

Uji Inhibisi Fraksi Jamur Kuping Hitam (*auricularia polytricha*) terhadap Aktivitas Enzim α -Amilase sebagai Antidiabetes secara *In Vitro*

Djati Wulan Kusumo^{1*)}, Adelia Dwi Puspitasari¹, Safira Yulita Fazadini¹

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Lamongan, Jawa Timur, Indonesia

^{*)}E-mail: djati_wulan_kusumo@umla.ac.id

<p>Submit : Oktober 2024 Revisi : Mei 2025 Diterima : Januari 2026</p>	<p style="text-align: center;">ABSTRAK</p> <p>Penderita diabetes mellitus di Indonesia mengalami peningkatan menjadi 8,5% di tahun 2018. Untuk mengatasi hal tersebut dapat dilakukan dengan menghambat enzim α-amilase sehingga dapat menurunkan kadar gula dalam darah. Salah satu tanaman yang efektif menurunkan kadar gula dalam darah yaitu jamur kuping hitam (<i>Auricularia polytricha</i>). Jamur kuping hitam mengandung flavonoid yang dapat menurunkan kadar gula dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi antidiabetes dari fraksi jamur kuping hitam dengan menggunakan pelarut yang berbeda dalam menghambat enzim α-amilase. Jamur kuping hitam diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, dilanjutkan dengan fraksinasi cair-cair. Dilakukan skrining fitokimia dan uji <i>in vitro</i> enzim α-amilase menggunakan reagen dinitrosalisilat (DNS) pada fraksi yang diperoleh yaitu fraksi kloroform, etil asetat dan air. Penghambatan enzim α-amilase dilakukan pada konsentrasi 50; 100; 200; 400; 600; 800 dan 1000 ppm. Data dianalisis secara deskriptif dengan menghitung persentase penghambatan dan nilai IC₅₀. Dari hasil penelitian diketahui bahwa terdapat flavonoid pada fraksi air; steroid pada fraksi kloroform; dan flavonoid pada fraksi etil asetat. Nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat adalah 99,606 μg/mL dalam kategori kuat dan air adalah 99,714 μg/mL dalam kategori kuat, sedangkan fraksi kloroform adalah 166,398 μg/mL dalam kategori lemah. Fraksi etil asetat menunjukkan penghambatan tertinggi dibanding fraksi lain.</p> <p>Kata Kunci: Antidiabetes, Enzim A-Amilase, IC₅₀, <i>In Vitro</i>, Jamur Kuping Hitam, <i>Auricularia Polytricha</i></p>
---	--

Inhibition Test Of Black Ear Mushroom Fractions On α -Amilase Enzym Activity As Antidiabetes In Vitro

ABSTRACT

*Diabetes mellitus in Indonesia has increased to 8.5% in 2018. To overcome this can be done by inhibiting the α -amylase enzyme so that it can reduce blood glucose. One herbal plant that is effective in lowering blood sugar levels is black ear mushroom (*Auricularia polytricha*). Black ear mushroom contains flavonoids that have the potential to reduce blood glucose levels. The purpose of this study was to determine*

the antidiabetic potential of black ear mushroom fraction using different solvents in inhibiting α -amylase enzyme. Black ear mushroom was extracted using maceration method with methanol solvent and then liquid-liquid fractionation. The water, chloroform and ethyl acetate fractions of black ear fungus obtained were subjected to phytochemical screening and α -amylase enzyme testing in vitro using dinitrosalicylate (DNS) reagent. Inhibition of α -amylase enzyme was carried out at concentrations of 50; 100; 200 400; 600; 800 and 1000 ppm. Data analysis was done descriptively by calculating % inhibition and IC_{50} value. The results showed that there were flavonoids in the water fraction; steroids in the chloroform fraction; and flavonoids in the ethyl acetate fraction. The IC_{50} value of the ethyl acetate fraction was 99,606 $\mu\text{g/mL}$ in the strong category and water was 99,714 $\mu\text{g/mL}$ in the strong category, while the chloroform fraction was 166,398 $\mu\text{g/mL}$ in the weak category. The ethyl acetate fraction showed the highest inhibition compared to other fractions.

Keywords: Antidiabetes, Enzyme α -amylase, IC_{50} , In Vitro, Black Ear Mushroom, *Auricularia polytricha*.

1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik kronis, ditandai dengan tingginya kadar gula dalam darah, yang tingkat keparahannya terus meningkat di seluruh dunia [1]. Menurut International Diabetes Federation (IDF), Indonesia menduduki peringkat kelima dengan 19,5 juta orang dengan diabetes mellitus dalam rentang umur 20 hingga 79 tahun [2]. Jika tidak dikelola dengan baik, diperkirakan pada tahun 2030 mendatang terdapat sebanyak 21,3 juta penyandang DM di Indonesia.[1,3].

Tubuh tidak lagi mampu memproduksi atau menggunakan insulin secara efektif sehingga menyebabkan peningkatan kadar gula darah dan terjadilah DM [4]. Diabetes mellitus terbagi menjadi beberapa tipe, salah satunya adalah diabetes melitus tipe 2. Jenis diabetes ini lebih umum terjadi karena diabetes tipe ini mencapai 90-95% dari populasi diabetes mellitus [5]. Salah satu strategi penting untuk mengobati DM tipe 2 adalah dengan mengontrol kadar glukosa *postprandial* [6]. Hal ini dicapai dengan menunda penyerapan glukosa dengan menghambat enzim saluran pencernaan yang menghidrolisis karbohidrat [1].

