

**PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE
RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT
TERHADAP PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -AMILASE DAN
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

(Skripsi)

Oleh

**Titania Dwi Amarta Putri
1714051023**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

THE EFFECT OF CORN STARCH MODIFICATION BY FREE RADICAL GRAFTING (FRG) METHOD USING GALLIC ACID ON THE INHIBITION OF α -AMYLASE AND α -GLUCOSIDASE ENZYME ACTIVITY

By

TITANIA DWI AMARTA PUTRI

Diabetes mellitus is a disease caused by metabolic disorders that occur in the pancreas, characterised by hyperglycaemia. One alternative to control blood glucose levels is to inhibit the performance of α -amylase and α -glucosidase enzymes. The purpose of this study was to determine the effect of gallic acid concentration and to determine the best gallic acid concentration conjugated to corn starch using the Free Radical Grafting method on the inhibition of α -amylase and α -glucosidase enzyme activity. This study consisted of the process of conjugating corn starch and gallic acid with Free Radical Grafting and then testing the total phenol and antioxidant activities. The research was arranged in a non-factorial Randomized Completed Block Design (RCBD). The study used 5 treatments with the addition of gallic acid concentrations P1 (0%); P2 (0.5%); P3 (1%); P4 (1.5%) and P5 (2%) and 4 replicates. The grafting results were analysed for total phenolics, inhibition of α -amylase and α -glucosidase enzyme activities. The data obtained were tested for data homogeneity, analysed for variance, and then subjected to a further test of Least Significant Difference (LSD) at the 5% level. The results showed that the best treatment was found at 2% gallic acid concentration per weight of corn starch with a total phenol value of 62,97 ppm (GAE), inhibition of α -amylase enzyme activity of 24.75 mg/dL and α -glucosidase 96.59%.

Keywords: *Gallic acid, free radical grafting, corn starch, α -amylase, α -glucosidase.*

ABSTRAK

PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT TERHADAP PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -AMILASE DAN ENZIM α -GLUKOSIDASE

Oleh

TITANIA DWI AMARTA PUTRI

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme yang terjadi pada organ pankreas yang ditandai dengan hiperglikemia. Salah satu alternatif untuk mengendalikan kadar glukosa darah adalah dengan menghambat kinerja enzim α -amilase dan α -glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh konsentrasi asam galat serta mengetahui konsentrasi asam galat terbaik yang dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan metode *Free Radical Grafting* terhadap penghambatan aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase. Penelitian ini terdiri dari, tahapan proses konjugat pati jagung dan asam galat dengan *Free Radical Grafting* kemudian dilakukan uji aktivitas total fenol dan antioksidan. Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non faktorial. Penelitian menggunakan 5 perlakuan dengan penambahan asam galat konsentrasi P1 (0%); P2 (0,5%); P3 (1%); P4 (1,5%) dan P5 (2%) dan 4 ulangan. Hasil *grafting* dianalisis total fenol, penghambatan aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase. Data yang diperoleh diuji kehomogenan data, dianalisis ragam, kemudian dilakukan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT) taraf %5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan terbaik terdapat pada konsentrasi asam galat 2% per berat pati jagung dengan nilai total fenol 62,97 ppm (GAE), penghambatan aktivitas enzim α -amilase 24.75 mg/dL dan α -glukosidase 96,59%.

Kata Kunci : *Asam galat, free radical grafting, , pati jagung, α -amilase, α -glukosidase*

**PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG DENGAN METODE *FREE
RADICAL GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM GALAT
TERHADAP PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -AMILASE DAN
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

Oleh

TITANIA DWI AMARTA PUTRI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN**

Pada

**Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
Fakultas Pertanian Universitas Lampung**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi

: **PENGARUH MODIFIKASI PATI JAGUNG
DENGAN METODE *FREE RADICAL
GRAFTING* (FRG) MENGGUNAKAN ASAM
GALAT TERHADAP PENGHAMBATAN
AKTIVITAS ENZIM α -AMILASE DAN
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

Nama Mahasiswa

: **Titania Dwi Amarta Putri**

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1714051023

Program Studi

: Teknologi Hasil Pertanian

Fakultas

: Pertanian



Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M. Si.
NIP 19670615 199403 1 003

Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.
NIP 19680409 199303 1 002

2. Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian

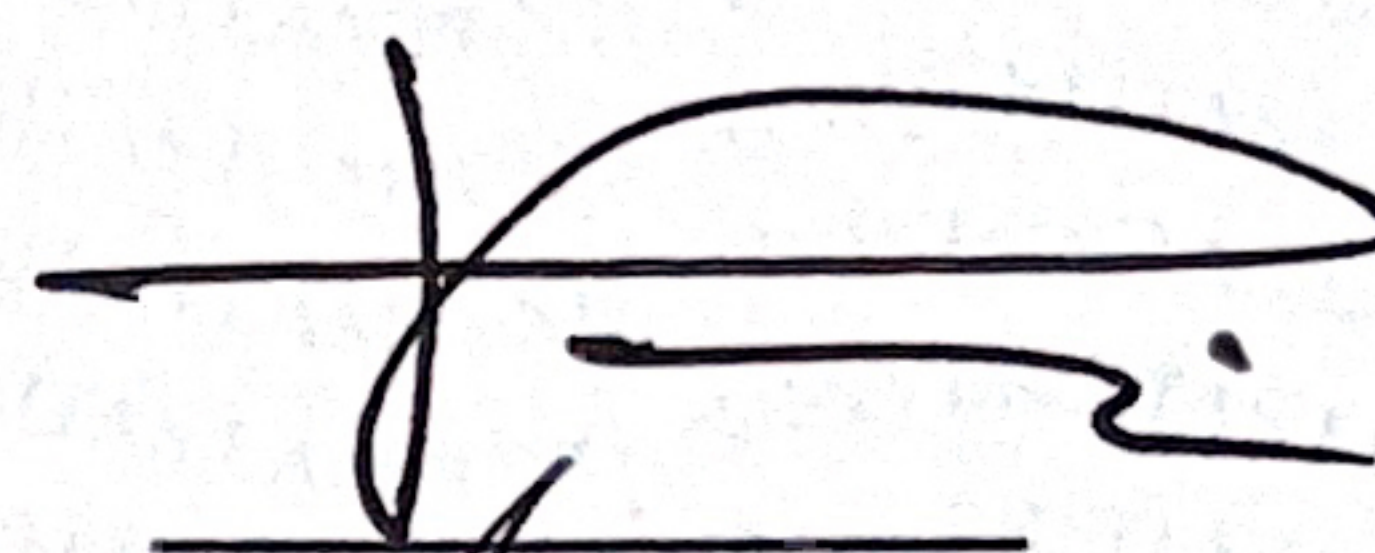
Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A.
NIP 19721006 199803 1 005

