

***In Vitro* Antidiabetic Activity Of *Apis Dorsata* Binghami Nest Extract**

Aktivitas Antidiabetes *In Vitro* Ekstrak Sarang *Apis Dorsata* Binghami

Veronika Pratasik(*), Revolson Mege, Yermia Mokusuli

Biologi, Fakultas Matematika, Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian, Universitas
Negeri Manado, Jl. Kampus Unima, Tonsaru, Kec. Tondano Selatan., Kabupaten
Minahasa, Sulawesi Utara 95618, Indonesia

*Corresponding author: veronikapratasik4@gmail.com

Diterima 09 September 2022 dan disetujui 21 Oktober 2022

Abstrak

Indonesia berada di urutan ke-7 dari 10 negara dengan penderita diabetes mellitus tertinggi diperkirakan meningkat setiap tahunnya. Enzim α -amilase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis ikatan α -1,4 glikosidik polisakarida menghasilkan dekstrin, oligosakarida, maltose dan D-glukosa. Sarang lebah *Apis dorsata* Binghami mengandung metabolit sekunder yang berpotensi antidiabetes antara lain menghambat kerja enzim α -amilase. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi antidiabetes *in vitro* ekstrak sarang *Apis dorsata* binghami. Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif dimana data hasil penelitian diperoleh melalui eksperimen laboratorium. Ekstraksi sarang lebah menggunakan metode maserasi. Analisis kandungan total flavonoid menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Uji potensi antidiabetes menggunakan metode penghambatan enzim α -amilase. Hasil penelitian ekstraksi menunjukkan hasil % rendemen ekstrak 11,82% dengan warna kuning kecoklatan. Analisis kandungan flavonoid total menunjukkan hasil 3,33 mgQE/g. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase nilai IC_{50} ekstrak yang diperoleh sebesar $158,48 \pm 7,42$ μ g/mL, nilai akarbose sebesar $165,96 \pm 7,08$ μ g/mL. Hasil ini menunjukkan ekstrak sarang *A. dorsata* Binghami mempunyai aktivitas hiperglikemia dengan cara menghambat enzim penghidrolisis karbohidrat kompleks seperti penghambatan enzim α -amilase yang baik dibandingkan akarbose karena nilai IC_{50} ekstrak lebih kecil. Jika nilai IC_{50} lebih kecil maka penghambatan enzimnya lebih kuat. Untuk penelitian lanjutan disarankan menggunakan enzim yang lebih spesifik yaitu enzim α -glukosidase.

Kata Kunci: Antidiabetes, Enzim α -Amilase, Potensi, Sarang *Apis dorsata* Binghami

Abstract

Indonesia is ranked 7th out of 10 countries with the highest number of people with diabetes mellitus, which is estimated to increase every year. α -amylase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of α -1,4 glycosidic bonds of polysaccharides to produce dextrans, oligosaccharides, maltose and D-glucose. *Apis dorsata* Binghami honeycomb contains secondary metabolites that have antidiabetic potential, including inhibiting the action of the α -amylase enzyme. The purpose of this study was to determine the *in vitro* antidiabetic potential of *Apis dorsata* binghami nest extract. This study uses a descriptive research method where the research data are obtained through laboratory experiments. Honeycomb extraction using maceration method. Analysis of total flavonoid content using UV-Vis spectrophotometric method. Antidiabetic potency test using α -amylase enzyme inhibition method. The results of the extraction study showed that the % yield of the extract was 11.82% with a brownish yellow color. Analysis of the total flavonoid content showed the results of 3.33 mgQE/g. The inhibitory activity of the α -amylase enzyme, the IC_{50} value of the extract obtained was 158.48 ± 7.42 g/mL, the acarbose value was 165.96 ± 7.08 g/mL. These results indicate that the extract of *A. dorsata* Binghami nest has hyperglycemic activity by inhibiting complex carbohydrate hydrolyzing enzymes such as inhibition of the α -amylase enzyme which is better than acarbose because the IC_{50} value of the extract is smaller. If the IC_{50} value is smaller then

the enzyme inhibition is stronger. For further research, it is recommended to use a more specific enzyme, namely the -glucosidase enzyme.

