

**AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE
EKSTRAK DAN FRAKSI BAWANG HITAM
(*Allium sativum* L.)**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Alfi Nurfauziah Rahayu

13171002



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA
BANDUNG
2019**

**UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN
ENZIM α -GLUKOSIDASE EKSTRAK DAN FRAKSI
BAWANG HITAM (*Allium sativum* L.)**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

Alfi Nurfauziah Rahayu

13171002

Bandung, Juni 2019

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(R. Herni Kusriani, M.Si., Apt)



(Vina Juliana, M.Si)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung

Segala syukur ku ucapkan kepadaMu ya Allah karena telah menghadirkan mereka yang selalu memberi semangat dan doa.

Karya kecil ini ku persembahkan untuk :

Kedua orang tuaku. Tiada kata yang bisa menggantikan segala sayang, usaha, semangat, dan juga doa yang telah dicurahkan untuk penyelesaian skripsi ini.

Teman seperjuanganku Ekstensi 2017 . Terimakasih selama 2 tahun ini telah berjuang bersama, memberikan banyak inspirasi. See you on top!

Sahabat-sahabatku, orang-orang terdekat yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

“I still remember the days I prayed for the things I have now”

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α -GLUKOSIDASE EKSTRAK DAN FRAKSI BAWANG HITAM (*Allium sativum* L.)

Oleh ;
Alfi Nurfauziah Rahayu
13171002

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit yang terus berkembang di Indonesia. Kasus diabetes tipe 2 menjadi penyumbang terbanyak yaitu 90% dari keseluruhan kasus. Salah satu pendekatan pengobatan DM tipe 2 adalah dengan penghambatan enzim α -glukosidase. Bawang putih merupakan salah satu rempah-rempah yang sering digunakan untuk pengobatan secara tradisional salah satunya terapi Diabetes Melitus tipe 2. Bawang putih yang mengalami perubahan dengan dihitamkan diketahui memiliki bioaktivitas yang lebih meningkat dibandingkan dengan bawang putih segar. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antidiabetes dari ekstrak dan fraksi bawang hitam secara *in vitro* melalui penghambatan α -glukosidase. Ekstraksi dilakukan secara maserasi, fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair (ECC), uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *microplate reader*. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak dan fraksi bawang hitam, dengan konsentrasi α -glukosidase 0,4 u/L dan konsentrasi pNPG 15 mM menghasilkan nilai IC₅₀ untuk ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi methanol-air berturut-turut sebesar 97,192 μ g/mL; 383,175 μ g/mL; 95,838 μ g/mL; 178,564 μ g/mL. Sebagai pembanding, akarbosa menghasilkan 19,086 μ g/mL. Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dapat dikatakan memiliki potensi Sebagai antidiabetes karena nilai IC₅₀ yang ditunjukkan <100 μ g/mL namun nilai IC₅₀ nya tidak lebih baik dari pembanding.

Kata kunci : diabetes mellitus, enzim α -glukosidase, bawang hitam, *Allium saivum* L.

ABSTRACT

INHIBITORY ACTIVITY OF α -GLUCOSIDASE OF EXTRACTS AND FRACTIONS OF BLACK GARLIC (*Allium sativum* L.)