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

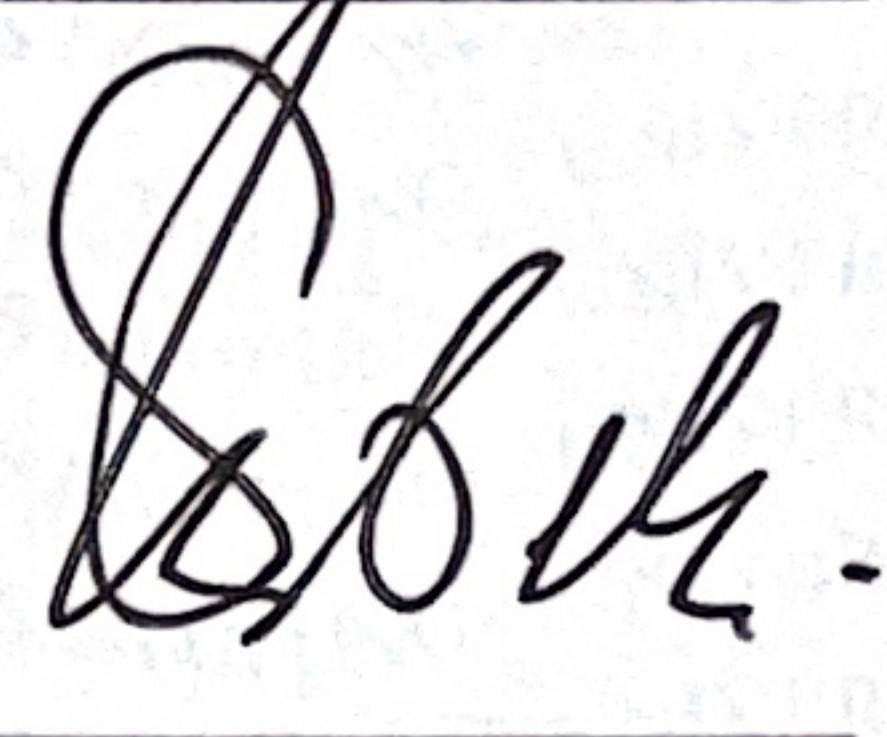
Ketua

: **Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M. Si.**



Sekretaris

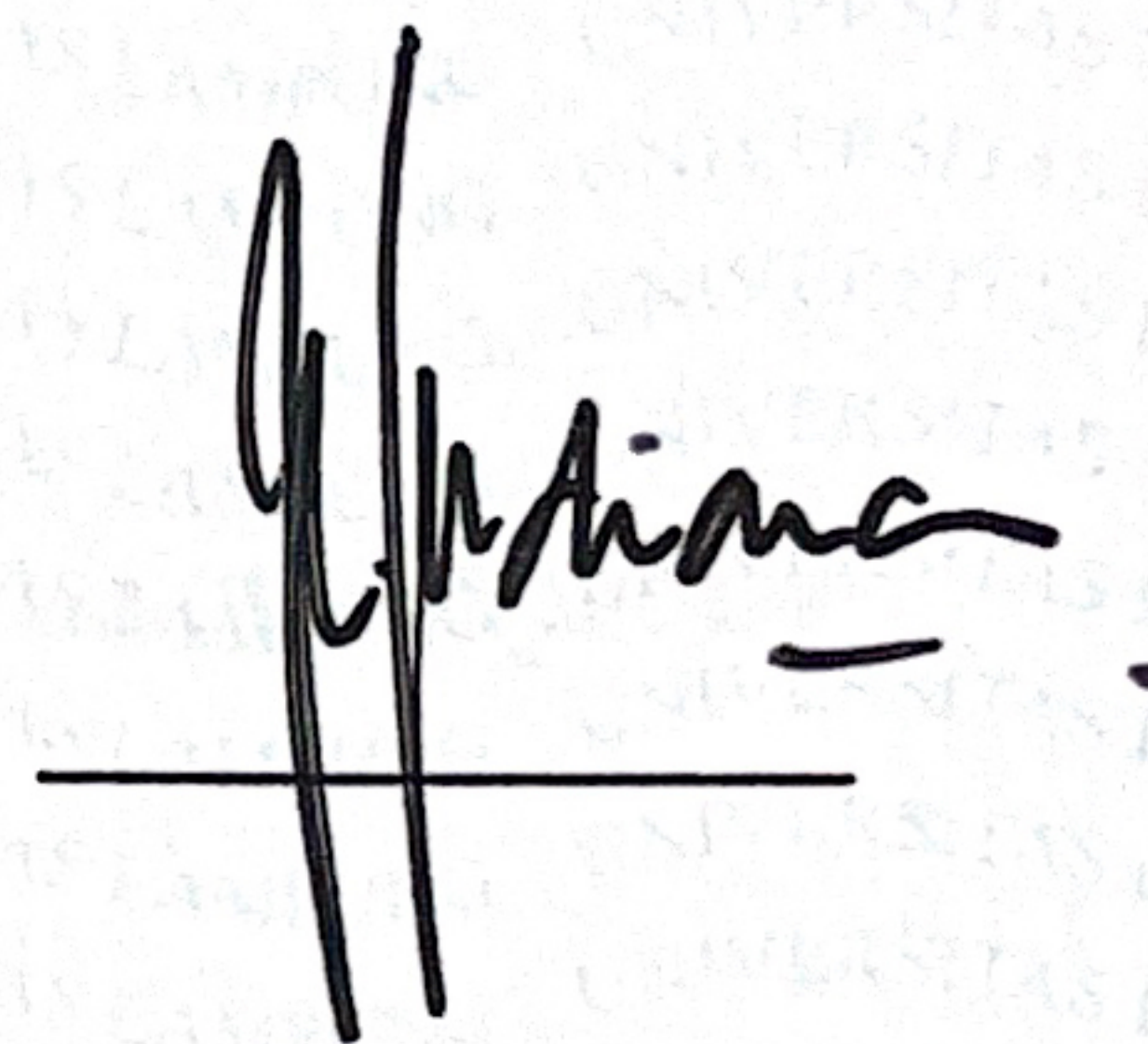
: **Dr. Ir. Subeki, M.Si., M.Sc.**



Penguji

Bukan Pembimbing

: **Novita Herdiana, S.Pi., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Pertanian



Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.

NIP. 19611020 198603 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 14 Februari 2023

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Titania Dwi Amarta Putri

NPM : 1714051023

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil kerja saya sendiri yang berdasarkan pada pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukanlah hasil plagiat karya orang lain.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 14 Februari 2023

Yang membuat pernyataan



Titania Dwi Amarta Putri

NPM. 1714051023

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Palembang, 03 September 1998, sebagai anak kedua (kembar kedua) dari pasangan Bapak Tanzili dan Ibu Marlintina. Penulis memiliki dua orang kakak dan seorang adik. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Tegal Rejo pada tahun 2005. Penulis memulai Pendidikan sekolah dasar di SD Negeri No. 112305 Padang Halaban pada tahun 2005-2007, kemudian melanjutkan Pendidikan dasar di SD Negeri No. 299/VI Langling pada tahun 2007-2010. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Simbarwaringin pada tahun 2010-2011, kemudian melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMP Negeri 9 Metro dan lulus pada tahun 2014. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 2 Metro dan lulus pada tahun 2017.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung pada tahun 2017 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Pada bulan Januari sampai dengan Februari 2020, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Tematik di Pekon Negeri Kelumbayan, Kecamatan Kelumbayan, Kabupaten Tanggamus. Pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2020, penulis melaksanakan Praktik Umum (PU) di UMKM Telaga Rizqy Kecamatan Metro Timur, dan menyelesaikan laporan PU yang berjudul — Mempelajari Proses Distribusi dan Pemasaran Produk Susu Kambing di Telaga Rizky.

Selama menjadi mahasiswa penulis juga aktif diorganisasi kemahasiswaan pada Himpunan Mahasiswa Jurusan Teknologi Hasil Pertanian sebagai anggota dan ikut berperan aktif dalam setiap kegiatan yang dilaksanakan pihak jurusan. Selain itu, penulis juga aktif di Unit Kegiatan Mahasiswa Sains dan Teknologi

Universitas Lampung (Saintek Unila). Penulis aktif dalam kegiatan kemahasiswaan yaitu sebagai anggota Kesekretariatan Sains dan Teknologi Universitas Lampung (Saintek Unila) periode 2018/2019.

SANWACANA

Alhamdulillah rabbil 'alamin. Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Pada kesempatan ini secara khusus penulis mengucapkan rasa terimakasih yang tidak terhingga kepada semua pihak yang telah meluangkan waktu untuk memberikan saran dan bimbingan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si., selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Lampung;
2. Bapak Dr. Erdi Suroso, S.T.P., M.T.A., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang telah banyak memberikan, pengarahan, saran, nasihat dan masukannya dalam penyusunan skripsi dan selama perkuliahan;
3. Bapak Dr. Ir. Samsu Udayana Nurdin, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik sekaligus sebagai Dosen Pembimbing Pertama, yang bersedia membimbing tiap langkah dalam pengerjaan skripsi ini. Terima kasih atas kesabaran, motivasi, nasihat, kesempatan serta bantuan dan fasilitas hingga penyusunan skripsi ini selesai;
4. Bapak Dr. Ir. Subeki, M. Si., M.Sc., selaku Dosen Pembimbing kedua, yang telah memberikan banyak arahan, bimbingan, masukan, serta dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini;
5. Ibu Novita Herdiana, S.Pi., M.Si., selaku pembahas yang telah memberikan semangat, nasihat, kritik dan saran guna terselesaikannya skripsi ini;
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen pengajar, staff dan karyawan di Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, yang telah mengajari, membimbing, dan juga membantu penulis dalam menyelesaikan administrasi akademik;

7. Kedua orang tua serta keluarga tercinta yang telah banyak memberikan dorongan semangat, motivasi, materi dan yang selalu menyertai penulis dalam do'anya selama ini;
8. Sahabat-sahabatku Tantiana Dwi Amarta P., Thias Wulandari., Lani Yuniarti, Aulia Githa N, Dessi Fatmawati, Nining Yuliyanti yang selalu berbagi cerita, selalu ada dalam kehidupan kampus baik suka maupun duka, selalu mendukung, serta tempat berkeluh kesah;
9. Keluarga besar THP angkatan 2017 Fakultas Pertanian Universitas Lampung yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas pengalaman, dukungan, canda tawa, serta kebersamaannya selama ini.

Penulis berharap semoga Allah membalas seluruh kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dan semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 14 Februari 2023

Penulis

Titania Dwi Amarta Putri

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR.....	v
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang dan Masalah.....	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Kerangka Pemikiran.....	3
1.4. Hipotesis.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Pati Jagung	5
2.2. Asam Galat.....	7
2.3. <i>Free Radical Grafting</i> (FRG)	9
2.4. Diabetes Melitus	10
2.5. Enzim α -amilase dan α -glukosidase	12
2.5. Penghambatan Enzim α -amilase dan α -glukosidase	13
III. BAHAN DAN METODE	
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2. Alat dan Bahan.....	15
3.3. Metode Penelitian	16
3.4. Pelaksanaan Penelitian.....	17
3.4.1. Pembuatan Senyawa Radikal.....	17
3.4.2. Persiapan Sintesis Konjugat Pati-Asam Galat	17
3.5. Pengamatan	20
3.5.1. Analisis Total Fenol.....	20
3.5.2. Penghambatan Aktivitas Enzim α -amilase	21

3.5.3. Penghambatan Aktivitas Enzim α -glukosidase	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Total Fenol	24
4.2. Penghambatan Aktivitas Enzim α -amilase	27
4.3. Penghambatan Aktivitas Enzim α -glukosidase.....	30
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	33
5.2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Formulasi pati jagung dan asam galat	16
2. Total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat.....	25
3. Penghambatan aktivitas enzim α -amilase pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat	27
4. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat	30
5. Nilai absorbansi kurva standar asam galat	40
6. Absorbansi total fenol	41
7. Total fenol (ppm GAE)	41
8. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) total fenol.....	42
9. Analisis ragam total fenol	42
10. Uji BNT total fenol	43
11. Kadar glukosa (mg/dL)	43
12. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) kadar glukosa....	44
13. Analisis ragam kadar glukosa	44
14. Uji BNT penghambatan enzim α -amilase.....	45
15. Absorbansi penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase.....	45
16. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase (%).....	46
17. Uji kehomogenan (kesamaan) ragam (<i>Bartlett's test</i>) enzim α -glukosidase (%)	46
18. Analisis ragam penghambatan enzim α -glukosidase (%)	47
19. Uji BNT penghambatan enzim α -glukosidase	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur rantai linier dari molekul amilosa.....	6
2. Struktur molekul amilopektin.....	6
3. Struktur kimia asam galat.....	8
4. Proses konjugasi pati dengan asam galat	10
5. Proses pembuatan senyawa sumber radikal	17
6. Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat menggunakan metode <i>Free Radical Grafting</i> (FRG).....	19
7. Total fenol pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat.....	26
8. Kadar glukosa pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat.....	28
9. Penghambatan aktivitas α -glukosidase pati jagung yang dikonjugasikan dengan berbagai konsentrasi asam galat	31
10. Kurva standar asam galat	40
11. Proses <i>free radical grafting</i> pati-asam galat	48
12. Proses <i>free radical grafting</i> pati-asam galat	49
13. Analisis sampel	50