Keywords : Antidiabetic, *Apis dorsata* Binghami Nest, Potensy, α -Amilase enzyme.



Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus is Licensed Under a CC BY SA [Creative Commons Attribution-Share a like 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). [doi https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3196](https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3196)

PENDAHULUAN

Indonesia menempati urutan ke tujuh setelah China, Amerika, Rusia dan Meksiko memiliki jumlah penderita diabetes yang terus bertambah menurut perkiraan terbaru dari IDF (*International Diabetes Federation*). Pada kehidupan manusia termasuk di Indonesia makanan banyak menjadi penyebab penyakit-penyakit yang tergolong sangat sulit disembuhkan, salah satunya adalah diabetes mellitus. Diabetes mellitus (DM) adalah gangguan kronis metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein, yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah, Disebabkan oleh penurunan sensitivitas dan sekresi insulin yang menyebabkan komplikasi mikrovaskular, makrovaskular dan neuropatik kronis (Messerli & Grossman 2001). Masyarakat pada umumnya banyak menggunakan tanaman herbal untuk pengobatan diabetes, pemanfaatan tumbuhan sebagai obat erat kaitannya dengan kandungan kimia tumbuhan terutama zat aktif biologisnya. Senyawa bioaktif yang terdapat pada tumbuhan umumnya merupakan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, terpenoid, tanin dan banyak lagi (Semuel et al., 2018).

Indonesia merupakan negara tropis dengan sumber daya alam yang melimpah tumbuhan merupakan sumber untuk obat alami dan mengandung zat aktif yang dapat digunakan sebagai penghambat enzim α -amilase (Kang et al., 2011) salah satu cara untuk menurunkan gula darah adalah dengan menghalangi aktivitas enzim α -amilase, lebah adalah serangga sosial dengan banyak manfaat kesehatan, selain menghasilkan madu lebah juga menghasilkan serbuk sari yang berkhasiat, royal jelly, propolis, lilin lebah, racun lebah, larva lebah, dan roti lebah. Lebah hutan *Apis dorsata* adalah lebah asia yang menghasilkan madu dan sarang paling banyak dengan hanya satu sisiran sarang menggantung di dahan, ranting, langit-langit dan tebing berbatu. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa lebah madu *Apis dorsata* Binghami memiliki aktivitas bioaktif, aktivitas antioksidan dan antihiperlipidemia. Selain madu, sarang lebah merupakan sumber obat bioaktif potensial yang berpotensi untuk diteliti (Semuel et al., 2019). Berdasarkan penjelasan diatas, oleh karena itu peneliti berniat untuk melakukan penelitian tentang aktivitas antidiabetes dari ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* binghami. Pengujian aktivitas antidiabetes dapat dilakukan secara *in vitro* menggunakan pengujian enzim α -amilase merupakan Sebuah penelitian untuk menemukan kelompok senyawa dengan aktivitas hipoglikemik *in vitro* dan *in vivo* yang secara tradisional diyakini memiliki aktivitas antidiabetes harus diselidiki (Erlidawati et al., 2018).

METODE

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Toples, Kertas saring, Spektrofotometer UV_Vis *Parkin Elmer*, kuvet, Mikropipet *Eppendorf*, Inkubator, Erlenmayer, Labu ukur, Gelas ukur, Tabung reaksi, Corong buchner, Batang pengaduk, Timbangan analitik, Autoclave, Oven, Rotary evaporator, sarang lebah *Apis Dorsata* Binghami, Aquadest, Etanol 96%, Enzim α -Amilase (*Merck*), Buffer fosfat (pH 7,0), Amilum, Akarbose, Dimetil Sulfoksida (DMSO), Aluminium Klorida ($AlCl_3$), Potassium asetat, Pottasium iodide, Iodine, Kuersetin. Penelitian ini menggunakan metode penelitian deskriptif dimana data hasil penelitian diperoleh melalui eksperimen laboratorium, adapun tahapan penelitian diantaranya,

Ekstraksi

Ekstraksi sarang *Apis Dorsata* Binghami dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol, Sarang lebah di blender menjadi serbuk, kemudian ditimbang 250 gram bubuk kemudian di heating di oven \pm 10 menit pada suhu 80°C dan dilarutkan dalam 1000 mL etanol 96%, dengan takaran 1:4 b/v kemudian serbuk dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol selama 2x24 jam/48 jam pada suhu kamar, Kemudian dilakukan penyaringan dan didapat filtratnya. Filtrat yang didapat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C dengan kecepatan 48-50 rpm.