Enzim α -amilase adalah enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat, bekerja dengan memecah karbohidrat menjadi karbohidrat sederhana dan glukosa [3]. Penghambatan enzim α -amilase dapat membatasi kadar gula darah dengan memperlambat atau menunda proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat [7]. Akarbose merupakan inhibitor α -glukosidase dan α -amilase oral yang digunakan dalam pengelolaan DM tipe 2. Akarbose mengurangi dan memperlambat penyerapan glukosa di usus, sehingga kadar glukosa darah *postprandial* menurun [8]. Efek samping pada saluran pencernaan seperti mual, muntah, sakit perut dan kembung dapat muncul sebagai akibat dari penggunaan akarbose dalam jangka panjang, sehingga dilakukan pendekatan pengobatan dengan bahan alam dengan khasiat yang sama dan efek samping yang minimal [9,10].

Salah satu tanaman herbal yang memiliki efek menurunkan kadar gula darah yaitu jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) [11–13]. Jamur kuping hitam mengandung senyawa polisakarida, flavonoid dan steroid [12,14,13]. Polisakarida memainkan fungsi penting dalam perlindungan sel β -pankreas sehingga meningkatkan sekresi insulin [15]. Flavonoid menghambat dengan membentuk kompleks antara α -amilase-flavonoid yang menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh α -amilase karena situs aktif α -amilase (tempat berikatannya

dengan substrat) tidak dapat mengenali struktur senyawa kompleks yang terbentuk antara pati dan flavonoid, sehingga enzim tidak dapat beraktivitas [2].

Jamur kuping hitam mempunyai potensi sebagai antidiabetes karena adanya metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Untuk mengetahui efek penghambatan fraksi jamur kuping hitam terhadap enzim α -amilase berdasarkan jenis pelarut yang berbeda sehingga dengan dapat diketahui fraksi manakah yang mempunyai aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase paling besar.

2. METODE PENELITIAN

Untuk penelitian eksperimental berisi penjelasan tentang rancangan penelitian, alat dan bahan, cara kerja, pengambilan sampel, analisis statistik, dan pertimbangan etik (bila ada) dan diberikan keterangan sub bab yang jelas.

2.1. Alat dan Bahan

2.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *microplet reader* (BioTek EPOCH2NSC), *microwell 96 wells* (Biologix), *rotary evaporator* (IKA RV 8 V), *neraca analitic* (Durascale DAB-E223), *hot plate* (Maspion S-300), mikropipet (*Dragonlab*), seperangkat alat maserasi dan peralatan gelas.

2.1.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain simplisia jamur kuping hitam, metanol, aquadest, enzim α -amilase, akardiose, besi (III) klorida (FeCl_3), asam klorida (HCl), asam asetat anhidrat ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$), serbuk magnesium (Mg), dimetil sulfoksida (DMSO), dinatrium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4), natrium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4), natrium hidroksida (NaOH), amilum (pati beras), kloroform, etil asetat.

2.2 Prosedur Penelitian

2.2.1 Determinasi Tanaman

Jamur Kuping Hitam ini didapatkan dari Dusun Karangjuwet, Desa Donowarih, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang, Jawa Timur dideterminasi di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, Jawa Tengah.

2.2.2 Preparasi Sampel

Simplisia kering jamur kuping hitam dilakukan pembuatan serbuk dengan cara diblender. Kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no 40 [16].

2.2.3 Ekstraksi

Serbuk simplisia jamur kuping hitam 500 gram dimaserasi dengan metanol (1:5 b/v) sebanyak 2500 mL selama 3x24 jam kemudian ekstraknya dilakukan penyaringan. Diperoleh filtrat dan residu, untuk residunya dilakukan remaserasi sebanyak 3 kali. Filtrat yang diperoleh digabungkan, pelarut kemudian diuapkan dari filtrat yang dihasilkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental jamur kuping hitam. Kemudian dihitung rendemennya [17,18].

2.2.4 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan metode cair-cair menggunakan tiga pelarut yaitu air, etil asetat dan kloroform berdasarkan tingkat kepolarannya menggunakan perbandingan (1:1). Semua ekstrak kental jamur kuping hitam dilarutkan dengan air hangat sebanyak 200 mL dan dimasukkan ke dalam corong pisah, serta kloroform dengan volume yang sama ditambahkan kedalam corong pisah, dikocok kuat hingga diperoleh lapisan kloroform dan lapisan air, kemudian kedua lapisan tersebut dipisahkan. Pada lapisan air, ditambahkan etil asetat, dikocok kuat hingga diperoleh lapisan etil asetat dan lapisan air, kemudian kedua lapisan tersebut dipisahkan. Masing-masing fase yang terbentuk kemudian dipisahkan dalam wadah yang berbeda sehingga diperoleh larutan fraksi kloroform, etil asetat dan air. Fraksi yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Kemudian dihitung rendemennya [17,19].

2.2.5 Skrining Fitokimia

Alkaloid

Uji alkaloid dapat dilakukan dengan metode wagner test, yaitu dengan cara larutan sampel fraksi jamur kuping hitam dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambahkan beberapa tetes reagen wagner. Terbentuknya endapan cokelat kehitaman menunjukkan adanya alkaloid [20].