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan metabolisme yang terjadi pada organ pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah atau sering disebut dengan kondisi hiperglikemia. Diabetes melitus (DM) diklasifikasikan menjadi 4 antara lain diabetes tipe 1, diabetes tipe 2, diabetes tipe spesifik, diabetes melitus gestational (ADA, 2014). Data International Diabetes Federation (IDF) (2019) menyatakan bahwa jumlah penderita diabetes di Indonesia diperkirakan mencapai 10,7 juta jiwa dengan menempati urutan ke-7 tertinggi di dunia. Prevalensi diabetes melitus (DM) diperkirakan terus mengalami peningkatan di seluruh dunia termasuk Indonesia. Berdasarkan data riset kesehatan dasar (2018), penduduk Indonesia yang berusia ≥ 15 tahun sebagai penderita diabetes melitus (DM) sebanyak 8,5%. Prevalensi diabetes tertinggi yang terdiagnosis dokter terdapat di DKI Jakarta (3,4%), DI Yogyakarta (3,1%), Kalimantan Timur (3,1%), dan Sulawesi Utara (3,0%). Prevalensi diabetes melitus (DM) di seluruh dunia termasuk Indonesia diperkirakan akan terus mengalami peningkatan.

Penyakit diabetes melitus (DM) memiliki hubungan yang erat dengan karbohidrat yang dikonsumsi, khususnya pati yang tinggi dianggap menjadi salah satu faktor resiko penting terjadinya diabetes melitus (DM). Pati akan dicerna dengan bantuan enzim α -amilase dan α -glukosidase, lalu diserap dalam bentuk glukosa yang akan meningkatkan kadar glukosa dalam darah (Febrinda dkk., 2013). Salah satu alternatif pendekatan yang dapat dilakukan untuk mengendalikan kadar glukosa darah adalah dengan menghambat kinerja enzim yang bertugas untuk menghidrolisis karbohidrat menjadi gula sederhana (glukosa), yaitu enzim α -

amilase dan α -glukosidase (Sales *et al.*, 2012). Penghambatan terhadap enzim yang terlibat pada pencernaan pati di saluran pencernaan menjadi cara penting untuk mengendalikan gula darah penderita diabetes melitus (DM) (Kalita *et al.*, 2018).

Penghambatan aktivitas enzim dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa fenolik yang terdapat pada tanaman. Mcdougall *et al.* (2003) menunjukkan bahwa senyawa fenolik dari beberapa tanaman mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase dan menghambat enzim α -glukosidase. Penelitian yang dilakukan oleh Wahyuni (2020) telah membuktikan secara *in vitro* bahwa senyawa fenolik dari beberapa tanaman mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase. Sumber senyawa fenolik terdapat pada beberapa jenis tanaman antara lain stroberi dan rasberi (Mcdougall *et al.*, 2003), daun gandaria (wahyuni, 2020), daun jambu biji (Akila *et al.*, 2018) dan daun teh (Nadiah *et al.*, 2018). Huafu (2000) menunjukkan bahwa teh hijau mengandung jumlah katekin tertinggi. Katekin yang terkandung pada teh yaitu *Catechin* (C), *Epicatechin* (EC), *Epigallocatechin* (EGC), *Epicatechin gallate* (ECG) dan *Epigallocatechin gallate* (EGCG).

Nadiah *et al.* (2018) memaparkan bahwa senyawa fenolik dari berbagai jenis daun teh (hijau, oolong, dan hitam) memiliki aktivitas penghambatan enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase. Daun teh hijau mengandung jumlah katekin yang lebih tinggi dari pada teh oolong dan daun teh hitam. Tetapi hanya galloKatekin galat yang terdapat pada teh hitam. Penelitian yang dilakukan oleh Cirillo *et al.* (2012) mengkonjugasikan pati dengan quarcetin menghasilkan antioksidan yang tinggi. *free radical grafting* dapat digunakan untuk mengkonjugasikan senyawa fenolik dan senyawa polisakarida. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan pati jagung termodifikasi dengan metode *free radical grafting* yang menggunakan asam galat dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase.

1.2. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi asam galat yang dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) terhadap aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase.
2. Mengetahui konsentrasi asam galat yang dapat dikonjugasikan pada pati jagung dengan metode *Free Radical Grafting* (FRG) yang dapat menghasilkan penghambatan tertinggi terhadap enzim α -amilase dan α -glukosidase.

1.3. Kerangka Pemikiran

Senyawa fenol mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase sehingga dapat mengendalikan hiperglikemia (Ademiluyi dan Oboh, 2013; Najafian, 2015). Gugus hidroksil pada struktur fenol dapat membentuk ikatan hidrogen dengan gugus OH yang ada pada sisi aktif asam amino enzim (Ng *et al.*, 2015). Selain itu, pati dan senyawa fenol dilaporkan mampu membentuk ikatan kovalen melalui jembatan eter pada C4 karbohidrat dan jembatan H⁺. Kompleks antara fenol dan pati tersebut mengakibatkan perubahan struktur molekul pati sehingga tidak dikenali oleh enzim pencernaan (Deshpande *et al.*, 1982; Griffiths, 1980). Oleh karena fenol menyebabkan perubahan struktur enzim ataupun pati, maka semakin tinggi total fenol yang terkandung dalam bahan maka efek penghambatan aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase dalam memecah pati menjadi glukosa pun semakin besar.

Penggunaan metode *Free Radical Grafting* (FRG) diduga dapat bekerja secara efektif dengan senyawa fenolik sehingga dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase. Cirillo *et al.* (2012) menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) dalam mengkonjugasi pati jagung dengan quercetin membentuk ikatan kovalen. Konjugasi pati jagung –quercetin memiliki beberapa kelebihan yaitu sifat antioksidan yang tinggi, dapat menghambat terbentuknya radikal bebas, serta memiliki potensi mencegah penyakit Alzheimer dan diabetes

(Cirillo *et al.*, 2012). Penelitian ini diharapkan dapat mengkonjugasi asam galat ke pati untuk menghasilkan pati yang dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase sehingga dapat menurunkan daya cerna pati.

1.4. Hipotesis

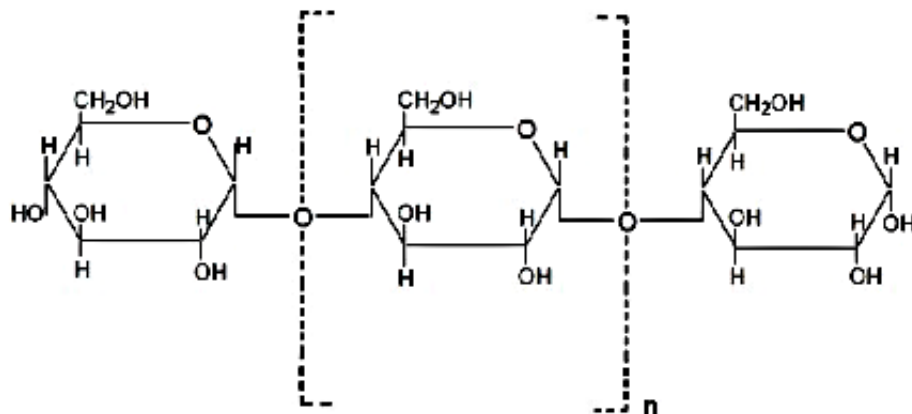
Hipotesis yang diajukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat pengaruh konsentrasi asam galat dan pati jagung yang dikonjugasikan menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) terhadap penghambatan aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase.
2. Terdapat konsentrasi asam galat terbaik yang dapat dikonjugasikan pada pati jagung menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) yang menghasilkan penghambatan tertinggi terhadap enzim α -amilase dan α -glukosidase.

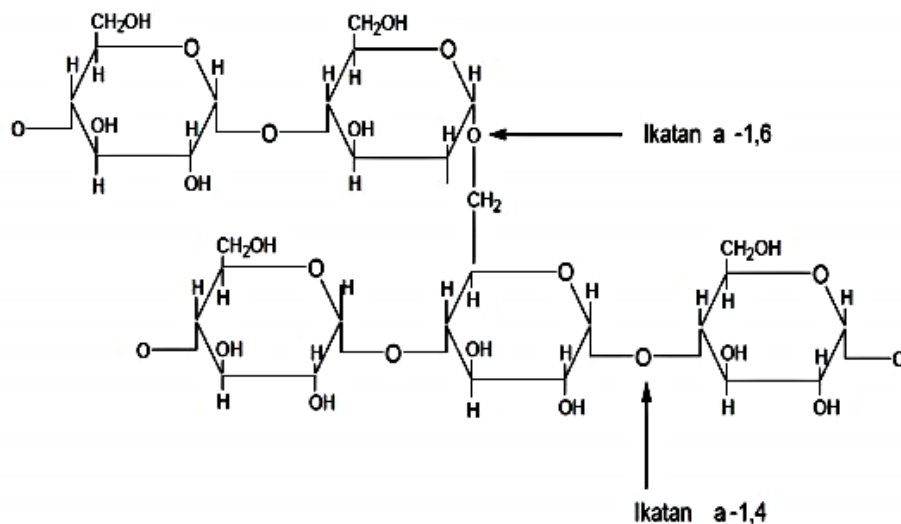
II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pati Jagung

Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan α -glikosidik, yang banyak terdapat pada tumbuhan terutama pada biji-bijian, umbi-umbian. Sumber pati utama di Indonesia diperoleh dari jagung, kentang, tapioka, sagu, gandum, dan lain-lain. Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai atom karbonnya, serta lurus atau bercabang. Secara alami pati merupakan butiran-butiran kecil yang sering disebut granula. Pati adalah karbohidrat kompleks yang tidak larut dalam air, berwujud bubuk putih, tawar dan tidak berbau. Pati tersusun paling sedikit oleh tiga komponen utama yaitu amilosa, amilopektin dan material antara seperti, protein dan lemak. Pati mengandung 15 – 30% amilosa, 70 – 85% amilopektin dan 5 – 10% material antara. Amilosa adalah polimer glukosa yang berantai lurus yang terikat dengan ikatan α -(1,4) sedangkan amilopektin adalah polimer glukosa yang bercabang dengan ikatan α -(1,4) dan ikatan α -(1,6) sebagai titik percabangannya (Koswara, 2006). Struktur rantai linier dari molekul amilosa dapat dilihat pada Gambar 1 dan struktur molekul amilopektin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Struktur rantai linier dari molekul amilosa.