Analisis Total Flavonoid

Kandungan flavonoid total ekstrak sarang *Apis dorsata* binghami dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan $AlCl_3$ dan kuersetin sebagai pembanding ([Stankovi 2011](#)).

- 1) Penentuan panjang gelombang maksimum kuersetin
Penentuan panjang gelombang maksimum kearsetin dilakukan dengan menganalisis larutan kuersetin pada rentang panjang gelombang 400-500 nm. Hasil analisis menunjukkan panjang gelombang maksimum standar baku kuersetin berada pada panjang gelombang 435 nm. Panjang gelombang maksimum digunakan untuk mengukur absorbansi sampel ekstrak etanol sarang lebah.
- 2) Pembuatan kurva standar kuersetin
Ditimbang sebanyak 25 mg baku standar kuersetin dan dilarutkan dalam 25 mL etanol, larutan stok dipipet sebanyak 1 mL dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan etanol sehingga diperoleh konsentrasi 100 ppm. Dari larutan standar kuersetin 100 ppm, kemudian dibuat beberapa konsentrasi yaitu 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, 14 ppm. Dari masing-masing larutan kuersetin dipipet 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 mL $AlCl_3$ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 435 nm.
- 3) Pengukuran kadar flavonoid total ekstrak etanol sarang lebah *Apis dorsata* binghami
Ekstrak 15 mg yang dilarutkan dalam 10 mL etanol sehingga diperoleh konsentrasi 1500 ppm. Dari larutan tersebut dipipet 1 mL kemudian ditambahkan 1 mL larutan $AlCl_3$ 2% dan 1 mL kalium asetat 120 mM. Sampel diinkubasi selama 60 menit pada suhu kamar. Absorbansi ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis

pada panjang gelombang maksimum 435 nm. Sampel dibuat dengan 3 kali pengulangan untuk setiap analisis dan diperoleh nilai rata-rata absorbansi.

Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amylase

1) Pengujian blanko

Pengujian blanko dapat diukur dengan mengambil 1000 μ l buffer fosfat pH 7,0 kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C, kemudian pada sampel ditambahkan 500 μ l amilum 0,5%, lalu diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37 °C setelah masa inkubasi selesai, maka ditambahkan 10 μ l iodine 0,5%. Ukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 601 nm.

2) Pengujian kontrol blanko

Pengujian kontrol blanko dapat dilakukan dengan mengambil 1000 μ l dapar fosfat Ph 7,0 kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. kemudian pada sampel ditambahkan 500 μ l, lalu diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi selesai maka ditambahkan 10 μ l dapar fosfat Ph 7,0. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 601 nm.

3) Pengujian sampel

Pengujian sampel dilakukan dengan pembuatan berbagai konsentrasi yaitu (15, 30, 45, 60, 75 μ g/ml). Dari masing-masing Konsentrasi sampel diambil 500 μ l dan 500 μ l enzim α -amilase dicampurkan, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. selanjutnya ditambahkan 500 μ l amilum 0,5%, lalu inkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah masa inkubasi selesai ditambahkan 10 μ l iodine 0,5%. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 601 nm.

4) Pengujian kontrol sampel

Pengujian kontrol sampel dilakukan dengan mengambil 500 μ l sampel dengan berbagai konsentrasi (15, 30, 45, 60, 75 μ g/ml) dan 500 μ l enzim α -amilase, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37 °C. Selanjutnya ke dalam sampel ditambahkan 500 μ l dapar fosfat ph 7,0. Lalu diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37 °C. setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 10 μ l iodine 0,5%. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 601 nm (Wirasti et al., 2021).

