



Jurnal Ilmiah Kesehatan Mandala Waluya

ISSN : 2809-3151

DOI: <https://doi.org/10.54883/jikmw.v2i1.638>

<https://ejournal.umw.ac.id/jikmw/index>



Uji Aktivitas Ekstrak Daun Pacar kuku (*Lawsonia inermis linn.*) dalam Penghambatan Enzim α -amilase sebagai Alternatif Penghambatan Penyakit Degeneratif Diabetes Melitus

Yulli Fety¹, Fadila²

¹Program Studi Keperawatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Mandala Waluya

²Program Studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Mandala Waluya

ABSTRAK

Telah diketahui pada penelitian-penelitian sebelumnya tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) mempunyai potensi besar dalam pengobatan. Hingga saat ini, belum ditemukan sumber informasi penelitian tentang senyawa flavonoid dari ekstrak pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) yang berkhasiat sebagai penurun kadar glukosa darah dengan mekanisme menghambat kerja enzim α -amilase. Salah satu bakteri yang diisolasi penghasil enzim α -amilase berasal dari saliva penderita diabetes melitus, sehingga pada bakteri itulah saya mencoba mengisolasi untuk mendapatkan enzim α -amilase. Berdasarkan hal ini akan diteliti apakah ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) yang mengandung flavonoid mempunyai aktivitas dalam penghambatan enzim α -amilase sebagai alternatif penghambat penyakit degeneratif diabetes melitus. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) dalam penghambat enzim α -amilase sebagai alternatif penghambatan penyakit degeneratif diabetes melitus. Populasi pada penelitian ini adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*), dengan ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) dan saliva penderita diabetes melitus sebagai sampel dalam penelitian. Hasil penelitian menunjukkan pada enzim α -amilase murni diperoleh nilai IC50 sebesar 27.69 ppm. Hal ini menandakan bahwa ekstrak daun pacar kuku tergolong memiliki kemampuan inhibisi yang kuat dalam menghambat kedua enzim tersebut.

Kata Kunci : Diabetes Mellitus, Ekstrak Daun Pacar Kuku enzim α -amilase

Activity Test of Leaf Extract of Girlfriend Nails (*Lawsonia inermis linn*) in Inhibition of α -amylase Enzyme as an Alternative for Inhibiting Degenerative Diseases of Diabetes Mellitus

ABSTRACT

It has been known in previous studies that the nail henna plant (*Lawsonia inermis Linn.*) has great potential in medicine. Until now, no source of research information has been found on flavonoid compounds from nail henna extract (*Lawsonia inermis Linn.*), which are efficacious in lowering blood glucose levels by inhibiting the action of the amylase enzyme. One of the isolated bacteria that produces the α -amylase enzyme comes from the saliva of people with diabetes mellitus, so I isolated it to obtain the α -amylase enzyme. Based on this, it will be investigated whether the leaf extract of henna nails (*Lawsonia inermis Linn.*) containing flavonoids has activity in inhibiting the amylase enzyme as an alternative to the degenerative disease of diabetes mellitus.

This type of research is a laboratory experimental study to determine the effect of henna leaf extract (*Lawsonia inermis Linn.*) in inhibiting the α -amylase enzyme as an alternative to the degenerative disease of diabetes mellitus. The population in this study were henna leaves (*Lawsonia inermis Linn.*), with ethanol extract of henna leaves (*Lawsonia inermis Linn.*) and saliva of people with diabetes mellitus as samples in the study.

The results showed that the pure amylase enzyme obtained an IC50 value of 27.69 ppm. This indicates that the henna leaf extract is classified as having a strong inhibitory ability in inhibiting the two enzymes.