Gambar 2. Struktur molekul amilopektin

Menurut Xu *et al.* (2013) menyatakan bahwa dua varietas pati jagung yang diperoleh dari pertanian Southern States dan Pioneer memiliki kandungan amilosa masing masing sebesar 19,9% dan 26,9%. Pada penelitian lain kandungan amilosa dari varietas pati jagung yang berbeda berkisar antara 16,9% dan 21,3% (Sandhu *et al.*, 2007). Pati jagung memiliki keunggulan nilai glikemik sebesar 50-90. Nilai indeks glikemik pati jagung tergolong lebih rendah dibandingkan indeks glikemik pada beras sebesar 120. Jagung dan produk olahannya sangat dianjurkan bagi penderita diabetes melitus. Pati memiliki perbedaan bentuk dan ukuran granula tergantung pada jenis tanamannya Pati umumnya tersusun dari 25% amilosa dan

75% amilopektin. Amilosa merupakan polimer berbentuk panjang dan lurus dan sedikit cabang (kurang dari 1%) dengan berat molekul 500.000 g/mol

Modifikasi pati adalah cara mengubah struktur dan mempengaruhi ikatan hidrogen dengan cara terkontrol untuk meningkatkan dan memperluas kegunaannya. Pati diberi perlakuan tertentu dengan tujuan menghasilkan sifat yang lebih baik untuk memperbaiki sifat sebelumnya atau untuk merubah sifat sebelumnya. Perlakuan ini dapat mencakup penggunaan panas, alkali, asam atau bahan kimia lainnya yang akan menghasilkan gugus kimia baru, perubahan bentuk, ukuran serta struktur molekul pati (Koswara, 2006).

Pati alami memiliki kekurangan yang sering menghambat dalam proses pengolahannya. Pati alami memiliki beberapa kekurangan seperti sifat fungsional *swelling volume* dan *solubility* yang rendah dan rentan mengalami retrogradasi dan stabilitas yang rendah (Subroto, 2021). Modifikasi pati diharapkan dapat memperbaiki sifat fisik, kimia dan fungsional dari pati alami. Salah satu cara modifikasi pati secara fisik yang dapat dilakukan untuk mengubah sifat-sifat pati adalah dengan metode *Free Radical Grafting (FRG)*.

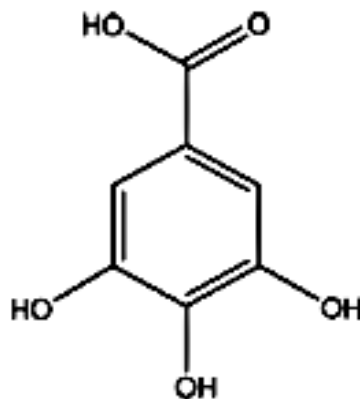
2.2. Asam Galat

Asam galat (3, 4, 5-trihydroxybenzoic acid) adalah senyawa fenolik antioksidan yang diektrak dari tanaman yang bukan tergolong dalam flavonoid, khususnya tanaman teh hijau (Lu *et al.*, 2006), yang secara luas digunakan dalam makanan, obat-obatan, dan kosmetik. Asam galat merupakan salah satu senyawa aktif yang banyak digunakan dalam bidang medis. Senyawa ini terdapat sebagai metabolit sekunder pada tanaman (Vazirian *et al.*, 2011). Asam galat dalam tanaman terdapat pada konsentrasi yang kecil. Senyawa polifenol alami pada tumbuhan banyak ditemukan dalam kulit buah (Juniadi, 2018), daun teh (Nadiyah *et al.*, 2018), anggur, daun jambu biji, dan buah-buahan (Hala, 2020).

Asam galat merupakan salah satu senyawa fenol yang memiliki aktifitas antijamur, antivirus, memiliki kemampuan sitotoksik melawan sel kanker tanpa

merusak sel tubuh lainnya. Asam galat memiliki kemampuan sebagai agen antioksidan lebih kuat dibanding trolox, suatu analog dari vitamin E yang larut dalam air. Asam galat termasuk dalam golongan antioksidan alami yang sering digunakan sebagai pengawet makanan. Asam galat sering dijadikan sebagai acuan dalam banyak penelitian terkait dengan penetapan kandungan fenolik total sebagai ekuivalen kandungan fenolik total bahan yang diuji.

Struktur asam galat memiliki gugus fungsi –OH yang mampu bereaksi dengan radikal bebas sehingga menghindari proses oksidasi lebih lanjut. Gugus fungsi dalam struktur asam galat yang bertanggung jawab memberikan aktivitas antioksidan adalah 3 gugus hidroksil. Menurut Marino *et al.* (2014), asam galat mampu bereaksi dengan radikal bebas peroksi dan hidroperoksi yang terbentuk dari reaksi oksidasi. Radikal asam galat yang terbentuk distabilkan melalui interaksi dua ikatan hidrogen pada posisi ortho (Badhani *et al.*, 2015). Struktur asam galat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Asam Galat

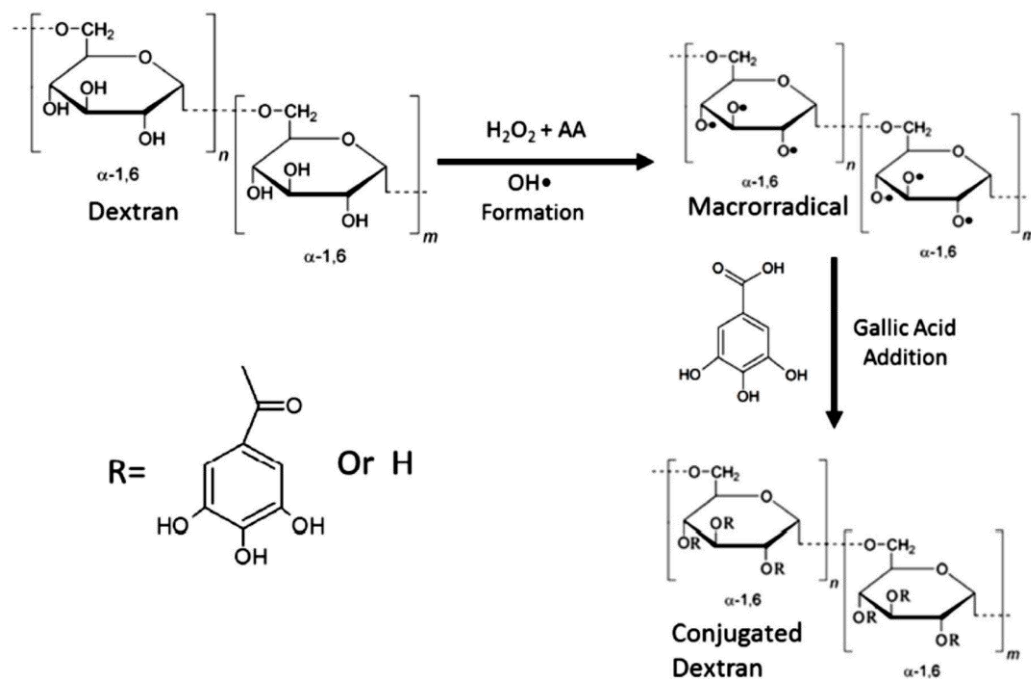
Senyawa fenolik merupakan terbesar metabolit sekunder pada tanaman. Senyawa fenolik secara umum memiliki bakterisidal, anti septik, antioksidan, dan sebagainya (pengelly, 2006). Senyawa fenolik dapat bertindak sebagai antioksidan untuk mencegah penyakit jantung, mengurangi peradangan, menurunkan kanker dan diabetes. Antioksidan bermanfaat untuk mencegah terjadinya stress oksidatif yang dapat menghambat pertumbuhan penyakit seperti diabetes (Sriyadi, 2012), kanker, stroke dan jantung koroner. Asam galat memiliki khasiat utamanya sebagai

antioksidan. Ekuivalen asam galat merupakan acuan umum untuk mengukur jumlah senyawa golongan fenolik yang terdapat dalam suatu sampel atau bahan.

2.3. *Free Radical Grafting* (FRG)

Free Radical Grafting (FRG) adalah salah satu metode untuk menghasilkan konjugasi antara polisakarida dan senyawa fenolik dengan menggunakan sistem inisiator redoks. Konjugat polisakarida-polifenol disintesis menggunakan pasangan redoks, asam askorbat dan H_2O_2 yaitu suatu bahan biokompatibel yang larut dalam air (Curcio *et al.*, 2009). Pasangan redoks asam askorbat dan H_2O_2 bereaksi membentuk askorbat dan radikal hidroksil, kemudian radikal hidroksil menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga terbentuknya polisakarida makro-radikal, yang selanjutnya bereaksi dengan gugus cincin pada polifenol untuk membentuk ikatan kovalen. Secara spesifik, bahwa radikal hidroksil yang dihasilkan oleh interaksi antara komponen pasangan redoks, dapat menyerang atom-H pada rantai samping R-metilena (CH_2) atau gugus hidroksil (OH) dari gugus hidroksimetilen polisakarida.

