

26 Extra

2

PROSIDING SEMINAR NASIONAL

Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia



**“Peran Teknologi dalam Pengembangan
Pangan yang Aman, Bermutu dan
Terjangkau bagi Masyarakat”**

15 – 17 September 2011

Aryaduta Hotel, Manado, Sulawesi Utara

Diselenggarakan oleh:



Editors :

Dr. Roike I. Montolalu
Dr. Nuri Andarwulan
Prof. Dr. F. G. Ijong
Dedie Tooy, Ph.D
Dr. G. S. S. Djarkasi
Dr. Feny Mentang
Daisy M. Makapedua, Ph.D

Bekerjasama dengan:



Program Studi ILMU PANGAN
Program PASCASARJANA
Universitas Sam Ratulangi

Didukung oleh:



Optimasi Kadar VCO dan Madu Pada Pengolahan Produk Minuman Kesehatan Berenergi VCO-Madu-Ginseng Feti Fatimah	213
Kajian Jumlah Stroberi Dan Variasi Ratio Adsorben Pada Pengemasan Aktif Stroberi(<i>Fragaria ananassa</i>) Var. California Ina Siti Nurminabari¹⁾²⁾, Yusep Ikrawan¹⁾, dan Nastiti Darmokusumo¹⁾	218
Pembuatan Keju Krim Susu Tempe Sebagai Produk Pangan Kaya Nutrisi Diah Ratnaningrum dan Thelma Agustina Budiwati	224
Studi Aktivitas Antibakteri Dari Ekstrak Kasar <i>Eucheuama spinosum</i> Terhadap pH dan Suhu Hardoko¹⁾, Nuri Arum Anugrahati²⁾, Angela Maggie Tjandinegara³⁾	228
Antibacterial Activity of Fractionated Green Sirih(<i>Piper betle</i> Linn) Extract Against Food Pathogenic Bacteria Suliantari¹⁾, Betty S.L. Jenie¹⁾, dan Maggy T. Suhartono¹⁾	233
Potensi Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>) Sebagai Antimikrobia Pada Pindang Ikan Merkuria Karyantina¹⁾, Nanik Suhartatik¹⁾, Agung Setya Wardana¹⁾	236
APLIKASI EKSTRAK LADA (<i>Piper nigrum</i> L.) SEBAGAI PENGAWET ALAMI PADA NILA HITAM (<i>Oreochromis niloticus</i> L.) SELAMA PENYIMPANAN DINGIN Adolf J. N. Parhusip¹⁾, Amelia Soliman²⁾, Eveline¹⁾	241
APLIKASI ANTIMIKROBA EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (<i>Garcinia mangostana</i> L.) SEBAGAI PENGAWET ALAMI PADA MI BASAH Ratna Handayani¹⁾, Adolf J. N. Parhusip¹⁾, Vilona²⁾	247
Pengikatan Garam Empedu Oleh Susu Kedelai Terfermentasi dan Stabilitasnya Terhadap Pepsin Dan Pankreatin Yusmarini¹⁾, R. Indrati,²⁾ T. Utami²⁾ dan Y. Marsono²⁾	261
Daya Inhibisi Ekstrak Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) terhadap Enzim Alfa-Amilase, Alfa-Glukosidase dan Lipase secara <i>In Vitro</i> Endang Prangdimurti, Ilul Urifah, dan Fransisca R. Zakaria	266
Karakteristik Virgin Coconut Oil Yang Mengandung Mikroemulsi Asam Askorbat Ambar Rukmini¹⁾, Sri Raharjo²⁾, Pudji Hastuti²⁾, dan Supriyadi²⁾	271
Respon Imun Mukosa Dan Seluler Pada Tikus Yang Disuplementasi Susu Kambing dan Diinfeksi <i>Salmonella typhimurium</i> Nurliyani¹⁾, Madarina Julia²⁾, Ani Harmayani³⁾	277
Aktivitas Antioksidasi dan Inhibitor Enzim α -Glukosidase Minuman Fungsional Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>) dan Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>) Mega Safithri¹⁾, Sedarnawati Yasni²⁾, Maria Bintang³⁾, Anna S Ranti⁴⁾	282
Aplikasi MOCAF-T1 (Modified Cassava Flour-Turunan 1) Pada Produksi <i>Cake</i> Ahmad Nafi¹⁾, Wiwik Siti Windrati dan Lucyana	287
Pengembangan Produk Minuman Effervescent dari Buah Delima (<i>Punica granatum</i>) Alit Pangestu, Ida Susanti dan Noer Laily	290
PENGARUH PENAMBAHAN WORTEL (<i>DAUCUS CAROTA</i> L) DAN PENGGUNAAN JENIS CAIRAN TERHADAP HASIL JADI KUE SEMPRONG Astrid Sarah Risnawati	293
SIFAT FISIK DAN AKSEPTABILITAS MINUMAN GEL LIDAH BUAYA (<i>Aloe vera</i> var. <i>chinensis</i>) Chatarina Wariyah¹⁾ dan Riyanto²⁾	297
PROSES PENGERINGAN IRISAN KENTANG MENGGUNAKAN ENERGI PANAS KONDENSOR AC Dedy Eko Rahmanto, I Dewa Made Subrata, dan Sutrisno	301