Keywords: : Diabetes Mellitus; *Lawsonia inermis Linn.* leaf extract; α -amylase enzyme

Penulis Korespondensi :

Yulli Fety

Universitas Mandala Waluya

E-mail : fetyyulli@gmail.com

No. Hp : 082293 399988

Info Artikel :

Submitted : 17 April 2022

Revised : 25 Mei 2022

Accepted : 05 Juni 2022

Published : 30 Juni 2022

PENDAHULUAN

Diabetes melitus menyebabkan 1,5 juta kematian pada tahun 2012. Gula darah yang lebih tinggi dari batas maksimum mengakibatkan bertambahnya kasus menjadi 2,2 juta kematian, dengan meningkatkan risiko penyakit kardiovaskuler dan lainnya. Empat puluh tiga persen (4,3%) dan 3,7 juta kematian ini terjadi sebelum usia 70 tahun lebih tinggi di negara-negara berpenghasilan tinggi (WHO, 2016).

Pada diabetes melitus, status hiperglikemia dapat menyebabkan tingginya jumlah urin sehingga cairan dalam tubuh dan sekresi saliva berkurang yang akan mengakibatkan terjadinya xerostomia. Sedangkan pada pasien DM yang mengalami disfungsi kelenjar saliva juga dapat mengalami kesulitan dalam mengunyah dan menelan sehingga mengakibatkan nafsu makan berkurang dan terjadilah malnutrisi. Saliva yang berfungsi sebagai sampel klinis yang mudah diakses telah menjadi perhatian karena berbagai komponen yang ditemukan dalam saliva memungkinkan penggunaannya sebagai diagnosis, penilaian terhadap prognosis dan pemantauan berbagai penyakit manusia, seperti penyakit bawaan, penyakit autoimun, penyakit kardiovaskuler, infeksi, kanker, diabetes melitus, karies dentis, dan penyakit periodontal (Lima-Aragao, de, Maciel, Silvi, & dkk, 2016).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.). Daun, bunga, biji, kulit batang dan akar tanaman dapat berpotensi menyembuhkan sakit kepala, arthritis, diare, dan demam (Chaundhary & Goyal, 2010). Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dapat digunakan sebagai pewarna merah baik pada kuku, rambut, jari tangan untuk memperindah

penampilan (Zubardiah, Nurul, & Auerkari, 2007). Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, pacar kuku berkhasiat sebagai analgesik, hepatoprotektor, imunostimulan, antiinflamasi, antibakteri, antimikroba, antifungi, antivirus, antiparasit, antitrypanosomal, antidermatopita, antioksidan, antifertilitas, antituberkulosis dan antikanker (Chaundhary & Goyal, 2010).

Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) terkandung banyak senyawa kimia yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan. Tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) ini mengandung berbagai metabolit sekunder. Pada bagian daun pacar kuku mengandung luteolin-7-o-glycosida, luteolin-3-o-glycosida, stigmasterol cosmosiin (acacetin-7-o-glycoside), acacetin, p-coumeric acid, fraetin, scopoletin, esculetin, 1,2-dihydroxy-4-o-glucosyloxy naphthalene, lawsoniaside, lalioside dan masih banyak lagi yang lainnya (Chaundhary & Goyal, 2010).

Penelitian yang dilakukan (Chikaraddy, Maniyar, & Mankapur, 2012), diperoleh bahwa ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) juga dapat menurunkan kadar glukosa darah (KGD) pada tikus yang diinduksi aloksan dengan dosis 0,4 g/kg bb. Aktivitas antihiperglikemik dari daun pacar kuku diduga karena ekstraksi insulin dari sel β pankreas atau meningkatnya transportasi glukosa dari darah ke jaringan perifer. Senyawa aktif didalam daun pacar kuku yang berperan menurunkan kadar gula darah yakni alkaloid, tannin, dan flavonoid.

Selain mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan anti arstriktik, tanaman pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) juga mempunyai aktivitas sebagai inhibitor enzim. Dari penelitian diketahui bahwa ekstrak metanol pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.)

dapat mereduksi aktivitas enzim α -amilase pada semua konsentrasi percobaan. Daya hambat ekstrak metanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) terbesar terjadi pada konsentrasi 10,00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dengan persen aktivitas enzim sebesar 39,03%. Selain itu ekstrak metanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) juga mempunyai efek sebagai antiinflamasi (Imam, Mahbub, & Khan, 2013). Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh (Vaibhav & Lakshaman, 2012) disebutkan bahwa ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) mempunyai efek dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase. Berdasarkan penelitian tersebut diperoleh hasil 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ekstrak methanol pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) yang mampu menghambat aktivitas enzim terbesar 14,62%.

METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) dalam penghambat enzim α -amilase sebagai alternatif penghambatan penyakit degeneratif diabetes melitus.

Populasi penelitian ini adalah Populasi pada penelitian ini adalah daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*). Sampel pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) dan saliva penderita diabetes melitus. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium D-IV Teknologi Laboratorium Medis Universitas Mandala Waluya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian dengan mengisolasi bakteri dari salivapenderita DM untuk menghasilkan enzim yang digunakan sebagai uji penghambatan pada ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis Linn.*) dengan konsentrasi 2.5, 5, 7.5, 10, dan 12.5 ppm. Adapun hasil penelitian antara lain sebagai berikut:

Karakteristik Morfologi Isolat Murni

Pengamatan yang dilakukan secara mikroskopik terhadap morfologi isolat murni untuk melihat koloni bakteri yang tumbuh. Karakteristik koloni pada media agar darah (blood agar) dibedakan atas dasar yaitu bentuk koloni, ukuran koloni, tepi (margin koloni), peninggian (elevasi), warna koloni, permukaan koloni, konsistensi dan pigmen yang dihasilkan oleh koloni. Morfologi dengan karakteristik yang ditemukan pada penelitian ini tidak dapat dibuktikan dengan jelas jenis bakteri apakah gambaran tersebut, sehingga membutuhkan penelitian lebih. Adapun hasil karakteristik morfologi isolat murni dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Hasil Karakteristik Morfologi Isolat Murni pada Sampel Saliva

No	Kode Isolat	Bentuk	Warna	Elavasi	Margin	Tekstur	Jenis	Dugaan Bakteri
1	10 ⁻⁴	Sirkuler	Golden yellow	Konveks	Undelate	Kasar	H	<i>Staphylococcus sp.</i>
2	10 ⁻⁵	Irreguler	Coklat	Flat	Entire	Halus	NH	<i>Lactobacillus sp</i>
3	10 ⁻⁶	Irreguler	Coklat	Flat	Entire	Halus	H	<i>Streptococcus sp.</i>

Tabel diatas menunjukkan keterangan: Bentuk sirkuler: bentuk koloni bulat; Bentuk irreguler: bentuk koloni tidak teratur; Elevasi konveks: peninggian koloni berbentuk cembung seperti tetesan air; Elevasi flat: ketinggian koloni tidak terukur dan rata dengan media; Entire: batas tepi koloni rata; Undulate: batas tepi koloni bergelombang; Halus: tidak didapatkan tekstur pada permukaan koloni; Kasar: didapatkan tekstur pada permukaan koloni; H: hemolitik; NH: non hemolitik. Pada kode isolat 10-5 dan 10-6 memiliki karakteristik morfologi koloni yang sama, sedangkan pada kode isolat 10-4 karakteristik morfologi koloninya berbeda.

Hasil Produksi Enzim Amilase

Tabel 2. Hasil Kerapatan Optik (OD) panda inokulum bakteri

Inokulum Bakteri	Absorbansi
10 ⁻⁴	0.50
10 ⁻⁵	0.48
10 ⁻⁶	0.42

Gambar 1. Hasil produksi enzim amilase (Larutan Enzim Kasar)