Flavonoid

Larutan sampel fraksi jamur kuping hitam ditempatkan pada pelat tetes dan kemudian ditambahkan bubuk magnesium dan HCl pekat. Terbentuknya warna merah-oranye menunjukkan adanya flavonoid [21].

Saponin

Larutan sampel fraksi jamur kuping hitam ditambahkan ke dalam 10 mL akuades dan dikocok dengan kuat selama 10 menit. Hasilnya positif jika terbentuk busa stabil setinggi 1-10 cm dalam waktu tidak kurang dari 10 menit dan jika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, busa tidak hilang [22].

Tanin

Uji tanin dilakukan dengan metode *ferric chloride test*, yaitu dengan cara larutan fraksi jamur kuping hitam sebanyak 1 ml ditambahkan 5% larutan besi klorida (FeCl₃). Pembentukan warna hitam-hijau atau hitam-biru menunjukkan adanya tanin [23].

Triterpenoid dan Steroid

Larutan sampel fraksi jamur kuping hitam ditempatkan di plat tetes kemudian ditambahkan pereaksi *Libermann-Bouchardat* beberapa tetes. Terbentuknya warna hijau-biru menandakan terdapat steroid serta jika terbentuk warna merah-ungu menandakan terdapat triterpenoid [24].

2.2.6 Uji Akrivitas Penghambatan Enzim α -amilase

Pengujian penghambatan fraksi jamur kuping hitam terhadap aktivitas enzim α -amilase menggunakan metode DNS. Pembuatan larutan uji dapat dilihat pada Tabel 1 lalu diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 540 nm.

Tabel 1. Pengujian Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase

Larutan	Volume (μ L)					
	B1	B0	S1	S0	A1	A0
Sampel	-	-	150	150	-	-
Akarbose	-	-	-	-	150	150
Dapar fosfat pH 6,9	400	800	250	650	250	650
Enzim α -amilase	400	-	400	-	400	-
Inkubasi 30 menit, suhu 37°C						
Amilum	50	50	50	50	50	50
Inkubasi 30 menit, suhu 37°C						
DNS	25	25	25	25	25	25

2.2.7 Analisis Data

Dari nilai absorbansi yang diperoleh dianalisis dengan menentukan persen inhibisi menggunakan rumus sebagai berikut [25]:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left[\frac{(B1-B0)-(S1-S0)}{(B1-B0)} \right] \times 100\% \dots\dots\dots$$

(1)

Keterangan:

B1= absorbansi blanko;

B0: absorbansi kontrol blank;

S1: absorbansi sampel;

S0: absorbansi kontrol sampel

Nilai IC_{50} kemudian dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier dimana konsentrasi sampel menjadi sumbu x dan % inhibisi menjadi sumbu y. Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan

$$Y = a + bx \dots\dots\dots$$

(2)

Persamaan regresi yang dihasilkan digunakan untuk menentukan nilai IC_{50} dengan menggunakan rumus sebagai berikut [26]:

$$IC50 = \frac{(50-a)}{b} \dots\dots\dots$$

(3)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Ekstraksi dan Fraksinasi Jamur Kuping Hitam

Hasil persen rendemen ekstrak kental jamur kuping hitam didapatkan sebesar 2,6%. Bobot rendemen diperlukan untuk mengetahui berapa banyak ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Bobot rendemen berhubungan dengan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak. Semakin besar bobot rendemen maka jumlah metabolit sekunder yang terdapat dalam sampel juga semakin banyak [27]. Dimana dari hasil rendemen yang diperoleh tidak memenuhi persyaratan. Persyaratan hasil rendemen ekstrak kental ialah tidak kurang dari 10% [28]. Hasil rendemen yang diperoleh dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu proses pengadukan ketika maserasi, jenis pelarut dan waktu saat ekstraksi. Pengadukan ketika proses maserasi dapat mempengaruhi jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan. Semakin lama waktu pengadukan, semakin tinggi juga rendemen ekstrak yang dihasilkan [29].

Tabel 2. Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi Jmur Kuping Hitam

Sampel	Berat Hasil Ekstrak (gram)	%Rendemen
Ekstrak Jamur Kuping Hitam	13,073	2,61
Fraksi Kloroform	2,582	19,7
Fraksi Etil Asetat	1,721	13,167
Fraksi Air	1,252	9,576

Berdasarkan hasil pada **Tabel 2**, Persen rendemen yang diperoleh dari fraksinasi menggunakan kloroform mendapatkan jumlah yang terbanyak diikuti dengan fraksinasi dari etil asetat dan kemudian yang paling sedikit untuk menarik rendemen yaitu fraksinasi yang menggunakan air. Hal ini disebabkan karena setiap pelarut mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam menarik senyawa pada saat proses fraksinasi [2].

3.2. Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ditunjukkan pada **Tabel 3**, fraksi kloroform mengandung metabolit sekunder steroid. Fraksi etil asetat mengandung metabolit sekunder flavonoid dan fraksi air mengandung metabolit sekunder flavonoid.