hal 2/10 9/10 2012

Aktivitas Antioksidasi dan Inhibitor Enzim α -Glukosidase Minuman Fungsional Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

[Antioxidative and α -Glukosidase Enzyme Inhibitor Activity of *Piper crocatum* and *Cinnamomum burmannii* Functional Food]

Mega Safithri¹, Sedarnawati Yasni², Maria Bintang³, Anna S Ranti⁴

¹ Mahasiswa S3 Ilmu Pangan FATETA IPB

Email: mega_safithri@yahoo.com; safithri@ipb.ac.id

² Staf Pengajar Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan FATETA IPB

³ Staf Pengajar Departemen Biokimia FMIPA IPB

⁴Martha Tilaar Innovation Center

ABSTRACT

Indonesia was in the 4th largest for the number of people having diabetes mellitus with a prevalence of 8.6% of the total population in 2005 (after India, China and the United States). One of Indonesia's medicinal plants studied that have anti-hyperglycemic activity is *Piper crocatum*. *P. crocatum* leaves have a bitter taste can be combined with *C. burmannii*, in order to obtain a delicious flavor and it can preserve the product. Aims of this study is to get the health drink formula made from *P. crocatum* and *C. burmannii* which have antioxidative activity by measurement of superoxide dismutase and catalase enzyme, and anti-hyperglycemic activity in vitro by measurement of α -glucosidase enzyme activity. Extraction process of *P. crocatum* and *C. burmannii* was done separately by using the solvent water. *P. crocatum* extract mixed with extract of *C. burmannii* with a ratio of 1:0; 1:0,2; 1:0,6; 1:1, and 0:1. In each mixture was added sweetener stevia as much as 0.67%v/v. Measurement of α -glucosidase enzyme activity, superoxide dismutase and catalase was performed by spectrophotometric methods. The results showed that the 1:0,6 formula is the best formula for having the enzyme activity of superoxide dismutase at 3.32 ± 0.08 U/ml, catalase 0.18 ± 0.02 U/ml, and inhibitor α -glucosidase enzyme by $61,00 \pm 2.55\%$, and total phenolic compounds of the largest, it is 1067.65 ± 0.90 ppm. The formula has a characteristic pH value, L, a and b respectively by 5.59 ± 0.01 , 28.40 ± 0.04 ; $+5.87 \pm 0.14$, and $+6.32 \pm 0,06$.

Key words : *Piper crocatum*, *Cinnamomum burmannii*, antioxidative activity, α -glukosidase activity

PENDAHULUAN

Aktivitas antihiperlikemik dari suatu produk pangan fungsional pada saat ini sangat penting, terutama pada posisi Indonesia yang menempati urutan ke-4 terbesar untuk jumlah penderita diabetes melitus dengan prevalensi 8.6% dari total penduduk. Urutan di atasnya adalah India, Cina, dan Amerika Serikat (Depkes RI 2005). Temuan tersebut membuktikan bahwa penyakit diabetes melitus merupakan masalah kesehatan bagi masyarakat Indonesia yang sangat serius.

Penderita diabetes dapat mengalami komplikasi kronis berupa nefropati (gangguan fungsi ginjal), neuropati (gangguan fungsi syaraf) dan retinopati (gangguan retina mata), gangguan kardiovaskular, serta dapat menyebabkan hipertensi akibat radikal bebas yang dihasilkan selama keadaan hiperglikemia. Radikal bebas dapat direduksi secara optimum melalui kerja enzim superoksida dismutase, katalase, dan NADPH oksidase (Ceriello 2003).