Menurut Curcio *et al.* (2009) Kelebihan dari metode *Free Radical Grafting* (FRG) ialah reaksi berlangsung dengan cepat, ramah lingkungan, tanpa penggunaan pelarut organik dan tidak menghasilkan produk samping berupa senyawa toksik. Curcio *et al.* (2009) menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG) dalam mengkonjugasikan pati jagung dengan *quercetin* membentuk ikatan kovalen sehingga dihasilkan senyawa yang memiliki beberapa kelebihan yaitu antioksidan yang tinggi, menghambat terbentuknya radikal bebas, serta memiliki potensi mencegah penyakit diabetes. Proses konjugasi pati dengan asam galat dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses konjugasi pati dengan asam galat (Queiroz *et al.*, 2019).

Queiroz *et al.* (2019) melakukan penelitian yaitu mengkonjugasikan dextran dengan asam galat, dengan bantuan H_2O_2 dan asam askorbat akan bereaksi membentuk radikal hidroksil, kemudian radikal hidroksil menyerang atom-H pada rantai samping molekul polisakarida sehingga terbentuk polisakarida makroradikal. Selanjutnya akan berikatan dengan gugus aktif pada asam galat. Sehingga terbentuk konjugat dextran.

2.4. Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit dimana tubuh penderita tidak dapat mengendalikan tingkat glukosa dalam darah. Penyakit ini disebabkan oleh gangguan metabolisme yang terjadi pada organ pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah, kekurangan insulin menghambat glukosa dalam darah yang masuk dalam sel, sehingga kadar glukosa dalam pembuluh darah mengalami peningkatan atau sering disebut dengan kondisi hiperglikemia (ADA, 2014). Hiperglikemia terjadi karena gangguan sekresi dan aktivitas insulin atau

keduanya. Penderita DM tipe 2 memiliki kadar gula darah puasa ≥ 126 mg/dL dan kadar gula darah sewaktu dan setelah 2 jam makan ≥ 200 mg/dL.

Diabetes melitus (DM) dibagi menjadi dua tipe yaitu diabetes tipe I dan diabetes tipe II. DM tipe I didefinisikan sebagai tipe diabetes yang bergantung pada insulin atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), sedangkan DM tipe II didefinisikan sebagai diabetes yang tidak bergantung pada insulin atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Penderita diabetes melitus (DM) tipe I mengalami kerusakan sel β pankreas yang menghasilkan insulin, akibatnya sel-sel β pankreas tidak dapat mensekresikan insulin atau hanya dapat mensekresikan insulin dalam jumlah sedikit. Kerusakan pada sel-sel β pankreas disebabkan oleh peradangan pada pankreas. Akibat sel-sel β pankreas tidak dapat membentuk insulin atau insulin hanya ada dalam jumlah sedikit maka penderita diabetes tipe I ini selalu bergantung pada insulin. Pengobatan DM tipe I dilakukan dengan pemberian insulin kepada penderita (Purwatresna, 2012).

Penderita diabetes melitus (DM) tipe II tidak mengalami kerusakan sel-sel β pankreas tetapi insulin yang disekresikan jumlahnya menurun. Penurunan tersebut disertai defisiensi insulin hingga resistensi insulin. DM tipe II umumnya disebabkan oleh obesitas atau kelebihan berat badan. Pengobatan DM tipe II dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olahraga, namun dapat pula diobati dengan obat-obat antidiabetes. DM tipe 2 inilah yang banyak diderita oleh masyarakat (Jafar, 2009).

Menurut Waspadji (2009), pengelolaan diabetes melitus (DM) dapat dilakukan dalam jangka pendek ataupun jangka panjang. Pengelolaan jangka pendek bertujuan untuk menghilangkan keluhan atau gejala DM dan mempertahankan rasa nyaman dan sehat. Pengelolaan jangka panjang bertujuan untuk mencegah penyakit baik makroangiopati/pembuluh darah besar (jantung), mikroangiopati/pembuluh darah kecil (ginjal dan retina mata), maupun neuropati/sistem saraf perifer dengan tujuan akhir menurunkan morbiditas dan mortalitas DM.

2.5. Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase

Enzim α -amilase adalah endoenzim yang bekerja dengan menghidrolisis pati pada ikatan α -1,4 glukosidik menjadi monosakarida dan disakarida. Enzim α -amilase akan memutus ikatan α -1,4 bagian dalam molekul baik pada amilosa maupun pada amilopektin. Enzim α -amilase bersifat stabil pada kisaran pH antara 5,5-8,0. Kerja enzim α -amilase pada molekul amilosa meliputi dua tahap. Pertama, degradasi amilosa menjadi maltotriosa yang terjadi secara cepat. Tahap kedua terjadi pembentukan glukosa dan maltosa sebagai hasil akhir. Proses ini berlangsung dengan sangat lambat. Hidrolisa enzim α -amilase pada molekul amilopektin akan menghasilkan glukosa, maltosa, dan α -limit dekstrin (Winarno, 1989).

Enzim α -glukosidase (EC 3.2.1.20) adalah enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan 1,4 α -glikosida pada ujung non pereduksi dari maltooligosakarida dengan melepas α -D-glukosa. Enzim ini juga dapat menghidrolisis secara lambat ikatan 1,6- α -Dglukosidik sehingga dapat melanjutkan kerja α amilase, yaitu menghidrolisis lanjut α -limit dekstrin menjadi glukosa (Berdanier *et al.*, 2006). Enzim α -glukosidase termasuk kedalam kelompok enzim eksoamilase (Reddy *et al.*, 2005). Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang mengkatalisis proses akhir pencernaan karbohidrat pada proses pencernaan dengan hasil akhir berupa glukosa. Glukosa yang dihasilkan selanjutnya akan diabsorpsi pada lumen usus halus dan masuk kedalam sirkulasi darah sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa darah (Luo *et al.*, 2012).

Pati adalah karbohidrat yang merupakan polimer glukosa yang terdiri atas amilosa dan amilopektin yang memiliki karakteristik yang berbeda. Pati akan dicerna oleh bantuan enzim didalam mulut dan usus menjadi gula sederhana yang kemudian akan diserap kedalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Berdasarkan mekanisme hidrolisis enzimatis, hanya amilosa yang dapat dihidrolisis oleh enzim α -amilase dengan memotong ikatan 1,4-glikosidik, sedangkan amilopektin dapat dihidrolisis oleh enzim α -glukosidase untuk memutus rantai cabangnya yaitu ikatan 1,6-glikosidik (Wijaya dkk., 2012).

2.6. Penghambatan Enzim α -Amilase dan α -Glukosidase

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berperan sebagai katalis atau senyawa yang dapat mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi (Wirahadikusuma, 1989). Kinerja enzim dapat dihambat oleh inhibitor. Molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat proses perubahannya oleh enzim menjadi molekul lain yang disebut produk. Kinerja dari enzim ini dapat dihambat oleh inhibitor. Cara kerja inhibitor (penghambat) adalah dengan menyerang sisi aktif enzim sehingga enzim tidak dapat berikatan dengan substrat sehingga fungsi kataliknya terganggu (Winarno, 1989).

Penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase merupakan salah satu cara pengobatan penderita diabetes melitus untuk menurunkan kadar glukosa darah. Inhibitor α -amilase dan α -glukosidase adalah salah satu agen antidiabetic yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -amilase dan α -glukosidase. Dengan adanya penghambatan enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase akan berpengaruh terhadap metabolisme didalam saluran pencernaan antara lain mengganggu atau memperlambat pemecahan karbohidrat sehingga akan mengurangi ketersediaan kalori atau mempengaruhi sistem glukosa-insulin (Judgje *et al.*, 2006). Penghambatan terhadap enzim ini menyebabkan penghambatan absorpsi glukosa sehingga menurunkan keadaan hiperglikemia setelah makan. Hal ini merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia postprandial. Inhibitor α -amilase dan α -glukosidase merupakan obat antidiabetes oral yang digunakan untuk mengobati diabetes melitus tipe II (Sarjono, 2010).

Salah satu penghambatan aktivitas enzim pencernaan adalah senyawa fenolik yang banyak terdapat pada tanaman (Wahyuntari, 2011). Senyawa fenolik ini mampu membentuk senyawa kompleks dengan pati. Kompleks antara fenol dan pati mengakibatkan perubahan struktur molekul pati sehingga tidak dikenali oleh enzim pencernaan. Hal ini menyebabkan pati tidak dapat dihidrolisis oleh enzim pencernaan karena sisi aktif enzim tidak dapat mengenali substratnya yaitu

senyawa kompleks yang berbentuk dari pati dan senyawa fenolik (Deshpande, 1982; Griffiths, 1980).

III. BAHAN DAN METODE

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Hasil Pertanian dan Laboratorium Analisis Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2021 sampai dengan Desember 2021.

3.2. Alat dan Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah Pati Jagung (Sigma-Aldrich), Asam galat (Sigma), H_2O_2 *food grade* (Merck), asam askorbat (Sigma-Aldrich), aquades dan $\text{Fe}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5mM) dan bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis antara lain enzim α -amilase (Sigma, EC 3.2.1.1), enzim α -glukosidase (Sigma, EC 3.2.1.20), buffer fosfat, *starch soluble* (Merck), Na_2CO_3 2%, reagen DNS (Sigma), HCl, NaOH, kalium natrium tartat tetrahidrat (Merck), dan substrat PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranosyde*), reagen folin ciocalteu.

