



YAYASAN PERGURUAN CIKINI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
PERPUSTAKAAN PUSAT
JL. MOH. KAHFI II, SRENGSENG INDAH, JAGAKARSA - JAKARTA SELATAN 12640, JAKARTA
TELP (021) 7270090

SURAT KETERANGAN

No : 19/03.1-M/VIII/2020

Perpustakaan Pusat ISTN dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Dr. Tiah Rachmatiah, M.Si, Apt

Status Dosen : Tetap

Program Studi : Farmasi

Telah menyerahkan makalah hasil penelitian dengan judul :

Kandungan Fitokimia dan Kadar Bromelin Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu (*Ananas Comosus* (L) Merr) serta Aktivitasnya terhadap Enzim α -Glukosidase

Makalah hasil penelitian yang diserahkan tersebut tidak dipublikasikan dan hanya tersimpan/berada di Perpustakaan Pusat ISTN pada Semester Genap 2019/2020.

Demikian surat keterangan ini dibuat dengan sebenarnya, agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jakarta, 24 Agustus 2020

Kepala Perpustakaan

a.n

(Sari Paramita)



MAKALAH
HASIL PENELITIAN

Judul

**Kandungan Fitokimia dan Kadar Bromelin Ekstrak Etanol Kulit
Buah Nanas Madu (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) serta
Aktivitasnya Terhadap Enzim α -Glukosidase**

Oleh:

Dr. Tiah Rachmatiah, MSi, Apt
Rizkina Aufa



PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
2020

Kandungan Fitokimia dan Kadar Bromelin Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu (*Ananas Comosus* (L.) Merr.) serta Aktivitasnya Terhadap Enzim α -Glukosidase

Tiah Rachmatiah¹, Rizkina Aufa²

^{1,2} Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta

E mail: tiahrachmatiah@yahoo.com

ABSTRAK

Buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) merupakan salah satu varietas yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Keunggulan buah nanas pada umumnya adalah kandungan enzim bromelinnya yang diketahui memiliki berbagai aktivitas seperti antiinflamasi dan antitrombosis, di samping itu bonggol buah nanas varietas queen diketahui dapat menurunkan kadar gula darah tikus jantan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan fitokimia dan kadar bromelin dari ekstrak etanol kulit buah nanas madu serta aktivitasnya terhadap enzim α -glukosidase. Ekstrak dibuat secara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penapisan fitokimia meliputi identifikasi alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid/triterpenoid. Penentuan kadar bromelin dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. Pengujian aktivitas ekstrak terhadap enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* (Yeast) dengan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah nanas madu mengandung tanin, flavonoid dan steroid/triterpenoid dengan kadar bromelin 10,9032 %, namun tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase.

Kata kunci: Kulit buah, nanas madu, *Ananas comosus*, bromelin, enzim α -glukosidase

PENDAHULUAN

Tanaman nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) memiliki beberapa varietas salah satunya adalah nanas madu. Tanaman nanas madu merupakan salah satu tanaman buah-buahan yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat disebabkan memiliki rasa yang lebih manis dibandingkan dengan nanas biasa. Buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelin.[1] Keunggulan buah nanas adalah dari kandungan enzim bromelinnya yang secara

alami terdapat pada semua jaringan tanaman nanas dan merupakan salah satu enzim proteolitik yang terdapat di dalam tanaman.[2] Enzim bromelin dapat menguraikan protein dengan jalan memutuskan ikatan peptida dan menghasilkan molekul yang lebih kecil yaitu asam amino sehingga mudah dicerna tubuh.[3] Selain itu bromelin juga memperlihatkan beberapa aktivitas seperti antitrombosis dan antiinflamasi.[4] Peneliti sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol bonggol buah nanas varietas queen dapat menurunkan kadar gula darah tikus sebesar rata-rata sebesar 44 mg/dl yang diberikan selama dua minggu, penurunan ini disebabkan oleh kandungan bromelin dari ekstrak etanol bonggol buah.[5] Buah nanas madu banyak dijumpai di daerah Lembang, Bandung dan dijual baik sebagai buah utuh maupun buah yang sudah dikupas sehingga menyisakan limbah kulit buahnya. Selama ini kulit buah nanas banyak dibuang begitu saja sehingga dengan adanya penelitian diharapkan limbah kulit buah nanas dapat dimanfaatkan menjadi sumber dari bromelin dan sebagai antidiabetes. Komposisi senyawa fitokimia dan kandungan bromelin kulit buah nanas madu sejauh ini belum diketahui, demikian pula aktivitasnya sebagai antidiabetes.