Usaha untuk menjaga tidak terjadinya komplikasi penyakit pada penderita diabetes mellitus sangat penting, antara lain menggunakan obat yang bersifat hipoglikemik, atau dengan mengkonsumsi pangan fungsional yang berbahan baku tanaman obat dan rempah yang memiliki aktivitas antioksidasi dan antidiabetes (Rates 2001). Sirih merah sebagai tanaman obat memiliki senyawa aktif yang berasal dari golongan flavonoid, tanin, dan alkaloid (Safithri & Fahma 2008). Golongan senyawa tersebut telah banyak diteliti peranannya sebagai senyawa antioksidan. Selain itu, hasil penelitian menunjukkan

bahwa pemberian air rebusan sirih merah dengan dosis 3,22 dan 20 g/kg BB selama 10 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi dengan aloksan sebesar 150 mg/kg sebesar 23,6 dan 37,4%. Analisis statistik menunjukkan bahwa kadar glukosa tikus yang dicekok pada dosis tersebut tidak berbeda nyata dengan kadar glukosa tikus normal (Safithri dan Fahma 2008). Namun demikian, ekstrak daun sirih merah yang memiliki cita rasa pahit, sehingga perlu dikombinasikan dengan rempah-rempah, agar diperoleh citarasa yang enak, menambah biaktivitas, dan sekaligus dapat mengawetkan produk. Salah satu cara yang dapat dikembangkan adalah dengan menambahkan air rebusan kulit kayu manis (*Cinnamomum sp*) dan penambahan stevia sebagai pemanis alami yang rendah indeks glikemiknya.

Kayu manis dipilih sebagai bahan kombinasi untuk sirih merah karena kayu manis telah diketahui memiliki manfaat sebagai antidiabetes ditunjukkan dari hasil penelitian Khan *et al* (2003), yaitu asupan kayu manis sebanyak 1, 3, dan 6 gram per hari dapat menurunkan kadar glukosa darah pada orang-orang yang menderita diabetes tipe 2. Selanjutnya, penelitian Hlebowicz *et al.* (2007) menunjukkan bahwa asupan 6 gram kayu manis yang dicampur dalam puding beras dapat menurunkan kadar glukosa darah *postprandial* dan dapat menunda pengosongan lambung. Selain itu, kulit kayu manis memiliki citarasa dan senyawa antimikroba alami karena ekstrak kayu manis dapat menghambat semua jenis strain bakteri dengan penghambatan sebesar 99,4% kecuali *Salmonella para typhi* B (Chaudhary dan Tariq 2006),

Dengan demikian, perlu dilakukan kajian untuk mendapatkan formula campuran air rebusan sirih merah, ekstrak kayu manis, dan stevia sebagai pangan fungsional yang memiliki aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidasi. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan formula minuman kesehatan berbahan baku sirih merah dan kayu manis yang memiliki aktivitas antihiperlipidemia *in vitro* berdasarkan pengukuran aktivitas enzim α -glukosidase, dan aktivitas antioksidasi enzim superoksida dismutase dan katalase.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain Sirih Merah (*Piper crocatum*) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) yang diperoleh dari Balai Tanaman Obat dan Rempah (BALITRO), Cimanggu Bogor. Bahan kimia untuk $\Delta A/\text{min}$ dari sampel maupun standar uk analisis kadar total fenol yang meliputi Folin Ciocalteu 10%, Na_2CO_3 1 M, dan asam tanat. Bahan-bahan kimia untuk analisis aktivitas enzim SOD yang meliputi xantin 0,05mM, xantin oksidase 80 U/L, 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolium klorida (INT) 0,025mM, buffer yang terdiri atas *N-cyclohexyl-3-aminopropanesulfonic acid* (CAPS) 40 mM dan EDTA 0,94 mM, standar SOD 4,01U/L, asam lipoat 100 ppm. Bahan-bahan kimia untuk analisis aktivitas enzim katalase, yaitu H_2O_2 1 mM, Horseradish peroxidase (HRP), *oxiRed™ Probe*, katalase, buffer fosfat 50 mM pH 7, dan asam lipoat 100 ppm. Bahan-bahan kimia untuk analisis aktivitas enzim α -glukosidase adalah ONPG 20 mM, ONP 1 mM, enzim α -glukosidase 2,5 U/ml, buffer fosfat 0,1 M pH 7, dan acarbose 0,01%

Alat-alat yang digunakan antara lain alat-alat untuk analisis kadar air, alat-alat untuk pembuatan ekstrak air sirih merah dan kayu manis, alat-alat gelas dan spektrofotometer untuk analisis total fenol dan aktivitas enzim SOD, katalase, dan α -glukosidase. pH meter dan *Minolta Chroma Meters* untuk mengukur pH dan perbedaan warna formula minuman yang dibuat.