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara menghitung presentase inhibisi % enzim α -amilase, data yang diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi dapat dihitung % penghambatan (Pujiyanto et al., 2019) menggunakan persamaan pada rumus :

$$\% \text{ Inhibitor} = \frac{A.\text{Kontrol} - A.\text{Sampel}}{A.\text{Kontrol}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh diolah Nilai IC₅₀ sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % penghambatan sebagai sumbu y. Dari Persamaan regresi $y = bx + a$ digunakan untuk menentukan IC₅₀ dengan persamaan:

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Sarang *Apis dorsata* Binghami yang digunakan untuk ekstraksi dengan metode maserasi berumur sekitar 2 bulan. Ekstrak yang diperoleh berwarna kuning kecoklatan ditunjukkan pada (Gambar 1) dan beraroma khas sarang lebah. Ekstraksi yang dilakukan menggunakan perbandingan 1:4 antara simplisia dan volume pelarut. Perhitungan total rendemen ekstrak sarang *A. dorsata* ditunjukkan dalam (Tabel 1). Sarang lebah *A. dorsata* yang digunakan sebanyak 250 gram kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% volume 1000 mL yang kemudian mendapatkan ekstrak sebanyak 29,55 gram dengan total rendemen ekstrak 11,82%.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak

Sampel	Volume pelarut	Berat Sampel	Berat ekstrak	Rendemen
Sarang Lebah	1000 mL	250 gr	29,55 gr	11,82 %



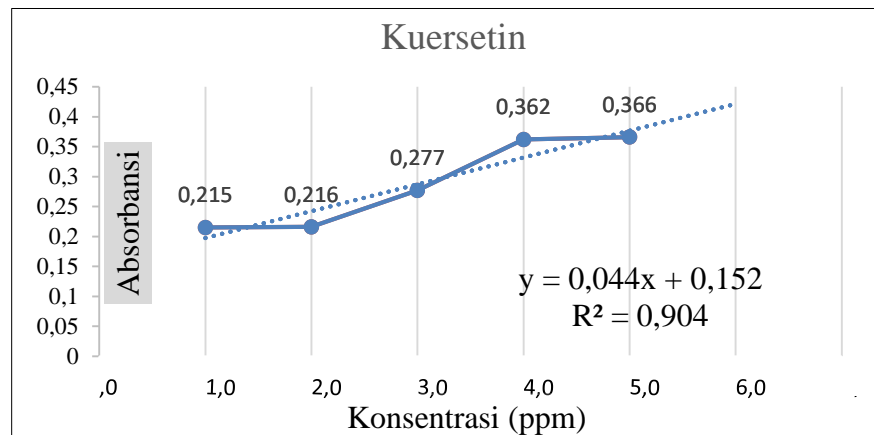
Gambar 1. Ekstrak Sarang *A. dorsata* Binghami ekstrak Etanol 96%

Analisis Kadar Total Flavonoid

Hasil pengukuran absorbansi larutan standar kuersetin dengan maksimal panjang gelombang 435 nm dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Untuk menentukan kadar total flavonoid pada sampel maka digunakan kuersetin sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi 6, 8, 10, 12, 14 ppm. Deret konsentrasi tersebut digunakan untuk penentuan kadar sampel yang dilakukan dengan menggunakan metode persamaan kurva baku. Deret konsentrasi harus dibuat terlebih dahulu untuk mendapatkan persamaan linear yang digunakan untuk menghitung kadar. Dari kadar kuersetin yang telah dibuat tersebut maka diperoleh nilai absorbansi yang ditunjukkan pada (Tabel 2). Nilai tersebut membuktikan bahwa semakin tinggi nilai konsentrasi larutan yang digunakan, maka semakin tinggi nilai absorbansi yang diperoleh. Hasil baku kuersetin yang diperoleh diplotkan antara kadar dan absorbansinya, sehingga diperoleh persamaan regresi linear yaitu $y = 0,044x + 0,152$ dengan nilai $R^2 = 0,904$. Persamaan kurva kalibrasi kuersetin pada (Gambar 2) dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid pada total ekstrak sampel.