Salah satu mekanisme obat herbal dalam mengontrol kadar gula darah adalah melalui penghambatan hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa di saluran cerna sehingga mengakibatkan jumlah glukosa yang terserap ke dalam darah menurun.[6] Mekanisme tersebut terjadi karena adanya penghambatan enzim α -glukosidase yang berfungsi menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Oleh karena itu pengujian aktivitas antidiabetes dari suatu ekstrak atau senyawa dapat dilakukan dengan metode penghambatan kerja enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae recombinant* dengan menggunakan substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida yang diukur secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Penapisan fitokimia dalam ekstrak etanol kulit buah nanas meliputi identifikasi alkaloida, flavonoida, tanin, saponin serta triterpenoid/steroid dan penetapan kadar bromelin dilakukan secara spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm menggunakan bovin serum albumin (BSA) sebagai standard.

BAHAN DAN METODE

Bahan Uji : Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah nanas madu segar (*Ananas comosus* (L.) Merr.) sebanyak 5 kg yang diperoleh dari Jalan Manoko Cikahuripan, Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat.

Bahan : Amoniak (Merck), . Asam klorida (Merck), Dinatrium hydrogen fosfat (Merck), Natrium karbonat (Merck), Natrium nitrit (Merck), Ninhidrin (Merck, KGaA), Alumunium klorida (Merck), Natrium hidroksida. (Merck), NaCl (Merck), Ferri klorida (Merck), H₂SO₄ pekat (Merck), Substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Wako Pure Chemical Industries Ltd, Jepang), Bovine serum albumin (BSA) (Merck, Jerman), Akarbose (Sigma), Pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Bouchardat, Etanol 96 % (Emsure), Kloroform (Merck), Dimetil sulfoksida (Merck), . *n*-Heksana (Merck), Aquades.

Alat : Timbangan analitik (Kern), alat-alat gelas (Pyrex), *Shaking bath incubator* (Lab-Line), Cawan uap (Pyrex), Mikropipet (Eppendorf), Spektrofotometri UV-Vis (Hitachi U-2000), *Vacuum Rotary evaporator* (Buchi).

Persiapan Bahan Uji :

Kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) segar sebanyak 5 kg diperoleh dari pedagang nanas Jalan Manoko, Cikahuripan Lembang, Kabupaten Bandung Barat, Jawa Barat. Kulit buah nanas dipisahkan dari bagian tanaman yang lain dan kotoran, kemudian dipotong-potong dengan panjang 2-3 cm dan dicuci dengan air mengalir lalu ditiriskan dan diangin-anginkan selama satu malam. Pengeringan dilakukan di dalam oven dengan suhu 45°C selama 1x24 jam, hasil pengeringan sebanyak 1,4 kg dibuat serbuk menggunakan *blender*.

Pembuatan Ekstrak:

Ekstrak etanol kulit buah nanas madu dibuat dengan cara maserasi 300 g serbuk kulit nanas madu dalam etanol 96% selama 24 jam dengan sesekali diaduk lalu disaring dengan kertas saring. Residu dimaserasi kembali dengan proses yang sama sebanyak 2 kali. Filtrat kemudian diuapkan dan dipekatkan menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator* pada suhu 40°C sampai destilat etanol tidak menetes lagi. Ekstrak yang diperoleh berupa cairan kental yang berwarna coklat kehitaman, kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya.

Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol dan Serbuk Kulit Buah Nanas Madu

Identifikasi Alkaloid

Sebanyak 2 g serbuk dan ekstrak masing-masing ditambahkan 5 mL amoniak dan 20 mL kloroform. Setelah itu diaduk dan dipanaskan di atas penangas air sampai setengahnya dan disaring, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan beberapa tetes HCl 2 N, dikocok, dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan atas yang terbentuk diambil

dimasukan ke dalam 3 tabung reaksi dengan jumlah yang sama. Tabung 1 ditambahkan pereaksi Mayer, tabung 2 ditambahkan pereaksi Bouchardat dan tabung 3 ditambahkan pereaksi Dragendorff.[7]

Identifikasi flavonoid

Sebanyak 1 g serbuk dan ekstrak masing-masing ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 mL filtrat ditambahkan 1 mL natrium nitrit 5% dan 1 mL AlCl_3 10% dikocok. Setelah dikocok ditambahkan 2 mL NaOH 1 N.[7]

Identifikasi Saponin

Sebanyak 1 g serbuk dan ekstrak masing-masing ditambah dengan air panas 10 mL kemudian disaring. Filtrat dimasukan kedalam tabung reaksi, dikocok vertikal selama 10 detik. Terdapatnya saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang mantab setinggi 1-10 cm yang stabil dan tidak kurang dari 10 menit buih tidak hilang. pada penambahan 1 tetes asam klorida (HCL) 2 N buih tidak hilang.[8]

Identifikasi Tanin

Sebanyak 1 g serbuk dan ekstrak ditimbang, dididihkan selama 5 menit dalam 10 mL air suling lalu disaring. larutan diambil 2 mL ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida (FeCl_3) 1%.[7]

Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 2 g serbuk dimaserasi dengan 20 mL *n*-heksana selama 2 jam kemudian disaring dan diuapkan hingga kering, kemudian ditambahkan 2 tetes asetat anhidrida dan 2 mL kloroform. lalu dipindahkan ke dalam tabung reaksi, selanjutnya ditambahkan perlahan-lahan 1 mL (H_2SO_4) asam sulfat pekat (Liebermann-Burchard) melalui dinding tabung.[9]

Identifikasi Enzim Bromelin.[10]

Larutan BSA (Bovine Serum Albumin) diambil sebanyak 1 mL lalu dimasukan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan larutan ninhidrin sebanyak 5 mL. Campuran dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit sehingga muncul warna ungu yang menandakan terjadinya reaksi antara asam amino dan ninhidrin. Reaksi yang sama juga dilakukan untuk larutan ekstrak kulit buah nanas madu dan air deionisasi. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali. Bromelin positif jika terjadi warna ungu. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah nanas madu mengandung bromelin karena terbentuknya warna ungu.

Penetapan Kadar Enzim Bromelin Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu.[11]

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku BSA dengan konsentrasi 400, 700 dan 1000 µg/mL dimasukan ke dalam vial dan dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 30 detik, lalu didiamkan. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 280 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis.

Pengujian Larutan Standar BSA

Larutan BSA dengan konsentrasi 400, 550, 700, 850 dan 1000 µg/mL diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum terhadap blanko yang terdiri dari aquadest. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

Pengujian Larutan Ekstrak

Larutan ekstrak dengan konsentrasi 250 µg/mL diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum terhadap blanko yang terdiri dari aquadest. Pengulangan dilakukan sebanyak 3 kali.

Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu terhadap Enzim α -Glukosidase.[12]

Pengujian Larutan Blangko

Larutan dapar fosfat pH 7 sebanyak 50 µl ditambahkan dengan 10 µL larutan dimetil sulfoksida (DMSO), ditambah 25 µL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida, kemudian ditambahkan enzim α -glukosidase 25 µL. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, tambahkan 100 µL Na₂CO₃. Larutan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan larutan kontrol blanko disiapkan dimana larutan enzim diganti dengan 25 µL dapar fosfat.

Pengujian Larutan Ekstrak

Larutan dapar fosfat pH 7 sebanyak 50 µL ditambahkan kedalam 10 µL larutan ekstrak yang masing-masing konsentrasinya 400, 200, 100, 50 dan 25 µg/mL. lalu ditambahkan 25 µL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dan 25 µL larutan enzim α -glukosidase. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. setelah masa inkubasi selesai kemudian ditambahkan 100 µL Na₂CO₃. larutan sampel kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pembuatan larutan kontrol ekstrak disiapkan dimana larutan enzim diganti dengan 25 µL dapar fosfat.