Pembuatan ekstrak daun sirih merah, dan kulit kayu manis

Proses ekstraksi daun sirih merah dan kulit kayu manis dilakukan secara terpisah. Daun sirih merah kering matahari (6 jam) dengan kadar air 6-7% ditimbang sebanyak 10 g dan dan ditambahkan akuades sebanyak 200 mL (1:20), lalu direbus dalam keadaan tertutup sampai mendidih, dan dibiarkan mendidih selama 5 menit, kemudian disaring, diukur volume filtratnya, dan filtrat ditambahkan akuades sampai volume filtrat mencapai 100 ml. Kulit kayu manis kering matahari 9 jam (3 hari dari jam 10.00-13.00) dengan kadar air 8-9% ditimbang sebanyak 20 g, dan ditambahkan akuades sebanyak 200 mL (1:10), lalu direbus dengan air dalam keadaan tertutup sampai mendidih, dan dibiarkan mendidih selama 5 menit. kemudian disaring, diukur volume filtratnya, dan filtrat ditambahkan akuades sampai volume filtrate mencapai 100 ml (Modifikasi Safithri dan Fahma, 2008).

Formulasi Ekstrak Daun Sirih Merah dan Kulit Kayu Manis

Ekstrak air daun sirih merah dicampur dengan ekstrak air kayu manis dengan perbandingan 1:0; 1:0,2; 1:0,6; 1:1; dan 0:1. Pada masing-masing campuran ditambahkan bahan pemanis stevia sebanyak 0,67%, sehingga diperoleh lima jenis formula.

Analisis Kadar Air

Sebanyak 5-6 gram sampel dimasukkan ke dalam labu destilasi, ditambahkan toluene 75ml, dikocok perlahan-lahan sehingga tercampur dengan sempurna dan semua contoh terendam, lalu ditambahkan juga kedalam labu destilasi beberapa butir batu didih. Alat destilasi dan isi penampung dipasang sedemikian rupa sehingga kecepatan destilasi adalah kira - kira 100 tetes per menit. Sewaktu pemanasan berlangsung, sekali - kali dibersihkan dinding sebelah dalam pendingin dengan sedikit toluene, untuk membilas air yang mungkin melekat pada dinding pendingin. Destilasi dihentikan apabila setelah 30 menit air tidak lagi bertambah dalam penampung, kemudian dibaca volume air dalam penampung yang dapat dinyatakan sebagai bobot air karena rapat massa air tepat 1 gram/ml (Sudarmadji, 1996). Kadar air sampel dihitung berdasarkan rumus :

$$\text{Berat air} = \rho \text{ air} \times \text{vol air}$$

Analisis kadar total fenol

Sebanyak 1 ml sampel ditempatkan dalam tabung reaksi yang berisi 1 ml etanol 95% dan 5 ml air bebas ion, kemudian ditambahkan 0,5 ml pereaksi Folin Ciocalteu, lalu diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit. Selanjutnya, larutan ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 5% dan divorteks, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 1 jam diruang gelap. Ukur absorbansinya pada λ 725 nm. Standar menggunakan asam tanat dengan konsentrasi 0; 6,5; 13; 32,5; 65; 130 ppm (Modifikasi Poumorad *et al.*, 2006)

Analisis aktivitas enzim superoksida dismutase (SOD)

Sebanyak 0,05 ml sampel dilarutkan dengan 1,7 ml substrat (xantin dan INT) kemudian divorteks, lalu ditambahkan 0,25 ml xantin oksidase. Selanjutnya, larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 detik, kemudian dibaca absorbansinya (A_1) pada panjang gelombang 505 nm. Setelah itu, larutan diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 menit, kemudian dibaca absorbansinya (A_2) pada λ 505 nm. Larutan pembanding menggunakan asam lipoat 100 ppm.

Untuk standar enzim SOD dengan konsentrasi 0,00; 0,17; 0,5; 1,00; 2,01; dan 4,01 dilakukan hal yang sama dengan sampel, yaitu 0,05 ml standar dilarutkan dengan 1,7 ml substrat (xantin dan INT) kemudian divorteks, lalu ditambahkan 0,25 ml xantin oksidase. Selanjutnya, larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 detik, kemudian dibaca absorbansinya (A_1) pada panjang gelombang 505 nm. Setelah itu, larutan diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 menit, kemudian dibaca absorbansinya (A_2) pada λ 505 nm.

Untuk perhitungan % penghambatan dan aktivitas enzim SOD, maka dilakukan langkah perhitungan sebagai berikut:

$$A_2 - A_1 = \Delta A/\text{min} \text{ dari sampel maupun standar}$$

Selanjutnya untuk mendapatkan % penghambatan, maka data $\Delta A/\text{min}$ dari sampel maupun standar dimasukkan dalam rumus:

$$\% \text{ penghambatan} = 100 - \frac{(\Delta A_{\text{sampel/min}} \times 100)}{\Delta A_{\text{Std } 0,00/\text{min}}}$$

Setelah itu, untuk mendapatkan aktivitas enzim SOD, maka dibuat kurva standar antara konsentrasi enzim SOD (X) dan % penghambatan (Y). Selanjutnya, data % penghambatan sampel diplotkan pada kurva standar (RANDOX, 2006).