Tabel 2. Absorbansi Kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
6 ppm	0,215
8 ppm	0,216
10 ppm	0,277
12 ppm	0,362
14 ppm	0,366



Gambar 2. Kurva Kuersetin

Dari hasil perhitungan maka ekstrak sarang *A. dorsata* pada penelitian ini memiliki kandungan flavonoid total sebesar 3,33 mgQE/g ekstrak yang dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Flavonoid Total Ekstrak

Sampel	Absorbansi (y)	KFT (mgQE/g)
Ekstrak Sarang Lebah	0,398	3,33

Aktivitas Penghambatan enzim α -amilase

Hasil absorbansi yang diukur dalam *Spektrofotometer UV-Vis* pada gelombang maksimum 601 nm menunjukkan absorbansi sampel ekstrak dan akardose pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Absorbansi Ekstrak

Konsentrasi	Abs Kontrol	Abs Sampel
15	0,156	0,149
30	0,179	0,160
45	0,193	0,161
60	0,219	0,176
75	0,233	0,179

Tabel 5. Absorbansi Akardose

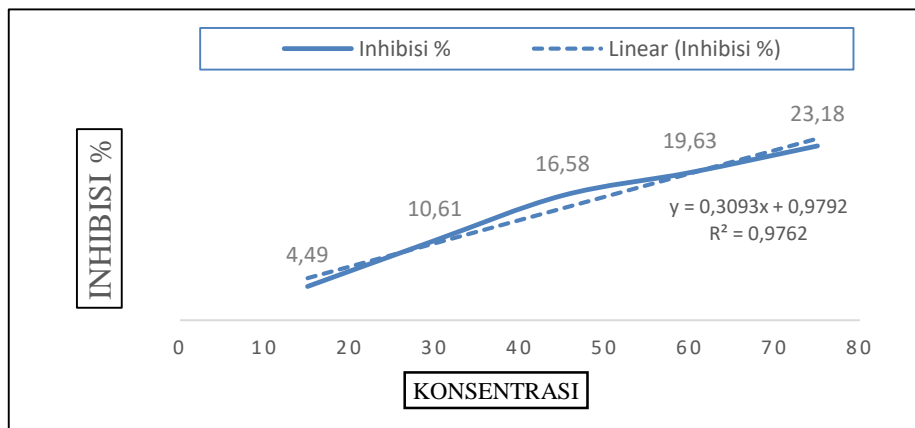
Konsentrasi	Abs Kontrol	Abs Akardose
15	0,166	0,157
30	0,190	0,170
45	0,203	0,171
60	0,229	0,186
75	0,243	0,189

Perhitungan sampel diawali dengan menghitung nilai % inhibisi dari masing-masing konsentrasi ekstrak dan akarbose. Nilai % inhibisi menunjukkan kemampuan ekstrak dalam konsentrasi tertentu dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Dapat dilihat pada Tabel 6 menunjukkan hasil perhitungan nilai % inhibisi, dapat diketahui bahwa ekstrak sarang *A. Dorsata* pada konsentrasi 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ mempunyai nilai % inhibisi lebih tinggi yaitu 23,18% daripada akarbose pada konsentrasi 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$ yang mempunyai nilai inhibisi yaitu 22,22%. Aktivitas penghambatan α -amilase ini mampu menghambat kerja enzim α -amilase sehingga mampu menurunkan kadar gula darah.

Tabel 6. Nilai Inhibisi Ekstrak dan Akarbose

Konsentrasi	% Inhibisi Ekstrak	% Inhibisi Akarbose
15	4,49	4,22
30	10,61	10,53
45	16,58	15,76
60	19,63	18,78
75	23,18	22,22

