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2018 menunjukkan prevalensi DM di Indonesia sebesar 2%. Di Sumatera Barat sendiri, prevalensi penderita diabetes sebesar 1,6%, lebih rendah dibandingkan rata-rata nasional.

Suku Minangkabau merupakan suku mayoritas yang tinggal di provinsi Sumatera Barat, Indonesia. Kelompok etnis ini mengonsumsi nasi sebagai makanan utama mereka. Sumatera Barat merupakan salah satu daerah dengan konsumsi beras tertinggi di Indonesia (83,01 kg/kapita/tahun), lebih tinggi dibandingkan rata-rata nasional (78,42 kg/kapita/tahun). Nasi mengandung setidaknya 28 gram karbohidrat per 100 gram. Kandungan karbohidrat yang tinggi ini tentunya akan menimbulkan risiko terjadinya hiperglikemia pada pasien DM. Di sisi lainnya, makanan etnis Minangkabau juga tidak terlepas dari banyaknya penggunaan bumbu dan rempah, baik dari segi jenis maupun proporsi penggunaannya. Rempah-rempah telah digunakan selama berabad-abad baik untuk tujuan kuliner maupun pengobatan. Tidak hanya meningkatkan rasa, aroma, dan warna makanan, tetapi juga dapat melindungi dari penyakit akut dan kronis. Penelitian selama satu dekade terakhir telah melaporkan berbagai bioaktivitas yang dimiliki rempah-rempah ini karena kandungan senyawa bioaktifnya, antara lain tanin, alkaloid, fenolik, diterpen, dan vitamin, terutama flavonoid dan polifenol. Rendahnya prevalensi DM di Sumatera Barat jika dibandingkan dengan pola konsumsi berasnya diduga karena adanya hubungan antara penggunaan rempah-rempah pada makanan tradisional suku Minangkabau dengan penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim α -amilase pada saluran pencernaan sehingga dapat mencegah kondisi hiperglikemia postprandial.

Hasi penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa rempah-rempah yang digunakan dalam makanan tradisional Minangkabau berpotensi menghambat aktivitas enzim α -amilase. Lebih lanjut, penelitian ini dapat mendukung penggunaan rempah-rempah ini dalam pengobatan tradisional untuk manajemen kadar glukosa post-prandial pada penderita DM.

METODE

Bahan:

Enzim α -amylase from *Bacillus licheniformis* dan *Akarbosa* diperoleh dari Sigma Aldrich. Pati, etanol, dimetil sulfoksida (DMSO), NaCl, NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 dan asam dinitrosalisilat (DNSA) diperoleh dari Merck Milipore.

Sampel Uji:

20 jenis rempah-rempah: batang sereh (*Cymbopogon citratus*), biji pala (*Aleurites moluccanus*), buah asam jawa (*Tamarindus indica*), buah asam kandis (*Garcinia xanthochymus*), buah cabai (*Capsicum annum*), buah kapulaga (*Amomum cardamomum*), buah ketumbar (*Coriandrum sativum*), buah lada hitam (*Piper nigrum*), buah pala (*Myristica fragrans*), bulbus bawang merah (*Allium cepa*), bulbus bawang putih (*Allium sativum*), cengkeh (*Syzygium aromaticum*), daun jeruk (*Citrus hystrix*), daun kunyit (*Curcuma domestica*), daun salam (*Syzygium polyathum*), kulit manis (*Cinnamomum burmanii*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), rimpang kencur (*Kaempferia galanga*), rimpang kunyit (*Curcuma domestica*), dan rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) diperoleh dari pasar tradisional di Padang, Sumatera Barat, Indonesia

Ekstraksi Sampel:

Masing-masing sampel diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol selama 72 jam. Masing-masing maserat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator (Buchi R-100) hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Penghambatan aktivitas Enzim α -Amilase:

Uji penghambatan aktivitas enzim α -amilase dilakukan menggunakan metode kolorimetri menggunakan DNSA sebagai reagen dengan sedikit modifikasi. Masing-masing ekstrak dilarutkan dalam DMSO 10% dalam buffer ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (0,02 M), NaCl (0,006 M) pada pH 6,9) dan kemudian diencerkan bertingkat dengan konsentrasi antara 1000 – 15,6 ppm. 100 μl larutan enzim α -amilase (10 U/ml) dicampur dengan 100 μl larutan uji dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 30°C. Setelah itu 100 μl larutan pati (1% dalam air (b/v)) ditambahkan ke setiap tabung dan diinkubasi selama 3 menit. Reaksi diakhiri dengan penambahan 100 μl reagen DNSA (12 g natrium kalium tartrat tetrahidrat dalam 8,0 mL NaOH 2 M dan 20 mL larutan asam 3,5-dinitrosalisilat 96 mM) dan dipanaskan selama 10 menit dalam penangas air pada suhu 85–90°C. Campuran didinginkan sampai suhu kamar dan diencerkan dengan 1 ml air suling, dan absorbansi diukur pada 540 nm menggunakan microplate reader (FlexA-200). Blanko dengan aktivitas enzim 100% dibuat dengan mengganti larutan sampel uji dengan 100 μl buffer. Blanko sampel juga dibuat dengan menggunakan larutan sampel uji pada setiap konsentrasi tanpa adanya penambahan enzim. Sampel kontrol positif dibuat menggunakan Akarbosa (1000 – 15,6 ppm) dan dilakukan proses yang sama seperti larutan sampel uji. Penghambatan aktivitas α -amilase dinyatakan sebagai persen inhibisi dan dihitung menggunakan persamaan di bawah ini:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Ac}+) - (\text{Ac}-) - (\text{As} - \text{Ab})}{(\text{Ac}+) - (\text{Ac}-)} \times 100$$

dimana, Ac+ = abs blanko + enzim

Ac- = abs blanko tanpa enzim

As = abs larutan sampel uji + enzim

Ab = abs blanko larutan sampel uji tanpa enzim

Hasil pengujian disajikan dalam data IC50 dan potensiasinya dibandingkan dengan akarbosa. Penentuan nilai IC50 menggunakan metode analisis probit dengan log konsentrasi sebagai sumbu (x) dan nilai Probit sebagai sumbu (y).

HASIL DAN PEMBAHASAN

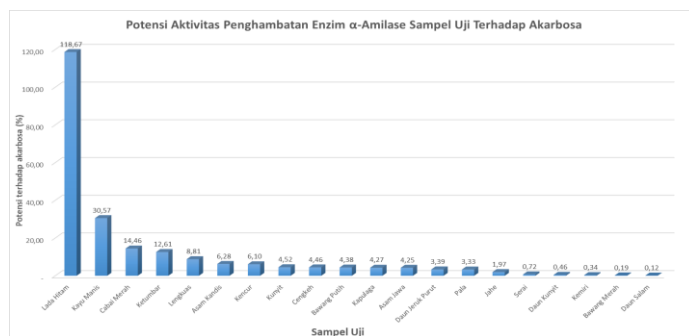
Hasil

Hasil penghambatan aktivitas α -amilase dan akarbosa dapat dilihat pada tabel 1. Penghambatan aktivitas terbesar ditunjukkan oleh ekstrak buah lada hitam (*P. nigrum*) dengan IC50 sebesar 10,35 ppm dibandingkan akarbosa (IC50=12,28 ppm). Potensiasi ekstrak buah lada hitam 1,18 kali lebih kuat dibandingkan akarbosa. Data potensiasi ekstrak lainnya dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Nilai IC50 sampel uji terhadap penghambatan aktivitas enzim α -amilase

Sampel Uji	IC ₅₀ (ppm)
Akarbosa (Reference)	12.28
Buah Lada Hitam (<i>Piper nigrum</i>)	10.35
Kulit Manis (<i>Cinnamomum burmanii</i>)	40.17
Buah Cabai (<i>Capsicum annum</i>)	84.96
Buah Ketumbar (<i>Coriandrum sativum</i>)	97.42
Rimpang Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>)	139.40
Buah Asam Kandis (<i>Garcinia xanthochymus</i>)	195.55
Rimpang Kencur (<i>Kaempferia galanga</i>)	201.22
Rimpang Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>)	271.48
Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)	275.48
Bulbus Bawang Putih (<i>Allium sativum</i>)	280.27
Buah Kapulaga (<i>Amomum cardamomum</i>)	287.83
Buah Asam Jawa (<i>Tamarindus indica</i>)	288.98
Daun Jeruk (<i>Citrus hystrix</i>)	362.29
Buah Pala (<i>Myristica fragrans</i>)	368.43