Alat yang digunakan adalah neraca analitik, Erlenmeyer, mikropipet, pipet tip, *magnetic stirrer*, penjepit, karet gelang, sterofoam, ember, gelas ukur, *beaker glass*, labu ukur, tabung *dialysis* D9527-100ft, *vortex* (H-VM-400), *Erlenmayer shaker*, aluminium foil, penangas air, corong, stopwatch, loyang, Oven, tabung sentrifuge, sentrifuge (Plc Series), Kuvet, spektrofotometer UV-Vis (Inesa), *water bath*, pH meter, glukotest, dan *strip test*.

3.3. Metode

Penelitian disusun dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) non-faktorial dengan 5 perlakuan dan empat kali ulangan. Pada penelitian ini terdapat lima perlakuan pati-asam galat yang terdiri dari Pati-asam galat 0%. Pati-asam galat 0,5%, pati-asam galat 1%, pati-asam galat 1,5%, dan pati-asam galat 2%. Formulasi pati jagung dan asam galat dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Formula pati jagung dan asam galat

Formula	Konsentrasi Asam Galat (terhadap berat pati)	Berat Pati Jagung (gram)	Berat Asam Galat (gram)	Metode FRG
P1	0%	25	0	Ya
P2	0,5%	25	0,125	Ya
P3	1%	25	0,25	Ya
P4	1,5%	25	0,375	Ya
P5	2%	25	0,5	Ya
PM	-	25	-	Tidak

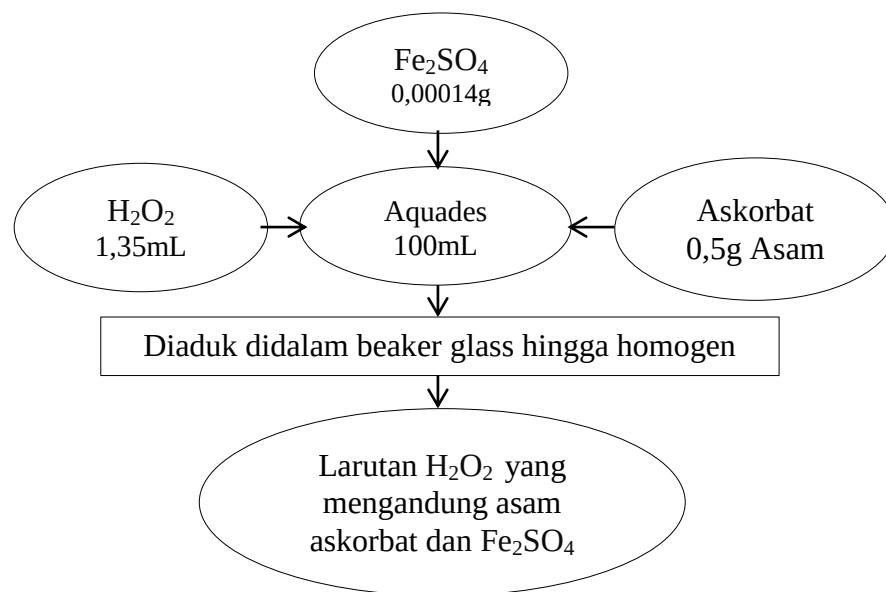
Keterangan : P1 : Penambahan asam galat konsentrasi 0% terhadap berat pati jagung
P2 : Penambahan asam galat konsentrasi 0,5% terhadap berat pati jagung
P3 : Penambahan asam galat konsentrasi 1% terhadap berat pati jagung
P4 : Penambahan asam galat konsentrasi 1,5% terhadap berat pati jagung
P5 : Penambahan asam galat konsentrasi 2% terhadap berat pati jagung
PM : Pati jagung tanpa penambahan asam galat dan perlakuan *grafting*

Kehomogenan data diuji dengan uji Barlett dan kemenambahan data diuji dengan uji Tuckey. Data dianalisis dengan sidik ragam untuk mendapatkan penduga ragam galat dan uji signifikan untuk mengetahui pengaruh perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan data dianalisis lebih lanjut menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5%.

3.4. Pelaksanaan Penelitian

3.4.1. Pembuatan Senyawa Radikal

Persiapan awal pembuatan senyawa radikal dengan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dengan mengikuti metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) yang dimodifikasi. Larutan H_2O_2 *food grade*, Fe_2SO_4 , aquades, dan asam askorbat dimasukkan kedalam beaker glass, kemudian diaduk hingga larut. Diagram alir proses pembuatan larutan H_2O_2 yang mengandung asam askorbat dan Fe_2SO_4 dapat dilihat pada Gambar 5.

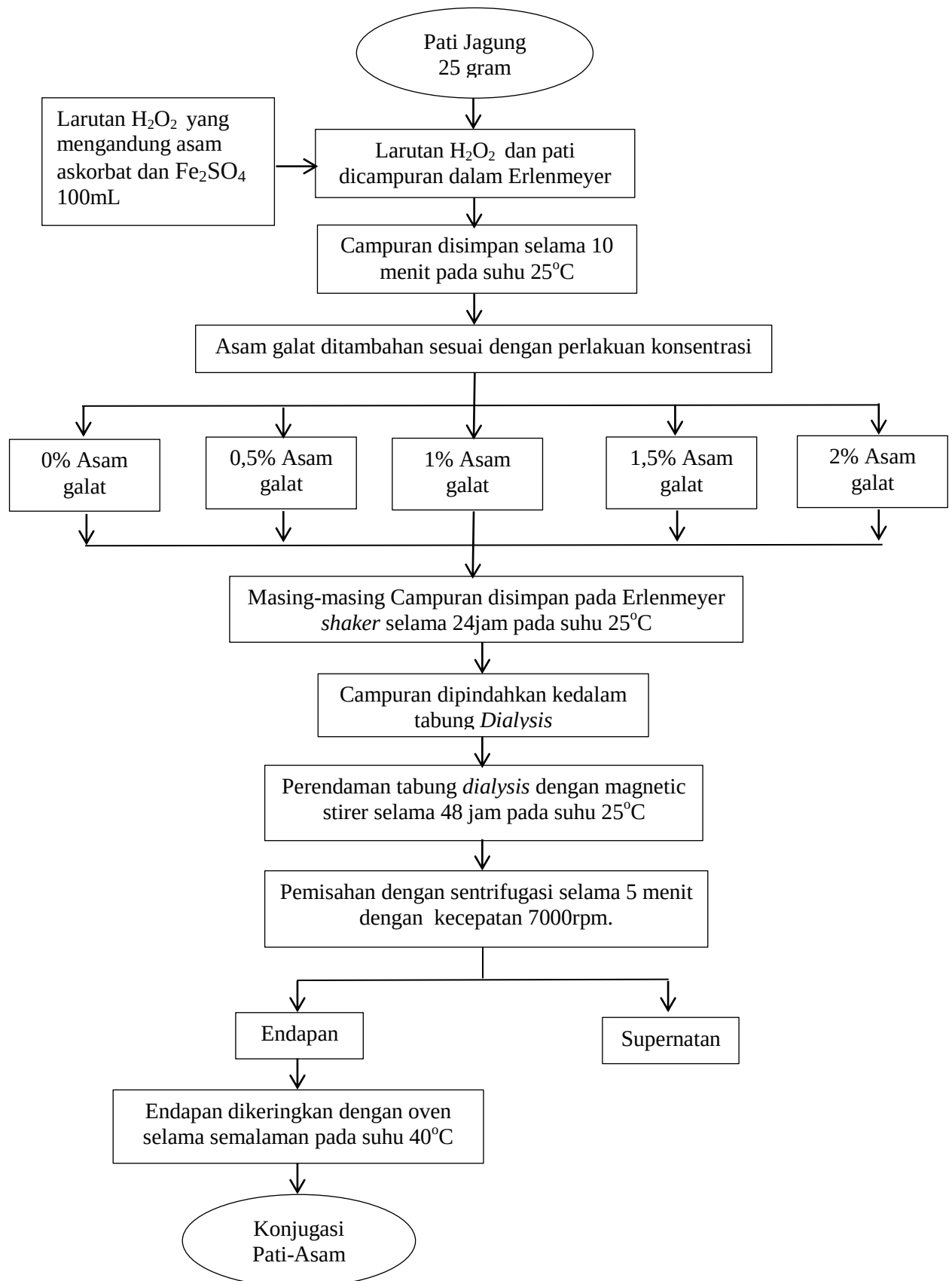


Gambar 5. Proses pembuatan senyawa sumber radikal Cirillo *et al.* (2012) dengan modifikasi.

3.4.2. Persiapan Sintesis konjugat pati-asam galat (PG)

Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat dilakukan mengikuti metode yang digunakan Cirillo *et al.* (2012) dengan sedikit modifikasi. Pati jagung (25 g) dilarutkan dalam beaker glass 25 ml dengan ditambahkan 100ml aquades yang mengandung 1,35 mL H_2O_2 , 0,0014 gram Fe_2SO_4 dan 0,5 gram asam askorbat. kemudian didiamkan selama 10 menit. Setelah 10 menit, asam galat ditambahkan ke dalam campuran tersebut dengan jumlah yang berbeda dengan perbandingan molar rasio pati asam galat masing-masing 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%. Kemudian

campuran diaduk menggunakan Erlenmeyer *shaker* pada suhu 25°C selama 24 jam dengan kecepatan 200 rpm. Senyawa hasil reaksi yang diperoleh selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung *dialysis* (MWCD : 14.000) dan direndam didalam wadah yang berisi aquades di *magnetic stirrer* pada suhu 20°C selama 48 jam. Pergantian aquades dilakukan setiap 24 jam. Larutan yang diperoleh selanjutnya disentrifugasi selama 5 menit. Endapan pati dikeringkan dengan pengering oven pada suhu 40°C. Diagram alir proses pembuatan konjugat pati-asam galat dengan metode *Free Radical Grafting (FRG)* dapat dilihat pada Gambar 6 berikut.