Pengujian Larutan Akarbose

Larutan dapar fosfat pH 7 sebanyak 50 μL ditambahkan dengan 10 μL larutan akarbose yang masing-masing konsentrasinya 0,1 $\mu\text{g/mL}$, 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 5 $\mu\text{g/mL}$ dan 10 $\mu\text{g/mL}$. Lalu ditambahkan 25 μL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dan enzim α -glukosidase 25 μL . Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. setelah masa inkubasi selesai, tambahkan 100 μL Na_2CO_3 . Larutan diukur absorbansinya dengan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 400nm. Pembuatan larutan kontrol akarbose disiapkan dimana larutan enzim diganti dengan 25 dapar fosfat.

$$\text{Penghambatan (\%)} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} (*Inhibition concentration*) yang dihitung menggunakan persamaan regresi linier $y = bx + a$. persamaan regresi linier diperoleh dari grafik hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dengan besarnya aktifitas antidiabetes atau persentase inhibisi (sumbu y). nilai a dan b yang diperoleh digunakan untuk menghitung IC_{50} dari zat yang diuji dengan $y = 50$ dan x menunjukkan nilai IC_{50} .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, maserasi dipilih karena dapat mengekstraksi senyawa aktif dengan baik melalui perendaman tanpa pemanasan sehingga dapat menghindari kerusakan komponen senyawa yang labil dan tidak tahan panas. Adanya sistem perendaman ini maka pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif. Maka zat aktif yang terdapat dalam sel akan larut dalam pelarut.[13] Proses pengadukan dilakukan sesekali bertujuan untuk memperbanyak kontak antara bahan dengan pelarut dan mendapatkan derajat homogenitas yang tinggi.[14]. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai destilat etanol tidak menetes lagi dari kondensor, hal ini menunjukkan bahwa bahan yang diuapkan sudah tidak mengandung etanol lagi dan penguapan dapat dihentikan. Suhu 40 °C digunakan untuk menghindari kehilangan senyawa aktif yang tidak tahan panas. Penguapan pelarut dari suatu larutan bahan dengan suhu 40 °C tersebut akan tercapai dapat dilakukan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* karena dengan alat ini tekanan di dalam labu berada di bawah tekanan udara luar sehingga titik didih larutan

dapat diatur di bawah titik didih pelarutnya. Hasil ekstraksi yang diperoleh dari serbuk kulit buah nanas madu dapat dilihat pada Tabel 1 :

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Kulit Buah Nanas Madu dengan Etanol 96%

Bahan	Bobot Serbuk (gram)	Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu			
		Bobot (gram)	Rendemen (%)	Bentuk	Warna
Serbuk kulit buah nanas madu	300	86,2	28,7	Kental	Coklat tua

Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil identifikasi tanin dengan FeCl_3 memperlihatkan terbentuknya warna hijau kehitaman. Tanin merupakan senyawa polifenol yang tersebar pada bagian tanaman seperti, kulit batang, daun dan buah. Terjadinya reaksi antara senyawa polifenol dari tanin dengan FeCl_3 ditunjukkan dengan terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman. Warna biru kehitaman menunjukkan bahwa simplisia atau ekstrak mengandung tanin galat dan warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin katekol.[15][9] Dengan demikian serbuk dan ekstrak etanol kulit buah nanas mengandung tanin katekol, karena terbentuk warna hijau kehitaman. Hasil identifikasi senyawa steroid/triterpenoid dengan reaksi Liebermann-Burchard memperlihatkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol kulit buah nanas madu mengandung senyawa steroid/triterpenoid karena terbentuknya cincin warna coklat dan warna ungu pada lapisan atas. Pada pengujian saponin baik ekstrak maupun serbuk tidak memperlihatkan terbentuknya buih yang stabil, maka kulit buah nanas madu tidak mengandung saponin. Saponin adalah glikosida dengan molekul gula yang terikat dengan aglikon triterpenoid atau steroid.[15] Apabila tidak mengandung saponin tetapi memberikan warna merah, ungu atau violet pada reaksi Liebermann-Burchad maka simplisia atau ekstrak mengandung triterpenoid bebas.[16] Dengan demikian ekstrak etanol dan serbuk kulit nanas madu mengandung senyawa triterpenoid bebas. Mekanisme terbentuknya perubahan warna terjadi karena oksidasi ikatan rangkap C_7 pada cincin B dalam senyawa steroid dan C_{11} pada cincin C pada senyawa triterpenoid.[16] Identifikasi flavonoid menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol kulit buah nanas madu mengandung senyawa flavonoid karena terbentuknya warna merah yang merupakan hasil reaksi kompleks flavonoid- AlCl_3 dan NaOH .[17][16] Hasil identifikasi alkaloid menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol kulit buah nanas madu tidak mengandung alkaloid, karena tidak memberikan endapan dengan pereaksi Mayer, Bouchardat dan Dragendorff. Hasil penapisan fitokimia dari serbuk dan ekstrak kulit buah nanas madu dirangkum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu