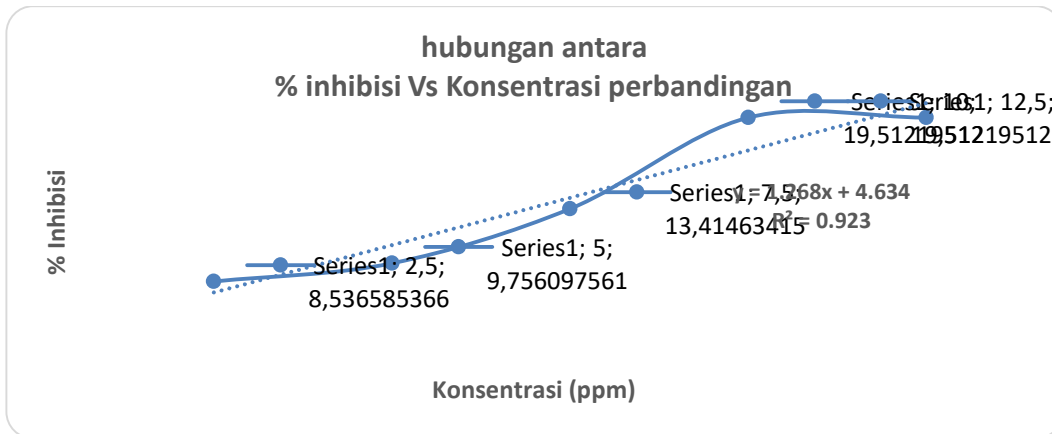


Uji Aktivitas

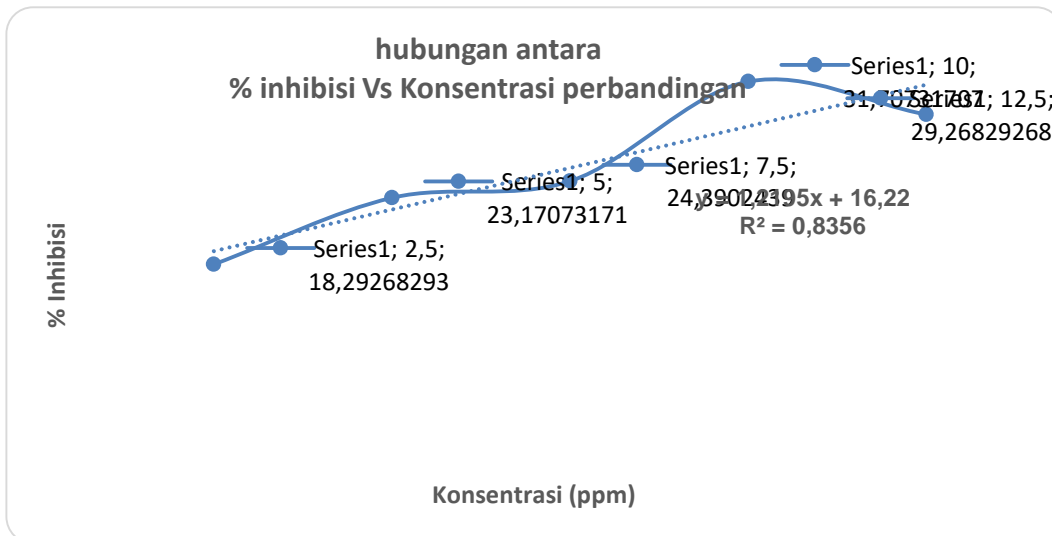
Tabel 3. Nilai Persen Penghambat Aktivitas Enzim α-Amilase Ekstrak Daun Pacar Kuku dari Berbagai Konsentrasi

Enzim	Konsentrasi (Ekstrak ppm)	Absorbansi Blanko	Absorbansi Sampel	% Penghambatan $\frac{A. blanko - A. sampel}{A. blanko} \times 100\%$
Alfa amilase	2.5	0.082	0.075	8.53
	5		0.074	9.75
	7.5		0.071	13.41
	10		0.066	19.51
	12.5		0.066	19.51
Alfa amilase murni	2.5	0.082	0.067	18.29
	5		0.063	23.17
	7.5		0.062	24.39
	10		0.056	31.70
	12.5		0.058	29.26

Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak dengan persen inhibisi aktivitas enzim α-amilase ekstrak kasar



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak dengan persen inhibisi aktivitas enzim α-amilase murni



Tabel 4. Nilai IC₅₀ Inhibisi α- Amilase dari Ekstrak Daun Pacar Kuku

Jenis inhibisi	Inhibisi alfa amilase (ppm ekstrak)	Kategori inhibisi
Alfa amilase	35.76	Kuat
Alfa amilase murni	27.69	Kuat