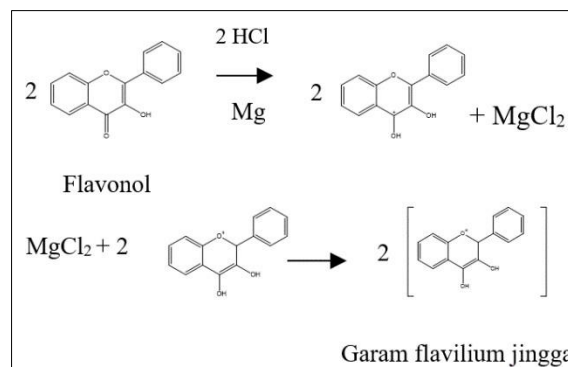
Tabel 3. Hasil Uji Skrining Fitokimia Fraksi Jamur Kuping Hitam

Metabolit Sekunder	Hasil Uji		
	Fraksi Kloroform	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	-	+	+
Saponin	-	-	-
Tanin	-	-	-
Triterpenoid dan Steroid	+	-	-

Keterangan: (+) = positif mengandung senyawa; (-) = negatif mengandung senyawa

Pengujian alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi *wagner*. Hasil positif pada uji wagner ditandai dengan terbentuknya endapan cokelat kehitaman. Endapan yang terbentuk disebabkan karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dengan alkaloid, sehingga terjadi pembentukan dan pengendapan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [30]. Hasil pengujian menunjukkan bahwa beberapa fraksi menunjukkan hasil negatif mengandung alkaloid.

Keberadaan flavonoid diuji dengan menggunakan bubuk Mg dan HCl. bubuk Mg dan HCl ditambahkan pada setiap fraksi jamur kuping hitam dan terbentuk warna jingga pada fraksi etil asetat dan air serta tidak terbentuk warna jingga pada fraksi kloroform, hal ini menunjukkan bahwa sampel tersebut mengandung flavonoid. Senyawa flavonoid tereduksi oleh serbuk Mg dan HCl sehingga terbentuk warna merah-jingga [31]. Reduksi senyawa flavonoid yang terdapat dalam ekstrak dengan Mg^{2+} dan HCl pekat akan membentuk kompleks $[Mg(OAr)^6]^{4-}$ berwarna jingga. [32]. Warna tersebut merupakan garam flavilium yang terbentuk dari penambahan HCl pekat dan serbuk magnesium. Larutan HCl dan magnesium akan bereaksi dan mereduksi inti benzopiron pada struktur flavonoid [33]. Adapun persamaan reaksinya adalah sebagai berikut [21]:

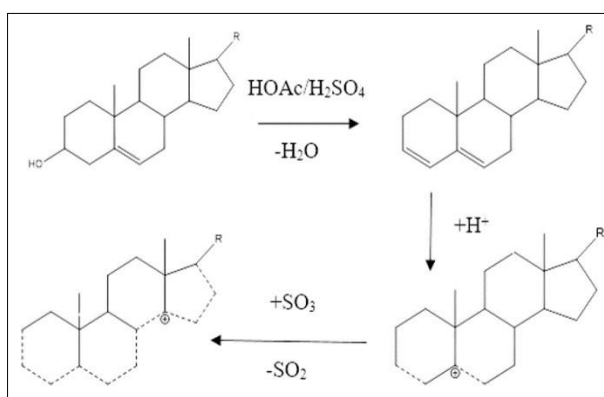


Gambar 1. Reaksi Favonoid dengan Mg dan HCl

Uji saponin dilakukan dengan menggunakan metode *forth*. terbentuknya busa pada mengindikasikan terdapat glukosida pada fraksi yang memiliki kemampuan untuk membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi gula serta senyawa lainnya. [22]. Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwasannya semua fraksi tidak mengandung saponin dikarenakan tidak terbentuk busa ketika dilakukan uji. Busa yang terbentuk disebabkan karena saponin mengandung senyawa yang sebagian larut dalam air dan larut dalam pelarut non polar, yang berperan sebagai surfaktan dan dapat menurunkan tegangan permukaan. Ketika dikocok, gugus hidrofilik bergabung dengan air dan gugus hidrofobik dengan udara membentuk busa. [31].

Uji tanin menggunakan pereaksi FeCl_3 . Hasil positif tanin ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam-hijau atau hitam-biru pada sampel uji. Hasil penelitian ini diketahui bahwasannya semua fraksi negatif mengandung tanin. Pada uji tanin, perubahan warna disebabkan oleh adanya reaksi antara FeCl_3 dengan gugus hidroksil yang terdapat pada tanin. Penambahan FeCl_3 menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru kehitaman setelah ditambahkan dengan FeCl_3 karena tanin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 [34,31].

Uji triterpenoid dan steroid menggunakan pereaksi *Liebermann-Bouchard*. Prinsip pengujian triterpenoid dan steroid didasarkan pada kemampuan triterpenoid dan steroid untuk menghasilkan warna ketika asam sulfat pekat ditambahkan ke asam asetat. Jika menghasilkan warna merah, menandakan positif triterpenoid dan positif steroid jika menghasilkan warna hijau [21]. Dari hasil uji skrining fitokimia bahwasannya semua fraksi menunjukkan hasil negatif triterpenoid karena tidak terbentuk warna merah (triterpenoid) akan tetapi menunjukkan hasil positif pada steroid terbentuk warna hijau. Pada uji steroid menunjukkan hasil positif dikarenakan terdapat pelepasan air dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi dimulai dengan pelepasan gugus hidrogen dan elektronnya, akibatnya ikatan rangkap berpindah. Senyawa beresonansi dan bertindak sebagai elektrofil dan karbokation. Serangan karbokation menimbulkan penambahan elektrofilik dan diikuti oleh pelepasan hidrogen. Gugus hidrogen dan elektronnya akan lepas, sehingga senyawa tersebut mengalami pemanjangan konjugasi dan membentuk warna hijau. [22]. Adapun persamaan reaksi dari uji steroid sebagai berikut [35]:



Gambar 2. Reaksi Steroid dengan *Liebermann-Bouchard*

3.3. Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -amilase oleh fraksi kloroform, etil asetat dan air jamur kuping hitam dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan *microplate reader*.