Analisis aktivitas enzim katalase

Sebanyak 20 μl sampel dilarutkan dengan 58 μl bufer fosfat 50 mM pH 7, kemudian ditambahkan 12 μl H_2O_2 1 mM. Setelah itu larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit. Selanjutnya, larutan ditambahkan 10 μl Na_2CO_3 100 mM (untuk menghentikan reaksi). Setelah itu, larutan tersebut ditambahkan 46 μl bufer fosfat 50 mM pH 7, 2 μl *OxiredTM Probe*, dan 2 μl larutan HRP, kemudian larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Setelah itu larutan dibaca absorbansinya pada λ 570 nm. Larutan perbandingan menggunakan asam lipoat 100 ppm.

Pembuatan kurva standar H_2O_2 dilakukan dengan cara memipet 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 μl H_2O_2 1 mM, kemudian ditambahkan bufer fosfat 50 mM pH 7 sampai volume tepat 90 μl . Selanjutnya, larutan ditambahkan 10 μl Na_2CO_3 100 mM (untuk menghentikan reaksi). Setelah itu, larutan tersebut ditambahkan 46 μl bufer fosfat 50 mM pH 7, 2 μl *OxiredTM Probe*, dan 2 μl larutan HRP, kemudian larutan tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 10 menit. Setelah itu larutan dibaca absorbansinya pada λ 570 nm.

Untuk perhitungan aktivitas katalase dilakukan dengan rumus:

$$\text{Aktivitas katalase} = \frac{\text{jumlah } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ 1 mM yang tersisa pada sampel} \times \text{faktor pengenceran}}{30 \times \text{volume sampel}}$$

Jumlah H_2O_2 1 mM yang tersisa pada sampel dihitung dengan cara memplotkan nilai absorbansi sampel pada kurva standar (BioVision 2011).

Analisis aktivitas enzim α -glukosidase

Sebanyak 20 μl sampel atau standar atau akuades sebagai kontrol negatif, ditambahkan 980 μl bufer fosfat 0,1 M pH 7, dan 500 μl substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida 20 mM, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Selanjutnya, larutan tersebut ditambahkan 500 μl enzim α -glukosidase 2,5 U/ml, kemudian larutan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 mL 200 mM Na_2CO_3 dan diukur serapannya pada λ 400 nm. Larutan perbandingan menggunakan acarbose dengan konsentrasi 0,01%.

Pembuatan kurva standar dilakukan dengan menggunakan larutan p-nitrofenol (pNP) dengan konsentrasi 0, 1, 5, 10, 15, dan 20 μM . Larutan blanko menggunakan larutan buffer fosfat 0,1 M pH 7 (pelarut larutan standar p-nitrofenol). Serapannya diukur pada λ 400 nm (Modifikasi Alfarabi, 2010).

Persentase daya hambat ekstrak dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ daya hambat} = \frac{[\text{pNP}] \text{ kontrol negatif} - [\text{pNP}] \text{ ekstrak}}{[\text{pNP}] \text{ kontrol negatif}} \times 100\%$$

Analisis data

Analisis data percobaan menggunakan analisis ragam one-way ANOVA dan bila terdapat perbedaan yang nyata dilakukan uji lanjut Tukey menggunakan taraf $\alpha = 5\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis kadar air

Daun sirih merah dan kulit kayu manis dianalisis kadar air terlebih dahulu sebelum diekstrak untuk formulasi minuman fungsional. Hasil analisis kadar air daun sirih merah dan kulit kayu manis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis kadar air daun sirih merah dan kayu manis

Sampel	% bobot basah (bb)	% bobot kering (bk)
Daun sirih merah segar	75,45 \pm 3,49	-
Daun sirih merah kering	-	6,82 \pm 1,22
Kulit kayu manis kering	-	8,93 \pm 1,50

Hasil analisis kadar air menunjukkan bahwa proses pengeringan dengan cahaya matahari selama 9 jam (3 hari dari jam 10.00-13.00), mampu menurunkan kadar air sampai dibawah 10%. Dengan demikian, daun sirih merah dan kulit kayu manis dapat aman disimpan sebelum digunakan untuk ekstraksi karena kadar air dibawah 10% dapat mencegah terjadinya proses enzimatik dan kerusakan oleh mikroba (Manoi 2006).