**By ;
Alfi Nurfauziah Rahayu
13171002**

Diabetes mellitus is one of diseases which continues to grow in Indonesia. The cases of diabetes mellitus type 2 become the biggest contributor, 90% from all cases. An approach to the treatment of Diabetes Mellitus type 2 is by inhibiting the α -glucosidase enzyme. Garlic is one part of the plant which often being used traditionally for diabetes mellitus type 2. Garlic that changes into black is known to have better antidiabetic activity. This research was conducted to discover the antidiabetic activity of extracts and fractions of black garlic in vitro through inhibition of α -glucosidase. The black garlic was extracted using maceration method using ethanol 70%, fractionation by liquid-liquid extraction (ECC), and activity using in vitro α -glucosidase inhibition using microplate reader in wavelength of 405nm. The result of α -glucosidase inhibitory activity of black garlic extract and fraction with enzyme concentration of 0,4 u/L and pNPG concentration of 15mM results the IC₅₀ values of ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, methanol-water fraction in a row are 97,192 μ g/mL, 383,175 μ g/mL, 95,838 μ g/mL, 178,564 μ g/mL. Acarbose was used as comparative sample which has IC₅₀ value of 19,086 μ g/mL. Ethanolic extract and fraction of ethyl asetat can be mentioned potent antidiabetic with IC50 of <100 μ g/mL, yet the IC₅₀ values are not higher than the acarbose.

Keywords : diabetes mellitus, α -glucosidase, black garlic, *Allium sativum* L.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase Ekstrak dan Fraksi *Black Garlic* (*Allium sativum* L.)” pada waktu yang telah ditentukan.

Laporan Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi persyaratan kelulusan Program Strata 1 pada jurusan Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Penyusunan laporan tugas akhir ini tidak terlepas dari dukungan berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Ibu R.Herni Kusriani, M.Si., Apt dan Ibu Vina Juliana, M.Si., selaku pembimbing yang telah senantiasa membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi.
2. Kedua orang tua yang tak henti-hentinya memberikan dukungan, baik moril maupun materil.
3. Pihak-pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang selalu memberikan dukungan dan doa.

Penulis menyadari akan keterbatasan kemampuan dan pengetahuan penulis dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka untuk menerima saran dan kritik yang bersifat membangun demi perbaikan dan kesempurnaan skripsi ini.

Bandung, Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	ix
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	3
I.3. Tujuan Penelitian	4
I.4. Manfaat Penelitian	4
I.5. Waktu dan Tempat Penelitian	4
Bab II Tinjauan Pustaka	5
II.1. Tinjauan Botani.....	5
II.2. Bawang Hitam	7
II.2.1 Kandungan Kimia Bawang Hitam	8
II.2.2 Manfaat Bawang Hitam	9
II.3. Ekstrak dan Metode Ekstraksi	9
II.4. Diabetes Melitus	11
II.5. Enzim α -Glukosidase	12
II.6. Inhibitor α -Glukosidase	12
II.7. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase.....	13
Bab III Metodologi Penelitian	15
Bab IV Alat dan Bahan.....	17
IV.1. Alat	17
IV.2. Bahan	17
Bab V Prosedur Penelitian.....	18
V.1. Penyiapan Bahan.....	18
V.2. Karakterisasi Ekstrak	19
V.3. Penapisan Fitokimia.....	20
V.4. Ekstraksi.....	23
V.5. Fraksinasi	23

V.6. Pemantauan Ekstrak dan Fraksi	23
V.7. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase	23
Bab VI Hasil dan Pembahasan	27
VI.1 Penyiapan Simplisia	27
VI.2 Pembuatan BAwang Hitam	28
VI.3 Ekstraksi dan Fraksinasi	28
VI.4 Karakterisasi Ekstrak	30
VI.5 Penapisan Fitokimia	32
VI.6 Pemantauan EKstrak dan Fraksi	34
VI.7 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase	36
Bab VII Penutup	40
VII.1 Kesimpulan	40
VII.2 Saran	40
DATAR PUSTAKA	41

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Bagan Alir Kerja	44
Lampiran B. Hasil Determinasi	45
Lampiran C. Perhitungan Pembuatan Larutan Uji.....	46
Lampiran D. Perhitungan Hasil Optimasi Enzim, % Inhibisi dan IC ₅₀ Ekstrak, Fraksi, dan Perbandingan	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Bawang Putih	4
Gambar II.2 <i>Black Garlic</i>	7
Gambar II.3 Reaksi hidrolisis <i>p</i> -nitrofenol- α -D-glukopiranosida oleh enzim α -glukosidase.....	14
Gambar VI.1 Bawang Putih Segar	27
Gambar VI.2 Bawang hitam secara organoleptic	31
Gambar VI.3 Kromatogram Ekstrak dan Fraksi dengan Pengembang polar	34
Gambar VI.4 Kromatogram Ekstrak dan Fraksi dengan Pengembang Semi Polar.....	34
Gambar VI.5 Kromatogram Ekstrak dan Fraksi Dengan Pengembang Non Polar	35
Gambar VI.6 Perbandingan Nilai IC ₅₀ Ekstrak, Fraksi, dan Pembanding	38