Pembahasan

Berdasarkan hasil mengenai karakteristik morfologi koloni bakteri yang ditemukan pada media Blood Agar diperoleh 3 jenis bakteri. Bakteri dengan kode isolat 10-4 yang didapatkan hanya bakteri hemolitik,

dimana terdapat zona bening dan berwarna kuning keemasan (golden yellow) sehingga diduga sebagai bakteri S. aureus. Pernyataan tersebut didukung oleh Brooks dkk (2008), bahwa S. aureus berwarna putih atau kuning keemasan, berukuran sirkuler, berbatas tegas, elevasi konveks dan bersifat hemolitik. Selain

itu, ditemukan morfologi bakteri pada kode isolat 10-5 dan 10-6 yang diduga sebagai bakteri *Lactobacillus* sp. dan *Streptococcus* sp. Pada umumnya berkarakteristik hemolitik untuk bakteri *Streptococcus* sp, berbentuk sirkuler dan berwarna semi transparan, namun pada kedua isolat tersebut memiliki bentuk irregular dan warna coklat. Hal tersebut dikarenakan nutrisi yang terkandung dalam kultur habis sehingga hasil metabolisme yang bersifat racun tertimbun dan dapat menghambat pertumbuhan. Dengan demikian untuk mengetahui lebih spesifik dari bakteri tersebut harus melakukan beberapa uji lanjutan, sehingga pada hasil penelitian ini perlu dilakukan pengujian lebih lanjut.

Pada penelitian ini, media YPSs yang mengandung pati (amilum) sebagai sumber karbon dipergunakan sebagai media produksi. Zat makanan utama bagi pertumbuhan mikroba merupakan sumber karbon, nitrogen, dan mineral, terutama fosfat. Karbon sangat diperlukan dalam proses fermentasi karena dapat meningkatkan energi biosintesis, sehingga dapat menghasilkan produk fermentasi yang tinggi. Selain itu, pati juga berfungsi sebagai indikator untuk sekresi amilase.

Setelah proses fermentasi selesai, media disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 4oC selama 5 menit untuk memisahkan larutan enzim dari sel bakteri. Sentrifugasi yang dilakukan pada suhu 4oC untuk mencegah terjadinya autolisis, yaitu terdegradasinya protein enzim oleh protease yang ada dalam cairan hasil fermentasi yang dihasilkan isolat bakteri 10-4. Pada suhu 4oC, aktivitas protease menjadi terhambat sehingga tidak terjadi autolisis.

Penelitian ini dilakukan dengan menguji aktivitas inhibitor α -amilase ekstrak daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dengan perbedaan konsentrasi pengenceran ekstrak yaitu 2.5, 5, 7.5, 10 dan 12.5 ppm.

Ekstraksi daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) dilakukan dengan metode maserasi (perendaman). Menurut Yulianingtyas (2016), metode maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena mudah dilakukan, dengan melakukan maserasi sampel tanaman akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Semakin lama waktu maserasi, kuantitas bahan yang terekstrak juga akan semakin meningkat dikarenakan kesempatan untuk bersentuhan antara bahan dengan pelarut semakin besar sehingga hasilnya akan bertambah sampai titik jenuh larutan.

Daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) yang telah kering sempurna direndam dengan pelarut etanol selama 24 jam. Etanol adalah pelarut polar yang akan larut dalam air karena air bersifat polar. Jenis pelarut pengekstraksi juga mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak, hal tersebut sesuai dengan konsep like dissolve like, dimana senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Pelarut ideal yang sering digunakan ialah etanol atau campurannya dengan air yang merupakan pelarut pengekstraksi yang mempunyai extractive power yang terbaik untuk semua senyawa yang mempunyai berat molekul rendah seperti alkohol, saponin, dan flavonoid. Hasil maserasi yang telah disaring tersebut kemudian diuapkan atau evaporasi yang bertujuan untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya yaitu etanol.