Analisis aktivitas antioksidasi minuman fungsional terhadap enzim superoksida dismutase dan katalase

Formula minuman fungsional sirih merah dan kayu manis dianalisis aktivitas antioksidasinya dengan cara enzimatik, yaitu enzim SOD dan katalase. Hal ini dikarenakan enzim SOD dan katalase merupakan enzim yang berperan optimum dalam meredam radikal bebas dalam tubuh, terutama pada penderita diabetes yang dapat mengalami komplikasi kronis berupa nefropati (gangguan fungsi ginjal), neuropati (gangguan fungsi syaraf) dan retinopati (gangguan retina mata), gangguan kardiovaskular, serta dapat menyebabkan hipertensi akibat radikal bebas yang dihasilkan selama keadaan hiperglikemia (Ceriello 2003).

Berdasarkan hasil analisis aktivitas antioksidasi 5 formula minuman kesehatan terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase (Tabel 2) menunjukkan bahwa sirih merah tunggal dan kayu manis tunggal memiliki aktivitas antioksidasi tertinggi, yaitu 3,41 U/ml dan 3,43 U/ml, dan jika kedua ekstrak tersebut dicampur dengan perbandingan yang sama (1:1), maka akan menghasilkan aktivitas antioksidasi yang berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan ekstrak tunggalnya. Namun demikian, pencampuran ekstrak sirih merah dan kayu manis dengan perbandingan 1:0,6, menghasilkan aktivitas antioksidasi yang

sama dengan aktivitas antioksidasi ekstrak tunggalnya. Hal ini menunjukkan bahwa banyaknya penambahan ekstrak kayu manis tidak linear terhadap penambahan aktivitas antioksidasinya. Hal ini sesuai dengan karakteristik senyawa bioaktif dari tanaman obat dan rempah, yang pada perbandingan tertentu dapat bersifat sinergis dan apabila terlalu besar akan bersifat antagonis (Mukherjee dan Houghton, 2009).

Tabel 2. Hasil analisis aktivitas enzim SOD minuman fungsional berbahan

baku daun sirih merah dan kayu manis		
Jenis Formula Minuman (Sirih merah:kayu manis)	% Inhibisi	Aktivitas SOD U/ml
1 : 0	93,01±0,76	3,41±0,04 ^a
1 : 0,2	80,65±0,00	2,77±0,00 ^c
1 : 0,6	91,40±1,52	3,32±0,08 ^a
1 : 1	88,17±1,52	3,16±0,08 ^b
0 : 1	93,55±0,00	3,43±0,00 ^a
Asam lipoat 100 ppm	35,48±1,52	0,45±0,08 ^d

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($\alpha > 0,05$)

Hasil analisis aktivitas antioksidasi terhadap enzim katalase (Tabel 3), menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis tunggal tidak memiliki kemampuan berperan sebagai aktivator maupun mimetik enzim katalase seperti halnya pada asam lipoat dan sirih merah tunggal. Namun demikian, pencampuran ekstrak air sirih merah dan ekstrak air kayu manis dengan perbandingan 1:0,6 dapat meningkatkan aktivitas antioksidasi menjadi 0,18 mU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa banyaknya penambahan ekstrak kayu manis tidak linear terhadap penambahan aktivitas antioksidasinya. Hal ini sesuai dengan karakteristik senyawa bioaktif dari tanaman obat dan rempah, yang pada perbandingan tertentu dapat bersifat sinergis dan apabila terlalu besar akan bersifat antagonis (Mukherjee dan Houghton, 2009).

Tabel 3. Analisis aktivitas enzim katalase minuman fungsional berbahan baku daun sirih merah dan kayu manis

Jenis Formula Minuman (Sirih Merah : Kayu Manis)	Aktivitas Katalase mU/ml
1 : 0	0,13± 0,02 ^b
1 : 0,2	0,10± 0,02 ^{ab}
1 : 0,6	0,18± 0,02 ^b
1 : 1	-0,24± 0,06 ^c
0 : 1	-0,01± 0,02 ^a
Asam lipoat 100 ppm	0,17± 0,00 ^b

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($\alpha > 0,05$)

Asam lipoat digunakan sebagai senyawa pembanding dalam aktivitas antioksidasi, dikarenakan asam lipoat dapat meningkatkan kerja enzim SOD dan katalase serta mencegah terjadinya lipid peroksidasi pada tikus yang mengalami stress kronis (Akpinar *et al.*, 2008). Selain itu asam lipoat juga sudah

diteliti dapat bersifat sebagai mimetic enzim SOD dan katalase (Ceriello, 2003).