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Tabel perbandingan kandungan fitokimia bawang putih dengan bawang hitam	8
Tabel V.1 Volume pengujian Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase.....	25
Tabel VI.1 Persen Rendemen Ekstrak dna Fraksi	30
Tabel VI.2 Hasil Karakterisasi Ekstrak Etanol Bawang Htam .	31
Tabel VI.3 Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Bawang Hitam	32
Tabel VI.4 Hasil Optimasi Konsentrasi Enzim Alfa glukosiase	36

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN/LAMBANG	NAMA
α	Alfa
μ	Mikro
AlCl_3	Aluminium Klorida
B/B	Bobot Per Bobot
DM	Diabetes Melitus
ECC	Ekstraksi Cair-Cair
FeCl_3	Besi (III) Klorida
HCl	Asam Hidroklorida
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
LB	Liebermann-Burchard
NaOH	Natrium Hidroksida
pNPG	p-Nitrophenil- α -D-Glukopiranosida
U	Unit

BAB I Pendahuluan

I.1. Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan penyakit yang menjadi masalah tidak hanya di Indonesia tetapi didunia yang ditandai dengan prevalensinya yang terus meningkat setiap tahunnya. Menurut data Riskesdas 2013, prevalensi diabetes mellitus berdasarkan wawancara tahun 2013 adalah 2,1 % (Indonesia), lebih tinggi dibanding tahun 2007 (1,1%) (Riskesdas, 2013), Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) menyebutkan bahwa jumlah penderita DM di dunia pada tahun 2017 telah mencapai 425 juta dan diperkirakan akan mengalami peningkatan 48% menjadi 629 juta pada tahun 2045. Sedangkan di Indonesia penderita DM mencapai 10,3 juta orang. Jika tidak ada tindakan yang dilakukan, jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 16,7 juta pada tahun 2045. Kasus diabetes tipe 2 menjadi penyumbang terbanyak yaitu 90% dari keseluruhan kasus.

Salah satu pendekatan pengobatan DM tipe 2 adalah dengan penghambatan enzim α -glukosidase. Beberapa inhibitor yang digunakan secara klinis seperti akarbosa dan miglitol. Akarbosa adalah obat antidiabeteik yang bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim α -glukosidase (Dipiro, dkk., 2015). Penggunaan obat hiperglikemik oral khususnya inhibitor α -glukosidase memiliki efek samping utama seperti kembung, mual, diare dan flatulensi. Sehingga alternatif pendekatan terapi dari bahan alam dapat

digunakan untuk mengobati hiperglikemia *postprandial* karena memiliki efek samping yang rendah (Sudha, dkk., 2011).

Bawang putih merupakan salah satu tanaman yang sering dimanfaatkan sebagai rempah-rempah dimasyarakat khususnya Indonesia. Namun tidak hanya digunakan sebagai bumbu masak, bawang putih banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk beberapa penyakit di masyarakat. Bawang putih memiliki khasiat salah satunya sebagai antidiabetes. Menurut Lisisnawati (2017) bawang putih mengandung Alisin yang dapat digunakan sebagai alternatif terapi Diabetes Melitus tipe 2.