Pengujian selanjutnya yaitu menghitung nilai IC50 pada ekstrak. Nilai IC50 merupakan konsentrasi yang diperlukan

untuk menghambat kerja enzim sebanyak 50% . Nilai IC50 dijadikan sebagai parameter untuk menunjukkan kemampuan inhibisi enzim. Menurut Rita Widyawati (2014) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa kemampuan inhibisi masing-masing aksesi kumis kucing terbagi menjadi tiga kategori, yaitu kuat (≤ 61.46), sedang ($61.46 < \mu \leq 72.02$), dan lemah (> 72.02). Pembagian kategori ini diperoleh melalui metode analisis statistik yaitu, pendugaan nilai tengah dengan memanfaatkan sebaran penarikan contoh bagi T. Nilai IC50 yang semakin kecil menunjukkan kemampuan inhibisi terhadap aktivitas enzim semakin kuat. Nilai IC50 ditentukan menggunakan persamaan regresi linier, dimana sumbu x menunjukkan konsentrasi sampel dan sumbu y menunjukkan % penghambatan. Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan nilai R2 yang mendekati 1 yaitu 0.9235, persamaan regresi linier yang didapat yaitu $y = 1.2683x + 4.6341$, sedangkan pada Gambar 5 dengan nilai R2 yang mendekati 1 yaitu 0,8356, dan persamaan linier yang didapat yaitu $y = 1,21995x + 16,22$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa : pada enzim α -amilase ekstrak kasar diperoleh nilai persen penghambat sebesar 19.51%, sedangkan pada enzim α -amilase murni diperoleh nilai persen penghambat sebesar 31.70%; sedangkan pada enzim α -amilase ekstrak kasar diperoleh nilai IC50 sebesar 35.76 ppm, sedangkan pada enzim α -amilase murni diperoleh nilai IC50 sebesar 27.69 ppm. Hal ini menandakan bahwa ekstrak daun pacar kuku tergolong memiliki kemampuan inhibisi yang kuat dalam menghambat kedua enzim tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih terutama ditujukan kepada para Pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan dukungan dan banyak bantuan kepada peneliti sehingga penelitian ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Chaundhary, D., & Goyal, S. a. (2010, 2 (2)).
Lawsonia inermis linnaeus: A
Phytopharmacological Review.
*International Journal of
Pharmaceutical Sciences and Drug
Research*, hal. 91-98.
- Chethan, J., & Bb, P. &. (2016). *Assessment of
Salivary Alpha Amylase level in
subjects with Diabetes Mellitus-A Cross
Sectional Study*. 2 (September), 79-82.
- Chikaraddy, A., Maniyar, Y., & Mankapur, B.
(2012). Hypoglycemic Activity of
Ethanollic Extract of Lawsonia inermis
Linn, (Henna) in Alloxan Induced
Diabetic Albino Rats. *International
Journal of Pharmacy and Biological
Sciences*, hal. 2(4): 289-291.
- Imam, H., Mahbub, N. U., & Khan, F. (2013).
*Alpha Amylase Enzyme Inhibitory and
Anti-inflammatory Effect of Lawsonia
inermis*. 1-5: Pakistan Journal of
Biological Science.
- Lima-Aragao, M., de, O.-J. J., Maciel, M., Silvi,
L., & dkk. (2016). *Salivary profile in
diabetic patients: biochemical and
immunological evaluation*. *BMC
Research Notes*. Available from:
doi:10.1186/s13104-016-1881-1:
online.
- Vaibhav, S., & Lakshaman, K. (2012, 3 (3)).
Tyrosinase Enzyme Inhibitory Activity
of Selected Indian Herbs. *International*

Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science, hal. 977-982.

WHO. (2016). *Global report on diabetes*. 978:88.

Zubardiah, L., Nurul, D., & Auerkari, E. (2007). The Antibacterial effect of Henna (*Lawsonia inermis* Linn.) Leaves from

different parts of the plant against *Streptococcus Mutans*. *Paper Proceedings, Asialink International Conference On Biomedical Engineering & Technology*, Jakarta. Indonesia. 256-261.

Jurnal Ilmiah Kesehatan Mandala Waluya (JIKMW) is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