Gambar 6. Persiapan sintesis konjugat pati-asam galat menggunakan metode *Free Radical Grafting* (FRG).

3.5. Pengamatan

Pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap total fenol, penghambatan aktivitas enzim α -amilase dan penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase

3.5.1. Pengujian Total Fenol

Pengujian total fenol yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan metode Ismail *et al.* (2012). Tahapan yang dilakukan pada analisis total fenol diawali dengan menyiapkan konjugat pati-asam galat (sampel) sebanyak 0,2 mL ditambah dengan 0,2 mL aquades dan 0,2 mL reagen folin ciocalteu, dan kemudian divortex selama 1 menit. Setelah itu, campuran ditambahkan dengan 4 mL larutan natrium karbonat (Na_2CO_3) 2% dan divorteks kembali selama satu menit lalu didiamkan dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya, absorbansi dibaca pada panjang gelombang 760 nm.

Hasilnya diplotkan terhadap kurva standar asam galat dengan menggunakan persamaan regresi linier. Hubungan antara konsentrasi asam galat dinyatakan sebagai sumbu x dan besarnya absorbansi hasil reaksi asam galat dengan pereaksi Folin-Ciocalteu dinyatakan sebagai sumbu y. Pembuatan kurva standar fenol dibuat dengan cara menimbang 10 mg bubuk asam galat kemudian dilarutkan dalam 100 mL aquades. Selanjutnya, dibuat seri pengenceran 0 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 1,5 ppm, dan 2 ppm, lalu dilakukan perlakuan seperti sampel. Hasil yang diperoleh diplotkan pada kurva standar, yaitu :

$$y = ax + c$$

Keterangan :

y = Absorbansi sampel

x = Konsentrasi ekuivalen asam galat

a = Gradien

c = Intersef

3.5.2. Pengujian Penghambatan Enzim α -Amilase Pengujian penghambatan aktivitas enzim α -amilase menggunakan metode Thalapaneni *et al.* (2008).

a. Persiapan reagen

Larutan pati 1% (Sampel)

Substrat yang digunakan berupa pati 1%. Pati 1% dibuat dari 0,1 g pati dilarutkan dengan 10 mL aquades, kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit, lalu dibiarkan hingga dingin.

Larutan enzim α -amilase 0,5 mg/mL

Enzim α -amilase sebanyak 1g dilarutkan dalam 10 mL buffer fosfat 0,02 M, lalu dihomogenkan dengan menggunakan *stirer*.

b. Pengujian penghambatan enzim α -amilase

Larutan konjugat pati-asam galat (sampel) sebanyak 500 μ dimasukkan ke dalam 500 μ l larutan enzim α -amilase selanjutnya divortex lalu diuji menggunakan glukotest pada waktu 0 menit dan 60 menit. Strip glukosa dimasukkan ke glukometer kemudian sampel diteteskan pada zona sampel dengan perlahan sampai terdengar bunyi klik setelah itu hasil akan muncul pada layar dalam waktu 5 detik, hasil yang muncul kemudian dicatat dan strip dilepaskan dari alat. Secara otomatis layar akan menunjukkan nilai kadar gula darah. Selain itu, disiapkan satu tabung reaksi yang akan digunakan sebagai kontrol yang berisi aquades. Lalu ditambahkan 500 μ l larutan enzim α -amilase selanjutnya divortex lalu diuji menggunakan glukotest pada waktu 0 menit dan 60 menit. Hasil dibaca dengan mg/dL.

Peningkatan kadar glukosa setelah inkubasi 60 menit (mg/dL) = $N_2 - N_1$
--

Keterangan :

N_1 = nilai kadar gula darah 0 menit (mg/dL)

N_2 = nilai kadar gula darah 60 menit (mg/dL)

Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah strip test diletakkan pada alat, pada saat sampel ditetaskan pada zona reaksi test strip, katalisator glukosa akan mereduksi glukosa dalam sampel. Intensitas dari elektron yang terbentuk dalam alat strip setara dengan konsentrasi glukosa dalam sampel (Firgiansyah, 2016).

3.5.3. Pengujian Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pengujian penghambatan aktivitas α -glukosidase ditentukan dengan menggunakan metode Dewi *et al.* (2007) yang telah dimodifikasi. Modifikasi yang dilakukan berupa perubahan volume sampel konjugat pati-asam galat yang digunakan pada pengujian penghambatan enzim α -glukosidase, yaitu dari 5 μ L menjadi 10 μ L.

a. Persiapan reagen

Larutan substrat PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranosyde*) 20 mM

Substrat PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranosyde*) sebanyak 120,6 mg dilarutkan dalam 20 mL aquades, kemudian dihomogenkan menggunakan *stirer*.

Larutan enzim α -glukosidase 0,075 U/mL

Enzim α -glukosidase 19,3 U/mg ditimbang sebanyak 0,9 mg, lalu dilarutkan dalam 10 mL buffer kalium fosfat 0,1 M (pH 7), kemudian dihomogenkan menggunakan *stirer* sehingga diperoleh larutan enzim α -glukosidase 1,737 U/mL. Selanjutnya, larutan enzim α -glukosidase 1,737 U/mL diambil sebanyak 430 μ L, lalu dilarutkan dalam 10 mL buffer kalium fosfat 0,1 M (pH 7) sehingga diperoleh larutan enzim α -glukosidase 0,075 U/mL.

b. Pengujian penghambatan enzim α -glukosidase

Larutan konjugat pati-asam galat sebanyak 10 μ L ditambahkan campuran reaksi yang terdiri dari 250 μ L PNPG (*p-nitrophenyl- α -D-glucopyranosyde*) 20 mM, 495 μ L buffer fosfat 100 mM (pH 7). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, dan reaksi dimulai dengan menambahkan 250 μ L α -glukosidase (0,075 unit). Setelah itu, diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah inkubasi kedua, reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 mL Na₂CO₃ 0,1 M, lalu absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Selain itu, disiapkan satu tabung reaksi yang akan digunakan sebagai kontrol

yang berisi aquades. Lalu ditambahkan 250 μL PNPg 20 mM, 495 μL buffer fosfat 100 mM (pH 7). Selanjutnya, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, kemudian ditambahkan 250 μL α -glukosidase. Setelah itu, diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah inkubasi kedua, reaksi dihentikan dengan menambahkan 2 mL Na_2CO_3 0,1 M, lalu absorbansinya dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Persentase penghambatan aktivitas α -glukosidase dihitung melalui rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = \left[\left(\frac{A_o - A_s}{A_o} \right) \right] \times 100\%$$

Keterangan :

A_s = Absorbansi larutan sampel

A_o = Absorbansi kontrol (tanpa sampel)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Asam galat yang di konjugasikan dengan pati jagung dengan metode *Free Radical Grafting* (FRG) berpengaruh terhadap penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase.
2. Konsentrasi asam galat 2% per berat pati jagung menghasilkan total fenol 62,97 ppm GAE, penghambatan aktivitas enzim α -amilase 24.75 mg/dL dan α -glukosidase 96,59%.

5.2. Saran

Saran dalam penelitian ini adalah perlu dilakukan uji lanjut secara *in-vivo* dalam membuktikan bahwa konjugat pati-asam galat dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase sehingga dapat digunakan untuk membantu penderita diabetes melitus mengatasi hiperglikemia enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase.

DAFTAR PUSTAKA

- Ademiluyi, A.O. and Oboh, G. 2013. Soybean Phenolic-Rich Extracts Inhibit Key-Enzymes Linked to Type 2 Diabetes (A-Amylase And A-Glucosidase) and Hypertension (Angiotensin I Converting Enzyme) in Vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 65(3):305–309.
- Akila, B., Vijayalakshmi, R., Hemalatha, G. and Arunkumar, R. 2018. Development and Evaluation of Functional Property of Guava Leaf Based Herbal Tea. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 7(3):3036-3039.
- American Diabetes Association. 2020. Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 43(1):514-531.
- Anesini, Claudia, Graciela, E., Ferraro, and Rosana, F. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(19): 9225–29.
- Ariandi. 2016. Pengenalan Enzim Amilase (*Alpha-Amylase*) dan Reaksi Enzimatiknya Menghidrolisis Amilosa Pati Menjadi Glukosa. *Jurnal Dinamika*. 7(1):74-82.
- Azizah, Z., Misfadhila, S., dan Oktoviani, T. S., 2019. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Bubuk Kopi Olahan Tradisional Sungai Penuh-Kerinci Dan Teh Kayu Aro Menggunakan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). *Jurnal Farmasi Higea*. 11(2):105-112.
- Badhani, B., Sharma, N., and Kakkar, R., 2015. Gallic Acid: a Versatile Antioxidant with Promising Therapeutic and Industrial Applications. *RSC Adv* 5. 27540-27557.
- Berdanier, C. D., Dwyer, J., and Feldman, E., B. 2006. Handbook of nutrition and food. Second Edition. *CRC Press*. New York (USA).
- Cirillo, G., Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parii, O.I., Spizzirri, U.G., Altimari, I., and Picci, N. 2012. Starch-Quercetin Conjugate by radical grafting: Synthesis and Biological Characterization. *Pharm Dev Technol*. 17(4): 66-76.