Rasa dan bau yang kuat dari bawang putih menyebabkan orang-orang sulit menerimanya. Sehingga bawang putih dapat diolah dengan cara dipanaskan dengan suhu dan metode tertentu menjadi bawang hitam atau lebih dikenal dengan *Bawang hitam* yang memiliki tekstur kenyal serta tidak berbau. Menurut Kimura dkk (2016) perubahan sifat fisikokimia adalah alasan utama peningkatan bioaktivitas black garlic dibandingkan dengan bawang putih segar. Selain konsumsi sehari-hari, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa ekstrak *black garlic* menunjukkan beberapa khasiat, seperti antioksidan, anti alergi, antidiabetes, anti-inflamasi, dan efek antikarsinogenik.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurafiani (2017) pemberian ekstrak bawang hitam tunggal menyebabkan kematian sel yang ditandai dengan morfologi sel T47D yang berubah menjadi bulat, berukuran lebih kecil dan tidak beraturan jika dibandingkan dengan

kontrol sel. Nilai IC50 yang didapatkan pada ekstrak etanolik dan fraksi n-Heksan *bawang hitam* adalah $8,67 \times 10^3$ $\mu\text{g/mL}$ dan $26,02 \times 10^3$ $\mu\text{g/mL}$, selain itu *Bawang hitam* memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan *bawang putih*. *S-allyl-cistein* (SAC) adalah salah satu senyawa asam amino mengandung sulfur utama yang dianggap bertanggung jawab atas manfaat efek *bawang putih*, meliputi antioksidan, antikanker dan neurotropik (Kodera dkk., 2002). Jumlah SAC dalam *bawang hitam* lima sampai enam kali lebih tinggi dari pada *bawang putih* dengan perlakuan suhu 70°C dan RH 70% (Bae dkk., 2014).

Penelitian Kim dkk.,(2016) menunjukkan bahwa *S-allyl cysteine* pada jus *bawang hitam* dapat berpotensi sebagai antidiabetes yang diuji pada tikus. Menurut Kimura dkk., (2016) Peningkatan aktivitas antioksidan akan efektif terhadap pencegahan diabetes dan komplikasinya. Penelitian mengenai penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak dan fraksi *bawang hitam* tunggal belum dilakukan sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas ekstrak etanol dan fraksi *bawang hitam* terhadap penghambatan enzim α -glukosidase secara *in vitro*.

I.2. Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak dan fraksi *bawang hitam* (*Allium sativum* L.) dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase?
2. Berapakah nilai *Inhibitor Concentration* 50 (IC50) ekstrak dan fraksi *bawang hitam* (*Allium sativum* L.) terhadap enzim α -glukosidase?

I.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas ekstrak dan fraksi bawang hitam (*Allium sativum* L.) dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase
2. Untuk menentukan nilai *Inhibitor Concentration 50* (IC50) ekstrak dan fraksi bawang hitam (*Allium sativum* L.) terhadap enzim α -glukosidase.

I.4. Manfaat Penelitian

Melalui penelitian ini bermanfaat untuk mengetahui aktivitas atau potensi bawang hitam (*Allium sativum* L.) sebagai antidiabetes secara *in vitro* melalui penghambatan enzim α -glukosidase.

I.5. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan Februari hingga Juni 2019 bertempat di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1. Tinjauan Botani

Tinjauan botani bawang hitam (*Allium sativum* L.) meliputi klasifikasi, nama daerah, morfologi, serta habitat.

II.1.1. Klasifikasi Tumbuhan

Kingdom	:Plantae
Sub-Kingdom	:Tracheobionta
Super divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Sub kelas	: Liliidae
Ordo	: Liliales
Familii	: Liliaceae
Genus	: Allium L.
Spesies	: <i>Allium sativum</i> L. (Butt, dkk., 2009)