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan inhibisi enzim α -amilase dari fraksi jamur kuping hitam dengan pelarut yang berbeda dalam menghidrolisis pati menjadi gula yang sederhana. Penghambatan terhadap enzim α -amilase dapat menunda dan memperlama waktu cerna karbohidrat sehingga menyebabkan penurunan laju absorpsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar gula *postprandial* [36].

Uji aktivitas inhibisi enzim α -amilase dilakukan dengan mengukur total gula pereduksi berdasarkan metode asam dinitrosalisilat (DNS) dengan menggunakan pati sebagai substrat. Prinsip uji dengan metode DNS adalah dengan mengamati reaksi antara maltosa dan glukosa dengan DNS, sehingga membentuk warna yang kompleks dengan larutan uji dan menjadi indikator adanya gula pereduksi [37].

Dilakukan rangkaian pengujian pada beberapa kelompok, yaitu blanko, kontrol blanko, sampel dan kontrol sampel. Sampel yang digunakan yaitu fraksi air, kloroform dan etil asetat jamur kuping hitam serta akarbose. Penggunaan akarbose sebagai pembanding karena akarbose merupakan obat diabetik oral yang dapat dapat memperlambat penyerapan gula setelah makan dengan menunda hidrolisis karbohidrat, disakarida dan absorpsi [36,38].

Pengujian aktivitas enzim α -amilase pada prosesnya dilakukan inkubasi pada suhu 37°C. Dilakukan inkubasi pada suhu 37°C karena suhu tersebut adalah suhu enzim α -amilase dapat bekerja [36]. Pengujian ini menggunakan *microplate reader* sehingga diketahui nilai absorbansi kontrol dan absorbansi sampelnya. Nilai absorbansi kontrol dan absorbansi sampel tersebut digunakan untuk menghitung % inhibisi atau kemampuan menghambatnya. Untuk mendapatkan persamaan regresi linier maka dibuat kurva baku antara % inhibisi fraksi jamur kuping hitam dan juga akarbose terhadap konsentrasi masing-masing.

Tabel 4. Hasil % Inhibisi Fraksi Enzim α -amilase Fraksi Jamur Kuping Hitam dan Acarbose

Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi (%)			
	Fraksi Kloroform	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air	Akarbos
50	5,88	16,6	15,38	18,1
100	11,76	25	15,38	27,2
200	17,64	33,3	30,76	36,3
400	23,52	41,6	30,76	45,4
600	29,41	50	46,15	54,5
800	35,29	58,3	53,84	63,6
1000	41,17	66,6	61,53	72,7

Fraksi kloroform, etil asetat dan air jamur kuping hitam yang memiliki aktivitas penghambatan yang paling besar hingga yang terkecil berturut-turut dilihat dari nilai % inhibisi pada konsentrasi 1000 ppm yakni fraksi etil asetat, fraksi air dan fraksi kloroform sehingga mampu untuk menghambat enzim α -amilase. Aktivitas inhibitor α -amilase

akarbose lebih baik dari fraksi jamur kuping hitam, karena dilihat dari nilai % inhibisi akarbose pada konsentrasi 1000 ppm mempunyai nilai % inhibisi yang lebih besar yaitu 72,7% daripada fraksi kloroform, air dan etil asetat pada konsentrasi 1000 ppm yang mempunyai nilai % inhibisi berturut-turut yaitu 41,17%, 66,6 % dan 61,53%. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin tinggi aktivitas penghambatan enzim [27]. Nilai % penghambatan yang diperoleh dihitung sehingga didapatkan nilai IC_{50} untuk setiap fraksi yang diuji.

Tabel 5. Hasil Nilai IC_{50} Fraksi Jamur Kuning Hitam dan Akarbose

Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Fraksi Kloroform	166,398
Fraksi Etil Asetat	99,606
Fraksi Air	99,714
Akarbose	99,570

IC_{50} merupakan jumlah konsentasi penghambat yang mampu menghambat enzim α -amilase hingga 50% [39]. Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas penghambatan semakin tinggi dan baik [37]. Nilai IC_{50} dibagi menjadi 5 kategori: sangat kuat, jika $IC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$, kuat jika $IC_{50} 50-100 \mu\text{g/mL}$, sedang jika $IC_{50} 101-150 \mu\text{g/mL}$, lemah jika $IC_{50} 151-200 \mu\text{g/mL}$ dan sangat lemah, jika $IC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$ [40].