Analisis aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase

Pengkajian mekanisme antihiperlipemik 5 formula minuman fungsional berbahan baku sirih merah dan kayu manis dilakukan pada tingkat pencernaan, yaitu dengan analisis potensi ekstrak daun sirih merah sebagai inhibitor enzim α -glukosidase menggunakan metode spektrofotometer dengan p-nitrofenol- α -D-glukopiranososa sebagai substrat yang akan dihidrolisis oleh glukosidase menjadi p-nitrofenil, dan ditunjukkan dengan adanya warna kuning. Enzim glukosidase merupakan enzim yang berfungsi memecah karbohidrat menjadi glukosa pada usus halus manusia. Enzim α -glukosidase mengkatalisis hidrolisis terminal residu glukosa yang berikatan α -1,4 dan menghasilkan α -D-glukosa (Matsumoto *et al.* 2002).

Berdasarkan hasil analisis 5 formula minuman kesehatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase (Tabel 4), menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis tunggal memiliki nilai inhibisi terbesar terhadap aktivitas enzim α -glukosidase, yaitu 75,94%. Hal yang berbeda ditunjukkan oleh ekstrak sirih merah tunggal, yang tidak memiliki daya hambat terhadap aktivitas enzim α -glukosidase. Inhibisi ekstrak kayu manis mengalami penurunan ketika dicampur dengan ekstrak sirih merah. Namun demikian, pencampuran yang menghasilkan daya hambat terbesar terhadap aktivitas enzim α -glukosidase ditunjukkan pada formula 1:0,6 yaitu 61,00%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa bioaktif ekstrak air sirih merah bersifat antagonis terhadap senyawa bioaktif ekstrak air kayu manis untuk aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase.

Formula 1:0,6 minuman fungsional berbahan baku ekstrak air sirih merah dan kayu manis memiliki nilai inhibisi terhadap enzim α -glukosidase yang lebih besar (61%) jika dibandingkan dengan ekstrak etanol sirih merah 1%, yaitu sebesar 39,62% (Alfarabi, 2010).

Tabel 4. Analisis aktivitas enzim α -glukosidase minuman fungsional

berbahan baku daun sirih merah dan kayu manis	
Jenis Formula Minuman (Sirih Merah : Kayu Manis)	% Inhibisi
1 : 0	-0,40 ± 2,26 ^f
1 : 0,2	26,15 ± 3,68 ^{de}
1 : 0,6	61,00 ± 2,55 ^b
1 : 1	48,56 ± 1,13 ^c
0 : 1	75,94 ± 0,57 ^a
Acarbose 0,01% b/v	31,13 ± 1,31 ^d

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($\alpha > 0,05$)

Acarbose digunakan sebagai senyawa pembanding dalam aktivitas penghambatan kerja enzim α -glukosidase. Acarbose akan bekerja secara kompetitif di dalam saluran cerna sehingga dapat menurunkan penyerapan glukosa di usus tanpa

menyebabkan hipoglikemia dan tidak mempengaruhi kadar insulin (DeRuiter, 2003).

memiliki karakteristik nilai pH sebesar 5,59 dan nilai L, a, dan b sebesar 28,4, +5,87, dan +6,32.

Analisis total fenol minuman fungsional

Analisis total fenol dari 5 formula minuman fungsional barbahan baku sirih merah dan kayu manis dilakukan untuk mengetahui apakah ada korelasinya antara bioaktivitas dengan jumlah total senyawa fenol yang berada dalam minuman tersebut. Berdasarkan hasil analisis total fenol 5 formula minuman kesehatan (Tabel 5), menunjukkan bahwa jumlah total fenol ekstrak air kayu manis (942,38 ppm) berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan ekstrak air sirih merah (532,57 ppm). Namun demikian, pencampuran ekstrak kayu manis dengan sirih merah dengan perbandingan 1:0,6 telah memberikan jumlah total fenol yang terbesar (1067,65 ppm), jika dibandingkan dengan ekstrak tunggal kayu manis dan secara statistik nilai tersebut berbedanya nyata ($p < 0,05$).

Hasil analisis pH menunjukkan bahwa minuman fungsional barbahan baku sirih merah dan kayu manis berada pada kisaran 5-6, yang artinya minuman ini bersifat sedikit asam. Analisis nilai L menunjukkan bahwa minuman fungsional cenderung tidak cerah atau gelap (25,89-30,79), sedangkan berdasarkan hasil analisis nilai a (+5,87 - +14,72) menunjukkan bahwa minuman fungsional cenderung kemerahan dan untuk hasil analisis nilai b (+5,66 - +11,22) menunjukkan bahwa minuman fungsional cenderung berwarna kekuningan.