II.1.2. Nama daerah

Bawang putih mempunyai beberapa nama daerah seperti : Lasun (Gayo), Lasuna (Karo dan Toba), Dasun Putih (Minang), Bawang Handak (Lampung) Bawang (Jawa), Bawang Bodas (Sunda), Bhabang Pote (Madura), Kasuna (Bali), Langsuna (Sasak), Ncuna (Bima), Lansuna Mawira (Sangi), Laisona Mabotiek (P.Roti), Kalfeofolen (Timor), Bawang Basuhong (Ngaju), Uduh Bawang (Kenya), Bawang Putih (Bulungan), Bawang Pulak (Tarakan), Lasuna Mawura, Lasuna Moputih (Minahasa), Lasuna Kulo, Lasuna Bido, Rasuna Mabida, Jantuna Mopusi, Dasuna Puti, Lansuna Puti,

Pia Moputi (Gorontalo), Lasuna Kebo (Makasar), Lasuna Pute (Bugis), Kosai Boti (Buru), Bawa de Are (Halmahera), Bawa Bodudo (Ternate), Bawa Iso (Tidar), Bawa Fiufer (Irian Jaya) (Wibowo, 2005).

II.1.3. Morfologi tumbuhan



Gambar II.1 Bawang Putih (CCRC, 2014)

Tanaman bawang putih merupakan terana yang tumbuh tegak dengan tinggi dapat mencapai 30-60 cm dan membentuk rumpun. Termasuk kelompok Monokotiledon, akarnya serabut yang tidak panjang, tidak terlalu dalam berada di dalam tanah.

Daun bawang putih berbentuk pipih kecil rata, tidak berlubang dan agak melipat ke dalam ke arah membujur. Pelepah daunnya panjang sampai ke dalam tanah. Batang pokoknya bersifat rudimeter dan berada dibagian pangkal umbi yang terletak di dalam tanah. Bentuknya seperti cakram. Tiap umbi terdiri dari siung-siung kecil. Siung ini terdiri dari dua bagian, yaitu dua helai daun dewasa dan sebuah tunas vegetatif. Salah satu dari dua helai daun tersebut, yaitu

daun dewasa yang terletak diluar, berfungsi sebagai daun pelindung. Sehelai daun lagi yang lebih muda berada di dalam daun pelindung, kemudian menebal sebagai persediaan makanan. Daun yang menebal inilah yang disebut siung (Wibowo, 2005). Umbi lapis bawang putih (*allium sativum*, liliaceae) terdiri atas sejumlah umbi lapis kecil atau siung, dilapisi dengan braktea putih-krem yang menyerupai kertas (Heinrich, dkk., 2010).

II.2. Bawang hitam (*Black garlic*)

Bawang hitam atau yang lebih dikenal dengan Bahasa kita sebagai orang Indonesia “Bawang hitam” merupakan hasil pemanasan dari bawang putih. Seperti namanya *Bawang hitam* (Bawang hitam), warna dari *Bawang hitam* adalah hitam dengan tekstur yang lembut dan gurih serta aroma yang tidak terlalu tajam dan rasa yang sedikit manis. Walau demikian, *Bawang hitam* tetap bisa menghasilkan makanan yang lezat.



Gambar II.2 Bawang hitam (Kimura, 2016)

II.2.1. Kandungan Kimia Bawang Hitam

Bawang putih kaya senyawa organosulfur yang terbukti memiliki aktivitas biologi tinggi dan bermanfaat dalam dunia pengobatan. Senyawa organosulfur itu terbagi menjadi beberapa kelompok: Senyawa S-alk(en)il-L-sistein sulfoksida (ACSOs).

Perubahan kandungan senyawa aktif dalam bawang hitam seperti *S-allyl cysteine* (SAC), vitamin, asam fenolik dan total senyawa flavonoid telah terjadi selama proses pemanasan. Jumlah SAC, asam amino yang termasuk dalam senyawaan sulfur dalam bawang hitam lima sampai tujuh kali lebih tinggi daripada dalam bawang putih segar (Bae , dkk., 2012). Selain itu juga kandungan senyawa fenol dan total flavonoid dalam bawang hitam lebih tinggi dibandingkan yang terdapat dalam bawang putih segar (Kim , dkk., 2013). Perbandingan kandungan fitokimia bawang putih dengan bawang hitam menurut Ryu dan Kang, 2017, dapat dilihat pada **table II.1**.