Fraksi jamur kuping hitam dengan nilai IC_{50} terbaik adalah fraksi etil asetat dengan nilai 99,606 $\mu\text{g/mL}$ yang masuk kategori penghambatan kuat. Fraksi air menunjukkan hasil nilai IC_{50} sebesar 99,714 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk dalam kategori kuat, dan fraksi kloroform menunjukkan nilai 166,398 $\mu\text{g/mL}$ yang termasuk dalam kategori lemah. Akarbose pada penelitian ini digunakan sebagai pembanding dalam melihat aktivitas inhibisi enzim α -amilase. Dikarenakan akarbose adalah obat antidiabetes, terutama pada diabetes melitus tipe 2 yang dapat menghambat kerja enzim α -amilase, dengan demikian menunda pencernaan karbohidrat, mengurangi penyerapan glukosa serta mencegah kenaikan glukosa plasma *postprandial* [41].

Fraksi etil asetat masuk kategori penghambatan kuat terhadap enzim α -amilase. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid. *Quercetin* dan *galangin* termasuk flavonoid dari kelompok flavonol yang dibuktikan penghambatannya terhadap enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 57,37 $\mu\text{g/mL}$ dan 4,52 $\mu\text{g/mL}$ [42–44]. Flavonol merupakan flavonoid yang bersifat kurang polar, sehingga dapat ditarik dengan pelarut yang memiliki polaritas rendah seperti etil asetat [45]. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa quercetin dan galangin diduga banyak tertarik pada fraksi etil asetat. Senyawa-senyawa tersebut menunjukkan bahwa adanya penghambatan

terhadap enzim α -amilase. Mekanisme penghambatan enzim α -amilase tersebut terjadi dimana sisi aktif dari enzim α -amilase berikatan dengan senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat yang mengakibatkan enzim tidak dapat berikatan dengan pati sebagai substrat sehingga proses absorpsi terhambat dan kadar glukosa dalam darah menurun [3].

Fraksi air tergolong sebagai penghambat kuat terhadap enzim α -amilase. Hal tersebut dikarenakan adanya kandungan fitokimia yang memiliki potensi dalam dapat menghambat enzim α -amilase. Diketahui bahwa senyawa *baicalein* dan *oroxylin* yang masuk dalam golongan flavonoid yang diisolasi dengan menggunakan pelarut polar dan memiliki aktivitas penghambatan enzim α -amilase masing-masing sebesar 46,78 $\mu\text{g/mL}$ dan 3,3 $\mu\text{g/mL}$. [45,46]. Flavonoid *baicalein* dan *oroxylin* merupakan Senyawa yang berperan dalam penghambatan enzim α -amilase dalam fraksi air. Dimana mekanismenya sama seperti yang telah dijelaskan sebelumnya yaitu flavonoid akan menempel pada sisi aktif enzim sehingga menghambat pati sebagai substrat untuk berikatan dengan enzim α -amilase yang menyebabkan hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa dalam usus terhambat dan kadar glukosa dalam darah menurun [3,15].

4. KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwasannya fraksi etil asetat dan fraksi air jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa dalam darah melalui penghambatan enzim α -amilase dan fraksi kloroform memiliki aktivitas yang lemah dalam menurunkan kadar gula dalam darah melalui penghambatan enzim α -amilase. Nilai IC_{50} dari fraksi kloroform, fraksi etil asetat dan fraksi air jamur kuping hitam (*Auricularia polytricha*) saat menghambat enzim α -amilase adalah 166,398 $\mu\text{g/mL}$; 99,606 $\mu\text{g/mL}$; 99,714 $\mu\text{g/mL}$. Fraksi kloroform masuk kategori lemah, sedangkan fraksi etil asetat dan fraksi air masuk kategori kuat. Fraksi yang menunjukkan aktivitas penghambatan terbesar terhadap enzim α -amilase adalah fraksi etil asetat.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Universitas Muhammadiyah Lamongan yang telah menyediakan fasilitas laboratorium selama penelitian ini.

6. PENDANAAN

Di dalam penelitian ini tidak didanai pihak manapun.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (authorship), dan atau publikasi artikel ini.