Identifikasi	Hasil Pengamatan	
	Serbuk Kulit Buah Nanas Madu	Ekstrak Kulit Buah Nanas Madu
Alkaloid	-	-
Saponin	-	-
Tanin	+	+
Flavonoid	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+

Identifikasi Bromelin

Identifikasi bromelin merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui adanya keberadaan bromelin yang diharapkan pada ekstrak etanol kulit buah nanas madu. Uji ini merupakan uji kualitatif yang menjadi dasar untuk uji penetapan kadar enzim bromelin. Larutan uji dikatakan mengandung bromelin jika ditambah larutan ninhidrin dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit menghasilkan warna ungu.[10] Uji pendahuluan ini menggunakan kontrol positif yaitu larutan BSA (Bovine Serum Albumin) dan air deionisasi sebagai kontrol negatif. BSA adalah protein albumin serum yang berasal dari sapi, merupakan salah satu protein yang paling luas diteliti dan mempunyai kandungan protein yang berlimpah.[18] Ninhidrin akan bereaksi dengan gugus amino alfa yang terdapat dalam asam amino, peptida dan protein membentuk senyawa berwarna biru-ungu yang disebut Ungu Ruhemann.[10] Uji pendahuluan ini memberikan hasil positif dengan larutan ekstrak etanol kulit buah nanas madu. Sehingga dapat disimpulkan bahwa kulit buah nanas mengandung enzim bromelin.

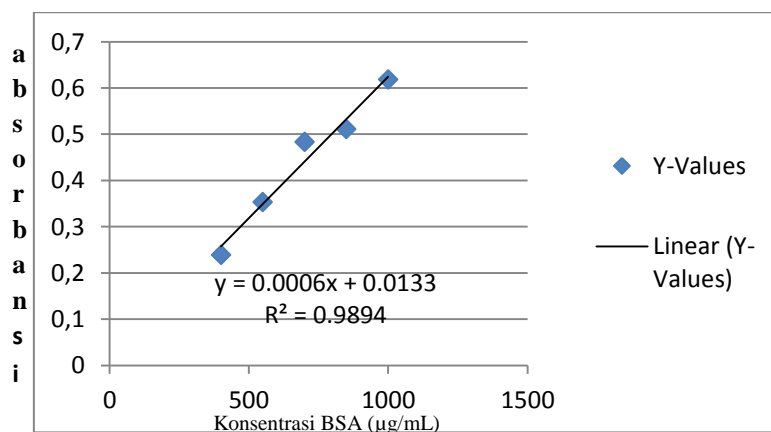
Penetapan Kadar Enzim Bromelin Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu

Penetapan kadar dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri pada daerah UV-Vis pada panjang gelombang 280 nm. BSA digunakan sebagai standar karena sifatnya yang stabil dan telah banyak digunakan dalam penelitian dalam penetapan kadar bromelin.[10] Hasil pengukuran absorbansi BSA dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Absorbansi BSA (Bovine Serum Albumin)

Pengulangan	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	Persamaan Regresi Linear
1	400	0,239	$y = ax - b$ $y = 0,0133x - 0,000610$ $r = 0,9846$
	550	0,353	
	700	0,483	
	850	0,511	
	1000	0,618	
2	400	0,239	$y = ax - b$ $y = 0,0122x - 0,000610$ $r = 0,9854$
	550	0,353	
	700	0,482	
	850	0,512	
	1000	0,618	
3	400	0,239	$y = ax - b$ $y = 0,0122x - 0,000612$ $r = 0,9854$
	550	0,352	
	700	0,482	
	850	0,512	
	1000	0,618	