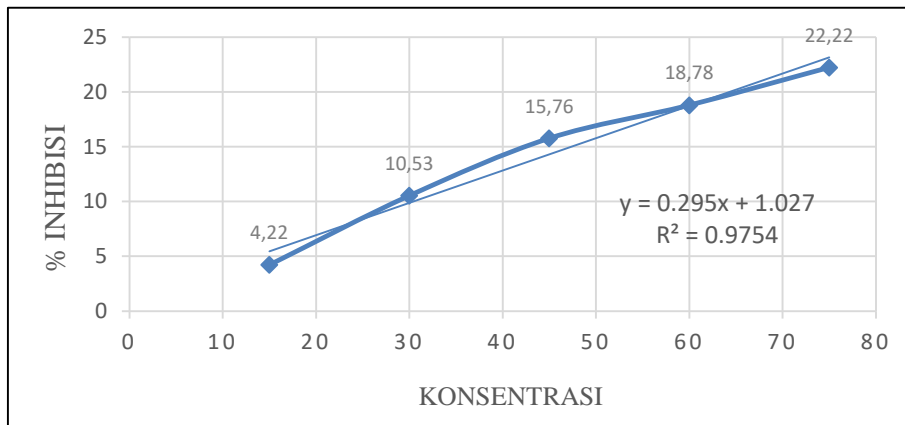
Nilai IC₅₀ ditentukan melalui regresi linier, dimana sumbu x menunjukkan konsentrasi sampel dan sumbu y menunjukkan % inhibisi. Berdasarkan persamaan $y = bx + a$ pada (Gambar 3) dan (Gambar 4) dapat dihitung nilai IC₅₀. Hasil pengujian pada Tabel 7, sampel ekstrak sarang lebah dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase menunjukkan nilai rata-rata IC₅₀ sebesar $154,46 \pm 7,42 \mu\text{g}/\text{mL}$ dengan nilai $r = 0,976$ dan persamaan regresi linear $y = 0,309x + 0,979$. Hasil pengujian Akarbose dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase menunjukkan nilai rata-rata sebesar $165,96 \pm 7,08$ dengan nilai $r = 0,975$ dan persamaan regresi $y = 0.295x + 1.027$.



Gambar 3. Kurva Inhibisi Ekstrak

Table 7. Nilai IC₅₀

Sampel	Nilai IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) \pm SD
Sarang lebah	$158,48 \pm 7,42$
Acarbose	$165,96 \pm 7,08$



Gambar 4. Kurva Inhibisi Akarbose

Pembahasan

Pada sarang lebah terkandung senyawa flavonoid, saponin dan steroid dalam intensitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan metabolit sekunder lainnya (Semuel et al., 2019). Flavonoid pada sarang lebah bertindak sebagai scavenger radikal bebas dengan memberikan atom hydrogen pada radikal bebas (Silva et al., 2002). Berdasarkan analisis terdapat lebih dari 20 jenis flavonoid yang terkandung dalam ekstrak sarang *Apis dorsata* Binghami (Semuel et al., 2019). Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi, karena metode maserasi ini merupakan metode yang umum atau banyak digunakan untuk proses ekstraksi tumbuhan-tumbuhan ataupun bahan alam yang lain karena metode maserasi yang sederhana dan mudah. Maserasi atau perendaman pelarut merupakan cara sederhana yang dapat dilakukan dengan merendam serbuk sarang lebah. Pelarut akan menembus dinding sel masuk ke rongga sel yang berisi bahan aktif, memungkinkan bahan aktif terlarut. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol digunakan sebagai pelarut karena bersifat polar dan mudah didapat. Senyawa polar adalah senyawa yang larut dalam air. Senyawa metabolit sekunder yang akan di ambil pada sarang lebah bersifat polar sehingga proses ekstraksi menggunakan pelarut polar. Maserasi yang dilakukan selama 2 x 24 jam dengan pengadukan bertujuan untuk mempercepat kontak antara sampel dan pelarut. Kemudian hasil maserasi disaring dengan kertas saring dan didapat filtratnya kurang lebih filtrat yang di dapat 700 ml. kemudian filtrat dipekatkan dengan menggunakan alat rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak pekat. penentuan rendemen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut naun tidak dapat mengetahui senyawa yang terbawa oleh pelarut (Ahmad et al., 2015).

Analisis kuantitatif senyawa flavonoid total dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dilakukan untuk mengetahui seberapa besar kadar flavonoid total yang terkandung pada ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami. Analisis flavonoid dilakukan dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid mengandung sistem aromatik yang terkonjugasi sehingga menunjukkan pita serapan kuat pada daerah spektrum sinar ultraviolet dan spektrum sinar tampak. Flavonoid dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear dari kurva kalibrasi kuersetin yang telah diukur

sebelumnya. Kadar flavonoid dihitung sebagai kadar flavonoid total dalam sampel. Perhitungan ini berdasarkan hukum Lambert-Beer yang menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit.