8. DAFTAR PUSTAKA

- 1) Abdulkareem MA, Owolabi BA, Saheed ES, Aromolaran RF, Bashiru RM, Jumah TA, et al. Genetic Factors And The Role Of Pancreatic Amylase In The Pathogenesis Of Type 2 Diabetes. *Egypt J Med Hum Genet* [Internet]. 2024;25(1). Available from: <https://doi.org/10.1186/s43042-024-00505-6>
- 2) Cahyaningrum N. Hubungan Pola Makan 3J (Jumlah, Jenis, Jadwal) Dan Perilaku Sedentari Dengan Pengendalian Gula Darah Pasien Dm Tipe 2. *Nutr Res Dev J*. 2023;03(1):12–23.
- 3) Melinda NA, Kusumo DW, Sari DIK. Aktivitas Antidiabetes Beberapa Fraksi daun Mimba (*Azadirachta indica*) Secara *In Vitro* Berdasarkan Penghambatan Enzim α -Amilase. *Farm dan Farmakol*. 2023;27(3):82–7.
- 4) Muhammad AA. Resistensi Insulin dan Sekresi Insulin dari Faktor-Faktor yang Menyebabkan Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2018;8(2):173–8.
- 5) Alda L, Program A, Farmasi S, Ilmu F, Universitas K, Karawang S, et al. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase oleh Ekstrak Herba Ciplukan (*Physalis Angulate L*) Secara *In Vitro*. *J Ilm Wahana Pendidik* [Internet]. 2022;8(15):335–46. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.7049485>
- 6) Holiday D, Yasmin Y, Christianty FM. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam dan Teh Hijau secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase. *Pustaka Kesehat*. 2018;6(2):235.
- 7) Rashid F, Ahmad M, Ashfaq UA, Al-Mutairi AA, Al-Hussain SA. Desain, Sintesis, dan Evaluasi Farmakologis 2-(3-Benzoyl-4-Hidroksi-1,1-Dioksido-2H-Benzof[e] [1,2] tiazin-2-yl)-N-(2-Bromofenil) Asetamida sebagai Agen Antidiabetik. 2022;16:4043-4060;<https://doi.org/10.2147/DDDT.S379205>
- 8) Obloh G, Babatunde O, Damilola M, Adeniyi S. Influence Of Gallic Acid on α -amylase and α -glucosidase Inhibitory Properties Of Acarbose. 2016;4:2–9.
- 9) Yuniarto A, Selifiana N. Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-glukosidase dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb .*) Secara *In Vitro*. *Media Phaemaceutica Indonesia*. 2018;2(1):98–101.11.
- 10) Wu NJ, Chiou FJ, Weng YM, Yu ZR, Wang BJ. In Vitro Hypoglycemic Effects of Hot Water Extract from *Auricularia polytricha* (wood ear mushroom). *Int J Food Sci Nutr*. 2014;65(4):502–6.
- 11) Sanico JDL, Vicencio MCG. Antibacterial property of *Auricularia polytricha* Mont. and *Trametes versicolor* Linn. *Adv Pharm J*. 2019;4(1):35–40.
- 12) Abang AC, G. E A. *Auricularia Polytricha* (Mushroom) Regulates Testicular DNA Expression and Oxidative Stress Markers of Streptozotocin-Induced Diabetic Male Wistar Rat. *Int J Nutr*. 2020;5(3):7–15.
- 13) Gloria Claudia Kastanja, Aulia Rahmi Pawestri, Zahrah Firdaus, Felita Galih Perwita Sari, Michelle Anisa Ujjianto, Khonsaa Aadilah, et al. *Auricularia polytricha*: A Promising Medicinal Mushroom for Combination Therapy Of Colorectal Cancer and Understanding Its Potential Mechanism of Action. *World J Adv Res Rev*. 2023;17(2):365–77.
- 14) Ganesan K, Xu B. Anti-diabetic Effects and Mechanisms of Dietary Polysaccharides. *Molecules*. 2019;24(14).

- 15) Pujiastuti E, Andreana D. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Pepaya (*Carica papaya* L.). Menara J Heal Sci IAKMI Kabupaten Kudus Institut Teknologi Kesehatan Cendekia Utama Kudus, Indones [Internet]. 2022;1(2):58–71. Available from: <http://jurnal.iakmikudus.org/index.php/mjhs>
- 16) Kifle ZD, Enyew EF. Evaluation of In Vivo Antidiabetic, In Vitro α -Amylase Inhibitory, and In Vitro Antioxidant Activity of Leaves Crude Extract and Solvent Fractions of Bersama abyssinica Fresen (Melianthaceae). J Evidence-Based Integr Med. 2020;25:1–11.
- 17) Rifai B, Ihsan P, Farmasi J, Kedokteran F, Brawijaya U, Malang JV, et al. Validasi Metode Ultra High Performance Chromatography Double Mass Spectrometry (UHPLC-MS/MS) untuk Analisis Kurkumin pada Ekstrak Etanol Kunyit (*Curcuma longa*) dengan Berbagai Perbandingan. Pharm J Indones. 2018;2018(1):29–34.
- 18) Ardiansyah AK, Ramayani SL. Uji Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Fraksi Daun Kitolod (*Isotoma longiflora* L.). Cendekia J Pharm. 2022;6(2):301–6.
- 19) Nurjannah I, Mustariani Baa, Suryani N. Skrining Fitokimia Dan Uji Antibakteri Ekstrak Kombinasi Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Dan Kelor (*Moringa oleifera* L.) Sebagai Zat Aktif Pada Sabun Antibakteri. SPIN J Kim Pendidik Kim [Internet]. 2022;4(1):23–36. Available from: <https://journal.uinmataram.ac.id/index.php/spin>
- 20) Afriani N, Idiawati N, Alimudidin AH. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva Artemia salina. J Kim Khatulistiwa [Internet]. 2016;5(1):58–64. Available from: <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/13390>
- 21) Hidayat, M. T., Isnindar, & Luliana, S. Skrining Fitokimia Fraksi Daun Buas-buas (*Premna serratifolia* L.) dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.). Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN. 2021; 5(1), 1–6.
- 22) Sonam M, Singh RP, Saklani P. Phytochemical Screening and TLC Profiling of Various Extracts of Reinwardtia indica. Int J Pharmacogn Phytochem Res. 2017;9(4).
- 23) Fitriani, D., & Lestari, D. Uji Karakteristik dan Skrining Fitokimia pada Fraksi Etil Asetat Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* kostem). Borneo Student Research (BSR). 2022; 3(2), 2200–2207. <https://journals.umkt.ac.id/index.php/bsr/article/view/2869>
- 24) Sy SD, Nst MR, Novianty R. Analisis Uji Infusa Buah Petai Cina, Daun Keji Beling Dan Daun Tempuyung Sebagai Inhibitor Enzim α -Amilase Dan α -Glukosidase. J Ris Kim. 2019;10(1):44–50.
- 25) Wirasti W, Lestari T, Isyti'aroh I. Penghambatan Ekstrak Daun Kremah (*Alternanthera Sessilis*) Terhadap Enzim α -amilase secara *In-Vitro*. Pharmacon J Farm Indones. 2021;18(1):68–74.
- 26) Lamadjido SR, Umrah U, Jamaluddin J. Formulasi dan Analisis Nilai Gizi Bakso Kotak dari Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). J Farm Galen (Galenika J Pharmacy). 2019;5(2):166–74.
- 27) Kemenkes RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. 2017.
- 28) Handarni D, Putri SH, Tensiska T. Skrining Kualitatif Fitokimia Senyawa Antibakteri pada Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). J Keteknikan Pertan Trop dan Biosist. 2020;8(2):182–8.
- 29) Sulistyarini I, Sari DA, Wicaksono TA. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). J Ilmu Cendekia Eksakta. 2019;56–62.
- 30) Oktavia FD, Sutoyo S. Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. J Kim Ris. 2021;6(2):141