Rimpang Jahe (<i>Zingiber officinale</i>)	623.55
Batang Sereh (<i>Cymbopogon citratus</i>)	1715.49
Daun Kunyit (<i>Curcuma domestica</i>)	2689.36
Biji Pala (<i>Aleurites moluccanus</i>)	3607.26
Bulbus Bawang Merah (<i>Allium cepa</i>)	6299.69
Daun Salam (<i>Syzygium polyathum</i>)	10250.49



Gambar 1. Potensi penghambatan aktivitas enzim α-amilase sampel uji terhadap pembanding akarbosa

Pembahasan

Penghambatan aktivitas enzim α-amilase bermanfaat dalam mengatasi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus dengan cara mengurangi proses penguraian karbohidrat kompleks dari makanan dan mengurangi penyerapan glukosa di usus sehingga dapat menurunkan peningkatan glukosa darah post-prandial. Dalam penelitian ini dilakukan penentuan efek penghambatan in vitro dari berbagai ekstrak rempah-rempah yang digunakan dalam masakan tradisional suku Minangkabau terhadap aktivitas α-amilase.

Dari hasil pengujian yang diperoleh terlihat bahwa ekstrak buah lada hitam (*P. nigrum*) menunjukkan penghambatan aktivitas yang kuat, bahkan melebihi penghambatan aktivitas akarbosa sebagai senyawa pembanding (IC50 10,35 ppm atau 1,18 kali lebih kuat dari akarbosa). Penelitian yang dilaporkan oleh Kaleem dkk menunjukkan bahwa ekstrak air buah lada hitam mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan. Piperin yang merupakan senyawa mayor yang terkandung pada lada hitam juga menunjukkan kemampuan menurunkan kadar glukosa darah pada hewan uji mencit. Lada hitam diketahui banyak digunakan pada berbagai makanan di Sumatera Barat diantaranya rendang, gulai dan sate.

Sampel uji lain yang menunjukkan aktivitas cukup besar adalah ekstrak kulit manis, buah cabai dan buah ketumbar dengan nilai IC50 masing-masing 40,17; 84,96; dan 97,42 ppm. Kulit manis (*C. burmanii*) mengandung senyawa-senyawa diantaranya adalah sinamaldehyd dan proantosiadin yang diketahui telah diuji secara klinis mampu menurunkan kadar glukosa darah. Kulit manis sendiri banyak digunakan sebagai rempah pada masakan seperti rendang, sup dll. Cabai (*C. Annum*) merupakan salah satu rempah-rempah yang digunakan hamper pada semua jenis masakan Minangkabau. Studi menunjukkan bahwa cabai dapat menurunkan kadar glukosa darah pada percobaan in vivo pada hewan percobaan. Sedangkan ketumbar (*C. sativum*) berdasarkan penelitian Nazira dkk, menunjukkan adanya efek terhadap penurunan kadar glukosa darah pada percobaan in vivo pada tikus. ketumbar sendiri juga merupakan rempah yang umum digunakan pada masakan berjenis gulai di Minangkabau. Sebelas sampel lainnya menunjukkan penghambatan aktivitas sedang jika dibandingkan dengan akarbosa (IC50 100 hingga 1000 ppm). Empat sampel menunjukkan penghambatan aktivitas yang kecil (IC50 ≥1000 ppm) sedangkan sampel ekstrak daun salam tidak menunjukkan penghambatan aktivitas terhadap enzim α-amilase yang berarti (IC50 ≥10000 ppm).

Inhibitor α-amilase yang berasal dari sumber nabati menawarkan pendekatan terapi prospektif untuk manajemen diabetes. Dalam penelitian ini, buah lada hitam menunjukkan efek penghambatan α-amilase yang lebih besar jika dibandingkan dengan akarbosa. Beberapa rempah lain juga menunjukkan aktivitas penghambatan yang baik sehingga dapat disimpulkan

bahwa penggunaan rempah-rempah pada makanan khas suku Minangkabau memiliki efek terhadap penyerapan glukosa di usus dan mungkin berdampak pada kadar glukosa darah. Hal ini juga menunjukkan bahwa rempah-rempah ini mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai alternatif pengobatan diabetes melitus ataupun sebagai rekomendasi tambahan rempah pada makanan pasien DM.