Hasil pengukuran absorbansi pada pengulangan 1 menunjukkan nilai r sebesar 0,9846. Sedangkan pada pengulangan 2 dan 3 nilai $r = 0,9854$ dan $r = 0,9845$ nilai r yang baik menunjukkan koefisien yang baik juga. Secara berturut-turut persamaan regresi yang didapat dari pengulangan 1, 2 dan 3 yaitu : $y = 0,0133x - 0,000610$; $y = 0,0122x - 0,000610$; dan $y = 0,0122 - 0,000612$. Hasil pada Tabel 3 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang linear antara konsentrasi BSA dengan absorbansi yang dihasilkan. Persamaan regresi tersebut kemudian digunakan untuk menentukan nilai kadar enzim bromelin. Ekstrak etanol kulit buah nanas madu diukur nilai absorbansinya untuk kemudian digunakan dalam menghitung kadar enzim bromelin yang dihitung terhadap BSA. Nilai absorbansi ekstrak kulit buah nanas madu dapat dilihat pada Tabel 4. Grafik hubungan absorbansi dengan konsentrasi BSA dapat dilihat pada Gambar 1.

**Gambar 1.** Grafik Hubungan antara Absorbansi dengan Konsentrasi BSA

Tabel 4 Hasil Pengukuran Absorbansi Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu

Pengulangan	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi
1	250	0,332
2	250	0,333
3	250	0,332

Hasil pengukuran absorbansi pada ekstrak kulit nanas madu dengan konsentrasi 250 didapatkan absorbansi pengulangan pertama 0,332, pengulangan kedua 0,333 dan pengulangan ketiga 0,332 dengan rata-rata absorbansi 0,332. Hasil penetapan kadar bromelin dari kulit buah nanas madu yang dihitung terhadap BSA didapat kadar enzim bromelin sebesar 10,9032 %. Hasil ini sedikit berbeda dengan hasil yang didapatkan oleh Pambudi (2017) [10] yang mendapatkan kadar sebesar 7,8233 %. Hal yang memungkinkan adanya perbedaan ini antara lain adanya perbedaan varietas nanas, tempat tumbuh dan proses maserasi yang hanya dilakukan 1 x 24 jam sehingga bromelin yang tersari tidak maksimal, sementara pada penelitian ini dilakukan maserasi sampai 3 x 24 jam.

Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Nanas Madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) terhadap Kerja Enzim α -Glukosidase Secara *In Vitro*

Uji aktivitas ini merupakan metode pengujian antidiabetes secara *in vitro* untuk mengetahui aktivitas suatu senyawa atau ekstrak dalam menghambat kerja enzim α -glukosidase. Substrat yang digunakan adalah *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida yang pada suhu 37°C akan dikatalis oleh enzim α -glukosidase menjadi *p*-nitrofenol (berwarna kuning) dan glukosa. Warna yang dihasilkan oleh *p*-nitrofenol menjadi indikator kemampuan ekstrak untuk menghambat reaksi yang terjadi. Sebagai pembanding dalam penelitian ini digunakan akarbose sebagai kontrol positif. Akarbose merupakan agen antidiabetik komersial yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase dan sudah menjadi pembanding yang diakui secara internasional.[19]

Pengamatan aktivitas dari ekstrak dilakukan dengan cara membandingkan antara absorbansi ekstrak dan blanko. Larutan blanko berisi pelarut dengan perlakuan yang sama dengan ekstrak. Blanko dibuat sebagai pembanding data absorbansi dari larutan ekstrak yang diduga memiliki agen penghambat enzim α -glukosidase. Masing-masing larutan ekstrak, blanko dan akarbose dikoreksi dengan kontrol. Perlakuan untuk kontrol hampir sama dengan ekstrak, akarbose dan blanko hanya tanpa penambahan enzim. Larutan kontrol baik untuk blanko, sampel dan akarbose dibuat sebagai faktor koreksi untuk mengetahui apakah ada

absorbansi yang terbaca dari senyawa selain *p*-nitrofenol misalnya dikarenakan warna ekstrak yang berwarna sehingga dapat mempengaruhi nilai absorbansi.

Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase dilakukan untuk mengetahui penghambatan ekstrak etanol kulit nanas madu dari berbagai konsentrasi terhadap aktivitas enzim α -glukosidase yang ditentukan dengan cara pengukuran jumlah *p*-nitrofenol yang dilepaskan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm dan melihat persentase inhibisi, serta mengetahui kekuatan penghambatan ekstrak tersebut terhadap α -glukosidase dengan melihat nilai IC_{50} . Hasil pengukuran dan perhitungan ada pada Tabel 5.

Persamaan regresi linier antara log konsentrasi ekstrak dan % inhibisi digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} . Penghambatan enzim α -glukosidase semakin baik jika nilai IC_{50} semakin kecil. Hasil pengukuran penghambatan aktivitas ekstrak kulit buah nanas madu digunakan untuk perhitungan enzim α -glukosidase dengan rumus:

$$\text{Inhibisi : } (\%) = \frac{c-s}{c} \times 100\%$$

Keterangan : s = absorbans sampel
c = absorbansi blanko

Tabel 5 Data Pengujian Aktivitas Antidiabetes dengan Metode Penghambatan Enzim α -Glukosidase

S	C ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	K (-)	Absorbansi						Inhibisi (%)			RRI (%)	IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	
			Absorbansi terukur			Absorbansi Terkoreksi			A1	A2	A3			
			A1	A2	A3	A1	A2	A3						
B	-	0,051	1,118	1,117	1,084	1,067	1,066	1,033						
E K N	25	0,058	1,08	1,114	1,073	1,027	1,061	1,02	3,749	0,469	1,258	1,825	(-)	
	50	0,058	1,058	1,078	1,063	1	1,02	1,005	6,279	4,315	2,711	4,435		
	100	0,055	1,033	1,049	1,021	0,978	0,994	0,966	8,341	6,754	6,486	7,194		
	200	0,056	1,041	1,031	1,021	0,985	0,975	0,965	7,685	8,537	6,583	7,601		
	400	0,059	1,007	1,002	1,001	0,948	0,943	0,942	11,153	11,538	8,809	10,500		
B	-	0,055	0,605	0,574	0,6	0,55	0,519	0,545						
A K B	0,1	0,051	0,42	0,425	0,43	0,369	0,374	0,379	32,909	27,938	30,459	30,435	0,2487	
	0,5	0,05	0,255	0,259	0,252	0,205	0,209	0,202	62,727	59,730	62,936	61,798		
	1	0,048	0,155	0,154	0,154	0,107	0,106	0,106	80,545	79,576	80,550	80,224		
	5	0,05	0,085	0,086	0,088	0,035	0,036	0,038	93,636	93,064	93,028	93,242		
	10	0,049	0,071	0,071	0,078	0,022	0,025	0,029	96,00	95,183	94,679	95,287		

Keterangan:

- EKN : Ekstrak kulit buah nanas madu
- AKB : Akarbose (kontrol positif)
- C : Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
- K (-) : Kontrol negatif
- B : Blanko
- RRI : Rata-rata inhibisi
- S : Sampel

Hasil perhitungan persentase inhibisi menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah nanas madu tidak memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase, karena semua ada di bawah 11 % sehingga nilai IC_{50} tidak dapat ditentukan. Berbeda dengan akarbose yang memiliki rata-rata persentase inhibisi yang cukup besar dari masing-masing konsentrasinya berkisar antar

30-96%, maka dapat ditentukan nilai IC₅₀ yaitu 0,2487 µg/ml. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol bonggol buah nanas varietas queen dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Penurunan ini disebabkan oleh kandungan bromelin dari ekstrak etanol bonggol buah nanas tersebut yang membantu dalam penyembuhan sel beta pankreas yang sebelumnya mengalami kerusakan, sehingga sel beta mengalami penyembuhan dan kerja insulin tidak lagi mengalami gangguan.[5] Hasil penelitian kali ini memperlihatkan ekstrak etanol kulit buah nanas madu mengandung enzim bromelin sebesar 10,9032 % dan mengungkapkan bahwa bromelin dalam menurunkan kadar gula darah tidak melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase atau bukan sebagai inhibitor α -glukosidase.

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol kulit buah nanas madu (*Ananas comosus* (L.) Merr.) mengandung tanin, flavonoid dan steroid/triterpenoid.
2. Kadar bromelin dari ekstrak etanol kulit buah nanas madu adalah 10,9032 %.
3. Ekstrak etanol kulit buah nanas madu tidak memiliki aktivitas penghambat enzim α -glukosidase.