- 31) Sulasmi ES, Faiqohtun Wuriana Z, Sapta Sari M, Suhadi. Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif (Flavonoid, Alkaloid, Polifenol, Saponin, Terpenoid dan Tanin) pada Ekstrak Metanol Daun dan *Rhizoma Phymatodes scolopendria* (Burm.) Ching di Taman Nasional Baluran. Prosiding Seminar Nasional IV Hayati; Malang, Jawa Timur. Malang: Universitas Negeri Malang; 2022:121–8.
- 32) Pambudi DB, Fajriyah NN, Maharisti RA. Uji Aktivitas Penghambatan α -Amylase Pada Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Menggunakan *Elisa Reader*. Urecol Journal Part C Heal Sci. 2021;1(1):1–6.
- 33) Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Skrining Fitokimia Ekstrak N-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). Indones J Chem Sci. 2018;7(1):1–4.
- 34) Pambudi DB, Fajriyah NN, Maharisti RA. Uji Aktivitas Penghambatan α -Amylase Pada Ekstrak Etanol Daun Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.) Menggunakan *Elisa Reader*. Urecol Journal Part C Heal Sci. 2021;1(1):1–6.
- 35) Gaspersz N, Grace Fransina E, Reza Ngaringan A. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase Dan α -Glukoamilase dari Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). J Kim Mulawarman. 2022;19:51–7.
- 36) Hidayah, N., Jayak Pratama, K., & Raharjo, D. Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa-Amilase Ekstrak Dan Fraksidaun Nipah (*Nypa fruticans* wurmb). Jurnal Ilmiah Wahana Pendidikan. 2023; (25), 677–684. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10433927>.
- 37) Pujiyanto S, Wijanarka W, Raharjo B, Anggraeni V. Aktivitas Inhibitor α -Amilase Ekstrak Etanol Tanaman Brotowali (*Tinospora crispa* L.). Bioma. 2019;21(2):91–9.
- 38) Maryam S. Kadar antioksidan dan IC₅₀ Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L) yang Difrementasikan dengan Lama Fermentasi Berbeda. Prosiding Seminar Nasional; Buleleng, Bali. Bali: Universitas Pendidikan Ganesha; 2015;347–52.
- 39) Junaid RH, Ardana M, Rijai L. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang Pila-Pila (*Mallotus paniculatus*) Terhadap 1,1-Diphenyl-2 Picrylhidrazyl (DPPH). Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian; Samarinda, Kalimantan Timur. Samarinda: Universitas Mulwarman; 2016;4:303–9.
- 40) Wardani, N. A. K. Enzim α -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. Jurnal Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian. 2018; 1(2), 50–59. <https://doi.org/10.26877/jiphp.v1i2.1900>
- 41) Mlcek J, Jurikova T, Skrovankova S, Sochor J. Quercetin and Its Anti-Allergic Immune Response. Molecules. 2016;21:1–15.
- 42) Raut BK, Upadhyaya SR, Bashyal J, Parajuli N. In Silico and In Vitro Analyses to Repurpose Quercetin as a Human Pancreatic α -Amylase Inhibitor. ACS Omega. 2023;8(46):43617–31.
- 43) Sheng, Z., Ai, B., Zheng, L., Zheng, X., Xu, Z., Shen, Y., & Jin, Z. Inhibitory Activities of Kaempferol, Galangin, Carnosic Acid and Polydatin Against Glycation and α -Amylase and α -Glucosidase Enzymes. International Journal of Food Science and Technology. 2018; 53(3), 755–766. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13579>
- 44) Chaves JO, Souza MC De, Capelasso L, Forster-carneiro T, Vázquez-espinoza M, González-de-peredo AV, et al. Extraction of Flavonoids From Natural Sources Using Modern Techniques. 2020
- 45) Dinesh, A., Kumar, S. L., Geethanjali, T., Dhanalakshmi, S. C., Iyyappan, V., Aravind, et al. In-Vitro and In-Silico Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Inhibitory Activity of Baicalin. Journal of Natural Remedies. 2022; 22(1), 23–32. <https://doi.org/10.18311/jnr/2022/26819>



- 46) Ng, K., Gu, C., Zhang, H., & Putri, C. Y. Evaluation of α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Flavonoids. *International Journal of Food and Nutritional Science*. 2016; 2(6), 1–6.
<https://doi.org/10.15436/2377-0619.15.042>