Tabel II. 1

Tabel perbandingan kandungan fitokimia bawang putih dengan bawang hitam

Components	Content in ABG	Content in FRG	Change in ABG Compared to FRG	Analytical Methods	Basis for Comparison
Allicin (mg/100 g)	-	362 ± 1	↓	colorimetric method	allicin
	20	345	↓	HPLC	
Flavonoid (mg/100 g)	0.8	0.1	↑	colorimetric method	quercetin rutin rutin
	1570 ± 211 195 ± 8	322 ± 7 125 ± 13	↑ ↑		
Pyruvate (mmol/100 g)	27.8 ± 0.3	18.8 ± 0.3	↑	Colorimetric method	
	245.7 ± 2.4	48.7 ± 1.2	↑		
Thiosulfate	9.12 ± 0.05	0.65 ± 0.03	↑	colorimetric	

(mmol/100 g)	0.3	10.5 ± 0.4	↓	method	OD value
	0.8	0.1	↑		caffeic acid
	1.6 ± 0.1	0.6 ± 0.1	↑		garlic acid
Total phenol	4835 ± 114	1391 ± 162	↑	Colorimetric method	garlic acid
(mg/100 g)	1000 ± 100	367 ± 22	↑		garlic acid
	22.3 ± 0.8	3.7 ± 0.2	↑		garlic acid
	1023 ± 19	255 ± 12	↑		tannic acid
	8.5 ± 0.1	2	↑	HPLC-FLD	
SAC	19.4	2.4	↑	HPLC	
(mg/100 g)	9.8 ± 0.2	2.2	↑	HPLC-FLD	
	11.4 ± 0.9	2.3	↑	HPLC	

II.2.2. Manfaat Bawang Hitam

Menurut Kimura dkk (2016) perubahan sifat fisikokimia adalah alasan utama peningkatan bioaktivitas bawang hitam dibandingkan dengan bawang putih segar. Selain konsumsi sehari-hari, beberapa penelitian telah melaporkan bahwa ekstrak *black garlic* menunjukkan beberapa khasiat, seperti antioksidan, anti alergi, antidiabetes, anti-inflamasi, dan efek antikarsinogenik.

II.3. Ekstrak dan Metode Ekstraksi

II.3.1. Ekstrak

Ekstrak merupakan suatu sediaan pekat yang didapatkan dari hasil ekstraksi zat aktif simplisia nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, selanjutnya pelarut diuapkan sehingga tersisa massa atau serbuk dan harus diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2014).

II.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang larut menggunakan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat

digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain (Ditjen POM, 2000).

Pembagian metode ekstraksi menurut Ditjen POM (2000) adalah :

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu (terus-menerus). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai penyarian sempurna, umumnya dilakukan di temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pelembaban bahan, tahap pendiaman antara dan tahap perkolasi. sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) yang terus menerus sampai ekstrak yang digunakan habis tersari. Tahap pelembaban bahan dilakukan menggunakan cairan penyari sekurang-kurangnya 3 jam, hal ini penting terutama untuk serbuk yang keras dan bahan yang mudah mengembang.

b. Cara panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru, yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

4. Infundasi

Infundasi adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur terukur 90 °C selama waktu tertentu (15 menit).

5. Dekok

Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air mendidih, temperatur terukur 90 °C selama waktu tertentu (30 menit).

II.4. Diabetes Melitus

Diabetes Melitus adalah penyakit multifaktoral dan merupakan sekelompok gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Dipiro, 2015). Terdapat tiga kategori utama diabetes mellitus, yaitu diabetes mellitus tipe 1 (insulin dependent) yang ditandai dengan defisiensi insulin absolut, diabetes mellitus tipe 2 (non insulin dependent) yang ditandai dengan resistensi insulin dan defisiensi insulin relative, serta diabetes gestasional (IDF, 2017).