DAFTAR REFERENSI

1. Rejeki, E. S., Ningsih, D.(2010). Uji Aktivitas Antioksidan Buah Nanas terhadap Radikal Bebas. *Biomedika*. Vol 3, No.2, Hal 1-5
2. Purwaningsih, I. (2017). Potensi Enzim Bromelin Sari Buah Nanas (*Ananas Comosus* L.) Dalam Meningkatkan Kadar Protein Pada Tahu. *Jurnal Teknologi Laboratorium*. Vol. 6 No.1.Hal 39-46.
3. Masri, M. (2014). Isolasi dan Pengukuran Aktivitas Enzim Bromelin Dari Ekstrak Kasar Batang Nanas (*Ananas comosus*) Pada Variasi PH. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol 2 No 2. Hal 119-125
4. Rathnavelu, V., Alitheen, N. B., Sohila, S., Kanagesan, S and Ramesh, R. (2016). Potential Role of Bromelain in Clinical and Therapeutic Applications (review). *Biomedical Report* 5, hal: 283-288.
5. Rochmawati, A., dan Ardiansyah, S. (2018). Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus* L.) Sebagai Antidiabetes Pada Tikus Yang Diinduksi Aloksan. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*. Vol. 1 No. 1. hal: 36-43.
6. Mun'im, A., Hanani, E. (2011) Fitoterapi Dasar, Dian Rakyat, hal: 167-171.

7. Ulfa, A. (2019). Uji Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Senduduk (*Melastoma malabathricum* L) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*) dengan Metode Hot Plate. *Skripsi*. Institut Sains dan Teknologi Nasional Jakarta.
8. Anonim. (1995). *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal 552.
9. Anonim. (1987). *Analisa Obat Tradisional*. Dirjen POM. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal 45.
10. Pambudi, Y. B. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan dan Penetapan Kadar Bromelain Terhadap *Bovine Serum Albumin* (BSA) Dari Ekstrak Kulit Buah Nanas (*Ananas comosus* L.) Merr). *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Hal 7-37.
11. Ahmed, H. (2005). Principles and Reactions Of Protein Extraction, Purification and Characterization. *CRC Florida*. hal: 35-42.
12. Sancheti, S., Sancheti, S., dan Seo, S. Y. (2009). *Chaenomeles Sinensis*: A Potent α - and β -Glucosidase Inhibitor. *American Journal Of Pharmacology and Toxicology*. Vol. 4 No. 1. hal: 8-11.
13. Khoiriyah, S., Hanapi, A., Fasya, A, G. (2014). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform dan Petroleum Eter Ekstrak Metanol Alga Coklat *Sargassum Vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura. *ALCHEMY* Vol 3 No. 2. Hal 133-144.
14. Dewi, K. H., Silsila, D., Markom, M., Mendra, H., Markom, M., Mendra, H dan Susanti, L. (2010). Ekstraksi Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Sebagai Sumber Testosteron Pada Berbagai Kecepatan dan Lama Pengadukan. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan” Pengembangan Teknologi Kimia untuk Pengolahan Sumber Daya Alam Indonesia Yogyakarta, 26 Januari 2010. ISSN 1693 – 4393. Hal 1-8
15. Hanani, E. Analisis Fitokimia, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 79-93, 227
16. Farnsworth, N. R. 1966. Review Article: Biological and phytochemical Screening of Plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 55 No. 5. Hal 257-259.
17. Adawiyah., Sukandar, D., Muawanah, A. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *Jurnal Kimia Valensi*. Vol. 1 No. 2. Hal 130-136.

18. Adnani, L. P. D. H., Bebas, W., dan Budiasa, M.K. (2012). Penambahan Bovine Serum Albumin pada Pengencer Kuning Telur terhadap Motilitas dan Daya Hidup Spermatozoa Anjing. *Indonesia Medicus Veterinus*. (4) : 519 – 529.
19. Febrinda, A. E., Astawan, M., Wresdiyati, T., dan Yuliana, N. D. (2013). Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor α -Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Bayak. *Jurnal Teknok dan Industri Pangan*. Vol. 24 No. 2. Hal 162.