- Curcio, M., Puoci, F., Lemma, F., Parisi, O.,I., Cirillo, G., Spizzirri, U.,G., and Picci, N. 2009. Covalent Insertion of Antioxidant Molecules on Chitosan by a Free Radical Grafting Procedure. *Journal Agriculture Food Chem.* 57(13): 5933-5938.
- Deshpande, S.S. and Salunke, D.K. 1982. Interactions of Tannic Acid and Catechin with Legume Starches. *Journal of Food Science.* 47(6):2080-2081.
- Dewi, R.T., Iskandar Y.M., Hanafi, M., Kardono, L.B.S., Angelina, M., Dewijanti, I.D., and Banjarnahor, S.D.S. 2007. Inhibitory Effect of Koji *Aspergillus Terreus* on A-Glucosidase Activity and Postprandial Hyperglycemia. *Pakistan Journal of Biological Sciences.* 10(18):3131-3135.
- Febrinda, A.E., Astawan, M., Wresdiyati, T., dan Yuliana, N.D. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa-Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan.* 24(2):161-167.
- Firgiansyah, A. 2016. *Perbandingan Kadar Glukosa Darah Menggunakan Spektrofotometer dan Glukometer.* (Skripsi). Universitas Muhammadiyah Semarang. Semarang.
- Griffiths, D.W. and Moseley, G. 1980. The Effect of Diets Containing Field Beans of High or Low Polyphenolic Content on The Activity of Digestive Enzymes in The Intestines of Rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 31:255-259.
- Hala, Y., dan Ali, A. 2020. Kandungan Total Fenol dan Kapasitas Antioksidan Buah Lokal Indonesia Sebelum dan Setelah Pencampuran. *Prosiding Seminar Nasional Biologi FMIPA UNM.* 353-364.
- Huafu, Y., Gordon, J. P., and Keith, H. 2000. Tea Flavonoids : Their Fuctions, Utilisation and Analysis. *Trends in Food Science and Technology.* 11: 152-160.
- International Diabetes Federation. 2019. IDF Diabetes Atlas Eighth edition 2017. www.diabete.qc.ca . Diakses pada 1 Maret 2021.
- Ismail, J., Runtuwene, M.R.J., dan Fatimah, F. 2012. Penentuan Total Fenolik dan Uji Aktivitas Antioksidan pada Biji dan Kulit Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke). *Jurnal Ilmiah Sains.* 12(2):84-88.
- Jafar dan Nurhaedar. 2009. *Penanggulangan Diabetes Melitus Tipe II.* Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Hasanudin. Makasar.

- Judge, N. and B. Svensson. 2006. Review Proteinaceous Inhibitor of Carbohydrate Active Enzymes in Cereals : Implication in Agriculture, Cereal Processing and Nutrition, *Journal Science Food Agriculture*. 86(11):1573-1586.
- Juniadi, E., and Anwar, Y. A. S. 2018. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Asam Galat dari Kulit Buah Lokal yang Diproduksi dengan Tanase. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 14(1):131-142.
- Kalita, D., Holm, D.G., LaBarbera, D.V., Petrash, J.M., and Jayanty, S.S. 2018. Inhibition of α -glucosidase, α -amylase, and aldose reductase by potato polyphenolic compounds. *PLoS One*. 13(1).
- Koswara, S. 2006. *Teknologi Modifikasi Pati*. Ebookpangan.com.
- Lestari, N. S. 2019. *Pengaruh Proporsi Daun Jambu Biji dan Kunyit dalam Campuran Minuman Herbal Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim α -amilase dan α -glukosidase*. (Skripsi). Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Lu, Z., Nie, G., Belton, P. S., Tang, H., and Zhao, B. 2006. Structure–activity relationship analysis of antioxidant ability and neuroprotective effect of gallic acid derivatives. *Neurochemistry International*, 48: 263-274.
- Luo, L., Wang, R., Wang X., Ma, Z., and Li, N. 2012. Compounds from Angelica keiskei with NQO1 Induction, DPPH Scavenging and α -glucosidase Inhibitory Activities. *Food Chemistry*. 131: 992-998.
- Marino, T., Galano., and Russo, N. 2014. Radical Scavenging Ability of Gallic Acid toward OH and OOH Radicals : Reaction Mechanism and Rate Constant from the Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry*. 118(3): 10380-10389.
- Mcdougall, G., Faina, S., Patricia, D., Pauline, S., Alison, B., and Derek, S. 2003. *Differ Polyphenolic Components of Soft Fruit Inhibit α -Amylase and α -Glucosidase*. Scottish Crop Research Institute. United Kingdom.
- Nadiah, N., Utra, U., Hoong, C. L., dan Azhar. 2018. Effect of Tea Polyphenols on α -amylase Activity in Starch Hydrolysis. *Sains Malaysiana*. 47(4): 731-739.
- Najafian, M. 2015. The Effects of Curcumin on Alpha Amylase in Diabetics Rats. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 17(12):29-34.
- Ng, K., Gu, H. Zhang, C. and Patri, Y. 2015. Evaluation of Alpha Amylase and Alpha Glucosidase Inhibitory Activity of Flavonoids. *International Journal of Food and Nutritional Science*. 2(6):1-6.

- Pengelly, A. 2006, *The constituents of medicinal plants : An introduction to the chemistry and Therapeutics of Herbal Medicines. 2nd edition.* allen and Unwin. Australia.
- Purwatresna, O. M., dan Widjanarko, S. B. 2014. Uji Efek Air DAun Pandan Wangi terhadap penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* . 2(2): 16-27.
- Puspitasari, A. D., dan Proyogo, L. S. 2017. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendikia Eksakta*. 1-8.
- Queiroz, Moacir, M., Karoline, S., Diego, S., Guilherme, R., Hugo, C., Lendro. 2019. Gallic Acid-Chitosan Conjugate Inhibits the Formation of Calcium Oxalate Crystals. *Molecules*. 24(11):1-9.
- Riset Kesehatan Dasar. 2018. *Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar 2018*. Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Reddy, S. V., Tiwari, A. K., U. Kumar, S., Rao, R. J., and Madhusudan R. 2005. Free Radical Scavenging, Enzyme Inhibitory Constituents from Antidiabetic Ayurvedic Medicinal Plant *Hydnocarpus wightiana* Blume. *Phytotherapy Research*. 19: 277–281.
- Sales, P.M., Souze, P.M., Simeoni, L.A., Magalhaes, P.O. and Silveira, D. 2012. α -Amylase Inhibitors: a Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *Journal Pharmaceutical*. 15(1):141-183
- Sarjono, P, Ngadiwiana, Ismiyarta dan Prasetya. 2010. Aktivitas Bubuk Kayu Manis (*Cinnamomum cassia*) Sebagai Inhibitor α –glukosidase. *Jurnal Sains dan Matematika*. 18(2):59-62.
- Sandhu, K.S., Singh, N., and Malhi, N.S. 2007. Some Properties of Corn Grains and Their Flours I: Physicochemical, Functional and Chapati-Making Properties of Flours. *Food Chemistry*. 101:938-946.
- Shoffiyanti, N.F., Dwita, L.P., dan Anggia, V. 2019. Penghambatan α -amilase dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Daun Alpukat. *Prosiding POKJANAS TOI ke 57*. Jakarta.
- Sriyadi, B. 2012. Seleksi Klon Teh Assamica Unggul Berpotensi Hasil dan Kadar Katekin Tinggi. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*. 15 (1):1-10.
- Subroto, E., Indiarto, R., Wulandari, E., dan Astari, A. P. 2021. Modifikasi Pati Hanjeli (*Coix Lacryma-Jobi L.*) Berpori Melalui Ultrasonikasi dan Ozonasi. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 14(2):117-130.

- Thalapaneni, N.R., Chidambaram, K.A., Ellapan, T., Sabapathi, M.L., and Mandal, S.C. 2008. Inhibition of Carbohydrate Digestive Enzymes by *Talinum portulacifolium* (Forssk) Leaf Extract. *Journal of Complementary Integrative Medicine*. 5 (1):1-10.
- Vazirian, M., Khanavi, M., Amanzadeh, Y., and Hajimehdipoor, H. 2011. Quantification of Gallic Acid in Fruits of Three Medicinal Plants. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 10(2), 233-236.
- Verdiana, M., Widarta, I. W. R., and Permana, I. D. G. M. 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (*Citrus limon* (Linn.) *Burm F.*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), 213.
- Wahyuni, L. E. T., Hardinsyah, H., dan Setiawan, B. 2020. In-Vitro Alpha Amylase Inhibition and Antioxidant Activities of Leaves Extract of Sundanese Traditional Salad (Lalapan) from Indonesia. . *Jurnal Gizi Pangan*. 15(2):109-118.
- Wahyuntari, B. 2011. Penghambatan α -amilase : Jenis, Sumber, dan Potensi Pemanfaatannya dalam Kesehatan, *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 12(2): 197-201.
- Waspadji, S. 2009. *Diabetes melitus: Mekanisme Dasar dan Pengelolaannya yang Rasional, Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu: Panduan Penatalaksanaan Diabetes Bagi Dokter dan Edukator*. FK UI. Jakarta.
- Wijaya, W.A., Yahya, N.S.W., Meutia, I. Hermawan., dan Begum, R.N. 2012. Beras Analog Fungsional dengan Penambahan Ekstrak Teh untuk Menurunkan Indeks Glikemik dan Fortifikasi dengan Folat, Seng, dan Iodin. (*Laporan Perkembangan Penelitian*). IPB. Bogor.
- Winarno, F.G.1989. *Kimia Pangan dan Gizi*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Wirahardikusumah, M. 1989. *Protein, enzim dan asam Nukleat*. ITB. Bandung.
- Xu, Y., Grizzard, C., Sismour, E. N., Brardwaj, H. L., and Li, Z. 2013. Resisten Starch Content, Molecular Structure and Physicochemical Properties of Starch in Virginia-grown Corn, Potato And Mungbean. *Journal of Cereals and Oil seeds*. 4(13): 10-18.
- Yuan, E., Liu, B., Wei, Q., Yang, J. Chen, L., and Li, Q. 2014. Structure Activity Relationship of Flavonoids as Potent alfa Amylase Inhibithor. *Natural Product Communications*. 9(8): 1174-1176.
- Zhao, J., Khan, I.A., and Fronczek, F.R. 2011. Gallic Acid. *Acta Cryst*. 67: 316-317.