Pada penelitian ini untuk menentukan kadar flavonoid total pada sampel digunakan kuarsetin sebagai larutan standar dengan deret konsentrasi karena metode yang di pakai dalam menentukan kadar adalah metode yang menggunakan persamaan kurva baku, untuk membuat kurva baku terlebih dahulu dibuat beberapa deret konsentrasi untuk mendapatkan persamaan linear yang dapat digunakan untuk menghitung persen kadar. Digunakan kuarsetin sebagai larutan standar karena kuarsetin merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksil pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari flavon dan flavonol (Azizah et al., 2014). Inkubasi selama 60 menit sebelum mengukur absorbansi agar reaksi berjalan sempurna, sehingga intensitas warna yang dihasilkan lebih maksimal . Persamaan kurva kalibrasi kuarsetin dapat digunakan sebagai pembanding untuk menentukan konsentrasi senyawa flavonoid total pada ekstrak sampel. Pengujian analisis kuantitatif dengan spektrofotometri UV-Vis digunakan larutan blanko sebagai kontrol yang berfungsi sebagai pemblank senyawa yang tidak perlu dianalisis (Heidelberger & Treffers 1942).

Aktivitas penghambatan ekstrak sarang lebah terhadap enzim α -amilase. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *in vitro*. Larutan iodine pada dasarnya berwarna kuning coklat akan membentuk senyawa kompleks berwarna biru ketika bereaksi dengan pati. Jadi absorbansi diukur dalam Spektrofotometer UV-Vis pada gelombang maksimum 601 nm menunjukkan jumlah pati yang tidak terhidrolisis oleh enzim. Prinsip pengujian sampel yaitu semakin aktif ekstrak yang digunakan, maka semakin sedikit pati yang terhidrolisis sehingga glukosa yang dihasilkan semakin sedikit, karena ekstrak dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Aktivitas enzim α -amilase yang dihambat oleh ekstrak tidak dapat bereaksi dengan substrat amilum, sehingga intensitas warna yang dihasilkan akan semakin berkurang (Wirasti et al., 2021). Ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak yang menunjukkan inhibisi % yang paling tinggi. Pengujian sampel diawali dengan menghitung % inhibisi dari masing-masing konsentrasi ekstrak sarang lebah dan pembanding yaitu akarbose. Nilai % inhibisi menunjukkan kemampuan ekstrak dalam konsentrasi tertentu dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Aktivitas inhibisi enzim α -amilase dari ekstrak sarang lebah pada konsentrasi 75 μ g/mL mempunyai nilai inhibisi paling tinggi, semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin tinggi aktivitas penghambatan enzim.