Tabel 5. Analisis total fenol minuman fungsional

Jenis Formula Minuman (Sirih Merah : Kayu Manis)	Total fenol (ppm)
1 : 0	532,57 ± 0,26 ^d
1 : 0,2	941,65 ± 0,29 ^b
1 : 0,6	1067,65 ± 0,90 ^a
1 : 1	909,62 ± 0,74 ^c
0 : 1	942,38 ± 1,15 ^b

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($\alpha > 0,05$)

Tabel 6. Analisis pH, L, a, dan b minuman fungsional

Formula Minuman	pH	L	a	b
1 : 0	5,79 ± 0,01 ^a	25,89 ± 0,01 ^d	+ 7,31 ± 0,02 ^c	+ 5,66 ± 0,03 ^b
1 : 0,2	5,45 ± 0,00 ^d	28,37 ± 0,01 ^c	+ 7,26 ± 0,02 ^c	+ 6,64 ± 0,01 ^d
1 : 0,6	5,59 ± 0,01 ^b	28,40 ± 0,04 ^c	+ 5,87 ± 0,14 ^d	+ 6,32 ± 0,06 ^c
1 : 1	5,46 ± 0,01 ^d	29,55 ± 0,02 ^b	+ 8,07 ± 0,02 ^b	+ 7,31 ± 0,02 ^b
0 : 1	5,52 ± 0,01 ^c	30,79 ± 0,02 ^a	+14,72 ± 0,01 ^a	+ 11,22 ± 0,01 ^a

Keterangan: Nilai yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata ($\alpha < 0,05$)

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa formula 1:0,6 minuman fungsional barbahan baku ekstrak air sirih merah dan kayu manis adalah formula terpilih dengan aktivitas antioksidasi terhadap SOD dan katalase yaitu sebesar 3,32±0,08 U/ml dan 0,18± 0,02 mU/ml, dan aktivitas antihiperlipidemia terhadap penghambatan enzim α -glukosidase sebesar 61%. Formula tersebut memiliki total senyawa fenol sebesar 1067,65 ppm dan

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terimakasih kepada Dirjen Dikti yang membiayai penelitian ini melalui Program BPPS 2008-2011.

DAFTAR PUSTAKA

Akpinar D, Yargicoglu P, Derin N, Aliciguzel Y, Agar A. 2008. The Effect of Lipoic Acid on Antioxidant Status and Lipid Peroxidation in Rats Exposed to Chronic Restraint Stress. *Physiol. Res.* 57: 893-901.

Alfarabi M. 2010. Kajian antidiabetogenik ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) in vitro [tesis]. Bogor. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.

BioVision. 2011. Catalase assay kit. BioVision Research Products, USA.

Ceriello A. 2003. New Insights on Oxidative Stress and Diabetic Complications May Lead to a "Causal" Antioxidant Therapy. *Diabetes Care* 26:1589-1596.

Chaudhary NMA, Tariq P. 2006. Anti-microbial activity of *Cinnamomum cassia* against diverse microbial flora with its nutritional and medicinal impacts. *Park.J. Bot* 38(1):169-174.

Depkes RI. 2005. Diabetes Mellitus Masalah Kesehatan Masyarakat Yang **Serius**. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=view&article&sid=942> [28 Juli 2005].

DeRuiter J. 2003. Overview of antidiabetic agents. *Endocrine Pharmacotherapy Module*, Spring.

Hlebowicz J, Darwiche G, Björgell O, Almér L. 2007. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*; 85:1552- 6.

Khan A, Safdar M, Khan MMA, Khattak KN, Anderson RA. 2003. Cinnamon improves glucose and lipids of people with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 26:3215-3218

Manoi F.2006. Pengaruh cara pengeringan terhadap mutu simplisia sabiloto. *Bul. Littro*. 17(1):1 - 5

Matsumoto et al. 2002. A novel method for the assay of β -glukosidase inhibitory activity using a multi- channel oxygen sensor. *Analytical science* 18:1315-1319.

Mukherjee PK, Houghton PJ. 2009. Evaluation of Herbal Medicinal Products. Pharmaceutical Press, London. www.pharmpress.com

Pourmorad F, Hosseinimehr SJ, Shahabimajid N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology* 5:1142-1145.

RANDOX. 2006. RANSOD. RANDOX Laboratories, United Kingdom

- Rates SM. 2001. Plants as a source of drugs. *Toxicon* 39:603-61.
- Safithri M, Fahma F. 2008. Potency of *Piper crocatum* decoction as an antihyperglycemia in rat strain *Sprague dawley*. *Hayati Journal of Bioscience* 15(1):45-48.
- Sudarmadji.1996. Analisa bahan hasil pertanian. Penerbit Liberty.yogyakarta