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan beberapa rempah-rempah yang digunakan dalam makanan tradisional suku Minangkabau berpotensi menghambat aktivitas enzim α -amilase. Lebih lanjut, hasil penelitian ini dapat mendukung penggunaannya dalam etnomedis untuk pengelolaan diabetes post-prandial.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada DRTPM (Kemendikbudristek) atas Hibah Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun anggaran 2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang H-B, Kim S-H, Kwon Y-I, Choung D-H, Choi W-K, Kang T-W, et al. Novel alpha glucosidase inhibitors CKD 711 and CKD 711a produced by *Streptomyces* sp. CK 4416: III. Physico-chemicals properties and structure elucidation. *J Antibiot (Tokyo)* 2002;55:457-61.
- Krentz AJ, Bailey CJ. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs* 2005;65:385-411.
- Ali H, Houghton PJ, Soumyanath A. α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *J Ethnopharmacol* 2006;107:449-55.
- Kementerian Kesehatan RI. Infodatin: Tetap produktif, cegah, dan atasi diabetes melitus. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI; 2020.
- BPS. Indonesia dalam angka. Jakarta: BPS Indonesia; 2020.
- Food Data Central [Internet]. Unites States. U.S. department of agriculture. Rice, white, long-grain, regular, unenriched, cooked without salt. [cited 2023 Apr 13].
- Jiang TA. Health benefits of culinary herbs and spices. *J AOAC Int* 2019;102:395-411.
- Wickramaratne MN, Punchihewa JC, Wickramaratne DB. In-vitro alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of *Adenantha pavonina*. *BMC Complement Altern Med* 2016;16:466-70.
- Sebaugh JL. Guidelines for accurate EC50/IC50 estimation. *Pharm Stat.* 2011;10:128-34.
- Shinde J, Taldone T, Barletta M, Kunaparaju N, Hu B, Kumar S, et al. Alpha-glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydr Res* 2008;343:1278-81.
- Kaleem M, Sheema, Sarmad H, Bano B. Protective effects of *Piper nigrum* and *Vinca rosea* in alloxan induced diabetic rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2005;49:65-71.
- Bandigari P, Mohammed A, Arikilla S, Chanduri B, Yemba S and Chinnala KM. Evaluation of anti diabetic activity of seeds of black pepper in streptozotocin induced diabetic rats. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences* 2018;5(5):1082-1087.
- Wandira S. Leksikon rempah-rempah dalam masakan Minangkabau. Skripsi. Universitas Andalas. 2019.
- Costello RB, Dwyer JT, Saldanha L, Bailey RL, Merkel J, and Wambogo E. Do cinnamon supplements have a role in glycemic control in type 2 diabetes? A narrative review. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics.* 2016;116(11):1794–1802.
- Islam MS and Choi H. Dietary red chilli (*Capsicum frutescens* L.) is insulinotropic rather than hypoglycemic in type 2 diabetes model of rats. *Phytotherapy Research* 2008;22(8):1025–1029.
- Kwon DY, Hong SM, Ahn IS, Kim YS, Shin DW, and Park S. Kochujang, a Korean fermented red pepper plus soybean paste, improves glucose homeostasis in 90% pancreatectomized diabetic rats. *Nutrition* 2009;25(7-8):790–799.

- Rau O, Wurglics M, Dingermann T, Abdel-Tawab M, and Schubert-Zsilavecz M. Screening of herbal extracts for activation of the human peroxisome proliferator-activated receptor. *Pharmazie* 2006;61:952-956.
- Nazira S, Thadeus MS, dan Hardini N. Uji efektivitas ekstrak biji ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap gambaran histopatologi ginjal tikus hiperkolesterolemia diabetes. *Jurnal Muara Sains, Teknologi, Kedokteran, dan Ilmu Kesehatan* 2020;4(1):357-368.
- McCue P, Vattem D, Shetty K. Inhibitory effect of clonal oregano extracts against porcine pancreatic amylase in vitro. *Asia Pac J Clin Nutr* 2004;13:401-8.