Pengobatan diabetes mellitus dapat dilakukan dengan tujuan untuk mengelola dan mengendalikan komplikasi mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati: mempertahankan fungsi sel β ; mencegah komplikasi akut dari kondisi hiperglikemia; meminimalkan episode hipoglikemik; dan menjaga kualitas hidup pasien. Pada DM tipe 1 membutuhkan insulin eksogen sebagai pengganti insulin endogen yang tidak dapat diproduksi akibat kerusakan sel β pancreas. Sedangkan DM tipe 2 membutuhkan obat antidiabetes oral seperti sulfonilurea, meglitinid, biguanida, tiazolidindion, penghambat α -glukosidase, gliptin, penghambat SGLT2.

II.5. Enzim α -Glukosidase

Enzim adalah protein katalisator yang meningkatkan laju reaksi kimia setidaknya 10^6 kali dibandingkan jika tidak dikatalisis dan tidak ikut bereaksi serta tidak mengalami perubahan selama berlangsungnya reaksi tersebut. Enzim bersifat spesifik untuk tipe reaksi yang dikatalisis maupun substrat, atau substrat- substrat yang berhubungan erat (Murray, dkk., 2009).

Enzim alfa-glukosidase merupakan enzim karbohidrase yang terletak pada dinding usus halus yang mengkatalisis pembebasan dari glukosidase dan dari karbohidrat. hiperglikemia post prandial. Glukosidase juga terlibat dalam beberapa proses biologi yang penting seperti pada sintesis glikoprotein dan konjugasi dari katabolisme lisosom. Enzim alfa-glukosidase merupakan sebuah kunci enzim dalam pencernaan karbohidrat di usus kecil. Penghambat alfa-glukosidase dapat menghambat pencernaan

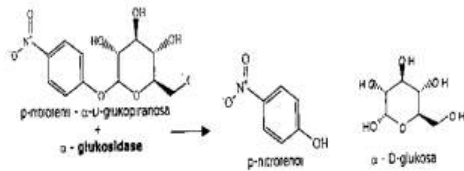
karbohidrat dengan mereduksi glukosa postprandial (Lee, , dkk., 2007).

II.6. Inhibitor α -Glukosidase

Senyawa-senyawa inhibitor α -glukosidase bekerja dengan menghambat enzim alfa glukosidase seperti maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim α -glukosidase berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida, pada dinding usus halus. Inhibisi enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat dan absorbsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa post prandial pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor α -glukosidase jugadapat menghambat enzim α -amilase pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Obat ini efektif bagi penderita dengan diet tinggi karbohidrat namun hanya mempengaruhi kadar glukosa darah pada waktu makan dan tidak mempengaruhi kadar glukosa darah setelah itu(Depkes RI, 2005).

II.7. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pengujian α -Glukosidase ditentukan dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 405 nm dengan cara mengukur kuantitas absorbansi p-nitrophenol yang dilepaskan dari substrat pNPG sebagai akibat dari reaksi enzimatik oleh α -Glukosidase. Dengan adanya penambahan zat penghambat enzim α -Glukosidase maka akan terjadi penurunan pada absorbansi p-nitrophenol. Konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat 50% dari aktivitas α -Glukosidase dibawah kondisi pengujian didefinisikan sebagai nilai IC50 (Guo, dkk., 2010).



Gambar II.3 Reaksi hidrolisis *p*-nitrofenol- α -D-glukopiranosida oleh enzim α -glukosidase (Sugiwati dkk., 2009).

Aktivitas antidiabetes diketahui dari nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai konsentrasi inhibitor untuk menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase pada kondisi uji, sehingga nilai IC₅₀ yang semakin rendah mengindikasikan aktivitas antidiabetes ekstrak yang semakin tinggi (Kim, dkk. 2016).