Pengujian standar akarbose bertujuan untuk mengetahui nilai IC₅₀ dari akarbose sebagai kontrol positif pengujian dan sebagai pembanding dengan nilai IC₅₀ ekstrak yang diuji. Sarang lebah mempunyai senyawa kimia aktif yang dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase. Senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat dari hasil skrining fitokimia, namun senyawa yang berpotensi dalam menghambat enzim α -amilase adalah senyawa golongan glikosida, alkaloid, dan flavonoid (Pujiyanto et al., 2019). Selain itu senyawa xanton yang terbukti secara *in vitro* menghambat aktivitas enzim α -amilase. Senyawa flavonoid lainnya juga terbukti menghambat enzim α -glukosidase dan enzim α -amilase (Tadera et al., 2006).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh bahwa ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} lebih kecil dibandingkan akarbose. Nilai IC_{50} ekstrak sarang $154,46 \pm 7,42 \mu\text{g/mL}$ dan nilai IC_{50} Akarbose $165,96 \pm 7,08 \mu\text{g/mL}$. Lebih kecil nilai IC_{50} maka lebih kuat penghambatannya, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak sarang lebah *Apis dorsata* Binghami memiliki potensi untuk dapat dikembangkan dan dipertimbangkan sebagai kandidat obat antidiabetes, khususnya diabetes mellitus tipe II. Untuk penelitian selanjutnya disarankan menggunakan enzim yang lebih spesifik yaitu enzim α -glukosidase, dan juga disarankan menggunakan metode secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Aktsar Roskiana, Juwita Juwita, and Siti Afrianty Daniya Ratulangi. (2015). Penetapan Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah Dan Daun Patikala (*Etlintera Elatior* (Jack) R.M.SM). *Pharmaceutical Sciences and Research 2* (1): 1–10. <https://doi.org/10.7454/psr.v2i1.3481>.
- Azizah, Dyah Nur, Endang Kumolowati, and Fahrauk Faramayuda. (2014). Penetapan Kadar Flavonoid Metode $AlCl_3$ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), 171-179. <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.14>.
- Erlidawati, Erlidawati, Safrida Safrida, and Mukhlis Mukhlis. (2018). Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes*. Skripsi Universitas Syiah Kuala. <https://doi.org/10.52574/syiahkualauniversitypress.350>.
- Heidelberger, Michael, and Henry P. Treffers. (1942). Quantitative Chemical Studies on Hemolysins: I. The Estimation of Total Antibody in Antisera to Sheep Erythrocytes and Stromata. *Journal of General Physiology*, 25(4), 523–31. <https://doi.org/10.1085/jgp.25.4.523>.
- Kang, Wen-Yi, Yan-Li Song, and Li Zhang. (2011). α -Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Properties and Antidiabetic Activity of *Hypericum Ascyron L.*” *Medicinal Chemistry Research*, 20(7), 809–16. <https://doi.org/10.1007/s00044-010-9391-5>.
- Messerli, F. H., and E. Grossman. (2001). Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: An Update. *Hypertension* 38(3), 211-218. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.38.3.e11>.
- Pujiyanto, Sri, W Wijanarka, Budi Raharjo, and Via Anggraeni. (2019). Aktivitas Inhibitor α -Amilase Ekstrak Etanol Tanaman Brotowali (*Tinospora Crispa L.*). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, 21(2), 91–99. <https://doi.org/10.14710/bioma.21.2.91-99>.
- Semuel, Mokosuli Yermia, Eva S N Kaunang, and Jacklin S S Manoppo. (2019). *Potensi*

Bioaktif Dari Apis Dorsata Binghami, Lebah Madu Endemik Sulawesi. CV Mentari jaya, 98 halaman.

- Semuel, Mokusuli Yermia, Rudi Alexander Repi, and Rantje Lilly Worang. (2018). Potential Antioxidant and Anticancer Effect of Apis Dorsata Binghami Crude Venom from Minahasa, North Sulawesi Potential Antioxidant and Anticancer Effect of Apis Dorsata Binghami Crude Venom from Minahasa , North Sulawesi, *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(2), 112-119.
- Silva, M Manuela, Marta R Santos, Gonçalo Caroço, Rui Rocha, Gonçalo Justino, and Lurdes Mira. (2002). Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids: A Re-Examination. *Free Radical Research* 36(11), 1219–27. <https://doi.org/10.1080/198-1071576021000016472>.
- Stankovic, Milan S. (2011). Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration And Antioxidant Activity Of Marrubium Peregrinum L. Extracts, *Kragujevac Journal of Science*, 33(3), 63–72.
- Tadera, Kenjiro, Yuji Minami, Kouta Takamatsu, and Tomoko Matsuoka. (2006). Inhibition of α -Glucosidase and α -Amylase by Flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(2), 149–53. <https://doi.org/10.3177/jnsv.52.149>.
- Wirasti, Wirasti, Titi Lestari, and Isyti'aroh Isyti'aroh. (2021). Penghambatan Ekstrak Daun Kremah (*Alternanthera Sessilis*) Terhadap Enzim α -Amilase Secara In-Vitro. *Pharmac: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), 68–74. <https://doi.org/10.23917/pharmac.v18i01.14657>.

How To Cite This Article, with APA style :

Pratasik, V., Mege R., & Mokusuli, Y. (2022). *In Vitro* Antidiabetic Activity of *Apis Dorsata Binghami* Nest Extract. *Jurnal Pembelajaran dan Biologi Nukleus*, 8(3), 733-743. <https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3196>