

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN PEMURNIAN ENZIM α -GLUKOSIDASE
DARI BERAS MENIR DAN UJI INHIBISI TERHADAP EKSTRAK METANOL
DAUN PARE (*MOMORDICA CHARATIA*)**

*ISOLATION, CHARACTERIZATION AND PURIFICATION OF
 α -GLUCOSIDASE ENZYMES OF MENIR RICE AND INHIBITION TEST ON
PARE LEAVES METHANOL EXTRACT (*MOMORDICA CHARATIA*)*

**NADA PERTIWI PAPRIANI
H012172003**



**PROGAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

TESIS

**ISOLASI, KARAKTERISASI DAN PEMURNIAN ENZIM α -GLLUKOSIDASE DARI
BERAS MENIR DAN UJI INHIBISI TERHADAP EKSTRAK METANOL DAUN
PARE (*MOMORDICA CHARATIA*)**

Disusun dan diajukan oleh :

NADA PERTIWI PAPRIANI
Nomor Pokok : H012172003

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
Pada Tanggal 30 Januari 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Penasehat



Prof. Dr. Ahyar Ahmad
Ketua



Dr. Hasnah Natsir, M. Si
Anggota

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, M.Si

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nada Pertiwi Papriani
Nomor Mahasiswa : H012172003
Program Studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila ini di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 14 Januari 2020

Yang Menyatakan


METERAI
TEMPEL
TGL. 20
65213AHF866005503
6000
ENAM RIBURUPIAH
Nada Pertiwi Papriani

PRAKATA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat, taufik dan hidayah hingga penulis dapat merampungkan penyusunan tesis dengan judul “**Isolasi, Karakterisasi dan Pemurnian Enzim α -Glukosidase Dari Beras Menir dan Uji Inhibisi Terhadap Ekstrak Daun Pare (*Momordica Charatia*)**”. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister dari Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam proses penulisan tesis ini, terutama terima kasih kepada kedua orang tua, ibu Suprapti dan bapak Suprianto, yang penuh kasih sayang dan kesabaran dalam mendidik, membimbing serta mengarahkan penulis setia saat dalam suka maupun duka. Terima kasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan kepada dosen pembimbing bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad dan ibu Dr. Hasnah Natsir, M.Si semoga ilmu yang diberikan dapat menjadi amal jariyah bagi beliau.

Setelah melalui perjuangan panjang dengan berbagai kendala akhirnya penulis mampu melewatinya. Tesis ini tidak dapat selesai dengan baik tanpa adanya dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A, selaku Rektor Universitas Hasanuddin

2. Prof. Dr. Ir. Jamaluddin, M.Sc, selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
3. Dr. Eng. Amiruddin, M.Si, Selaku dekan fakultas FMIPA Universitas Hasanuddin
4. Dr. Firdaus Zenta, Dr. Syarifuddin Liong, M.Si, dan Dr. Sitti Fauziah, M.Si, selaku komisis penilai , terima kasih atas masukan yang diberikan demi penyempurnaan penulisan tesis
5. Seluruh dosen kimia Pascasarjana UNHAS yang telah membagi ilmunya serta eluruh staff fakultas MIPA UNHAS, terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya
6. Teman seperjuangan Andi Fikrah Aulia Pamenta, dan seluruh teman-teman angkatan 2017 Kimia yang telah membantu, mendoakan dan menemani penulis selama proses penyusunan tesis.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tesis masih terdapat kekurangan yang perlu dilengkapi. Oleh karena itu, dengan rendah hati penulis mengaharapkan masukan, koreksi dan saran untuk melengkapi kekurangan tersebut.

Makassar, 14 Januari 2020

Penulis

ABSTRAK

Nada Pertiwi Papriani. Isolasi, Karakterisasi dan Pemurnian Enzim α -Glukosidase Dari Beras Menir dan Uji Inhibisi Terhadap Ekstrak Daun Pare (*Momordica Charatia*) (dibimbing oleh Ahyar Ahmad dan Hasnah Natsir).

Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang bekerja menghrolisis ikatan α -glikosidik menjadi glukosa. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas optimum enzim α -glukosidase dari beras menir, menentukan aktivitas spesifik enzim α -glukosidase dari beras menir, menentukan berat molekul protein enzim α -glukosidase dari beras menir, dan menentukan nilai aktivitas inhibisi terhadap ekstrak daun pare (*Momordica Charatia*). Tahapan penelitian meliputi isolasi enzim, fraksinasi, dialisis, karakterisasi, pemurnian, penentuan berat molekul dan uji inhibisi terhadap ekstrak dau pare (*Momordica Charatia*). Kondisi optimum enzim α -glukosidase sebesar 0,025 U/mL. Aktivitas optimum pada konsentrasi substrat 1%, pH 8, waktu inkubasi 40 menit, suhu 37°C. Pengaruh ion logam Mn^{2+} sebagai aktivator dengan aktivitas relatif enzim 129,22% dan ion logam Zn^{2+} sebagai inhibitor dengan aktivitas relatif enzim 72,86%. Aktivitas spesifk enzim α -Glukosidase Hasil Pemurnian Sebesar 155, 181 U/mg. Berat molekul protein enzim α -glukosidase mununjukkan 4 pita protein dengan berat molekul 135 kDa, 75 kDa, 25 kDa, dan 20 kDa. Nilai aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase ekstrak daun Pare (*Momordica charatia*) terhadap enzim α -glukosidase hasil pemurnian sebesar 9,615% dengan nilai IC_{50} 2186,875 ppm.

Kata Kunci: Enzim α -Glukosidase, Beras Menir, Daun Pare (*Momordica Charatia*), Ion Logam Mn^{2+} dan Zn^{2+}

ABSTRACT

Nada Pertiwi Papriani. Isolation, Characterization and Purification of α -Glucosidase Enzyme from Menir Rice and Inhibition Tests on Extracts of Pare Leaves (*Momordica Charatia*) (supervised by Ahyar Ahmad and Hasnah Natsir).

α -glucosidase is an enzyme that works to hydrolyze α -glycosidic bonds to glucose. This study aims to determine the optimum activity of the α -glucosidase enzyme from menir rice, determine the specific activity of the α -glucosidase enzyme from menir rice, determine the molecular weight of the α -glucosidase enzyme protein from rice menir, and determine the value of inhibitory activity on pare leaf extract (*Momordica Charatia*). Stages of research include enzyme isolation, fractionation, dialysis, characterization, purification, molecular weight determination and inhibition testing of extracts of dau pare (*Momordica Charatia*). The optimum condition of the α -glucosidase enzyme is 0.025 U / mL. Optimum activity at 1% substrate concentration, pH 8, incubation time 40 minutes, temperature 37°C. The effect of Mn^{2+} metal ion as an activator with enzyme relative activity is 129.22% and Zn^{2+} metal ion is an inhibitor with relative enzyme activity of 72.86%. Specific activity of the α -Glucosidase enzyme purification yield of 155, 181 U / mg. The protein molecular weight of the α -glucosidase enzyme shows 4 protein bands with molecular weights of 135 kDa, 75 kDa, 25 kDa, and 20 kDa. The value of the inhibitory activity of α -glucosidase extract of Pare leaf (*Momordica charatia*) against α -glucosidase enzyme from purification was 9.615% with IC_{50} value of 2186.875 ppm.

Keywords: α -Glucosidase Enzyme, Menir Rice, Pare Leaves (*Momordica Charatia*), Mn^{2+} and Zn^{2+} Metal Ion

DAFTAR ISI

| | |
|---|------|
| SAMPUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| PERNYATAAN KEASLIAN TESIS | iii |
| PRAKATA | iv |
| ABSTRAK | vi |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR TABEL | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xiii |
| DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN | xiv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang..... | 1 |
| B. Rumusan Masalah..... | 4 |
| C. Tujuan Penelitian..... | 4 |
| D. Manfaat Penelitian..... | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| A. Beras Menir..... | 6 |
| B. Tanaman Pare (<i>M. Charantia</i>)..... | 7 |
| C. Enzim α -Glukosidase..... | 8 |
| D. Mekanisme Kerja Enzim α -Glukosidase..... | 10 |
| E. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim..... | 10 |
| 1. Suhu..... | 11 |
| 2. pH..... | 11 |
| 3. Konsentrasi Substrat..... | 11 |
| 4. Pengaruh Ion Logam..... | 11 |
| F. Pemurnian Protein..... | 12 |
| 1. Fraksinasi Amonium Sulfat..... | 13 |
| 2. Dialisis..... | 14 |
| 3. Kromatografi Penukar Ion..... | 14 |

| | |
|---|-----------|
| 4. Kromatografi Filtrasi Gel..... | 15 |
| 5. Elektroforesis..... | 16 |
| G. Isolasi Enzim..... | 17 |
| H. Metode DNS..... | 17 |
| I. Metode Lowry..... | 18 |
| J. Inhibisi Enzim α -Glukosidase..... | 19 |
| K. Kerangka Pikir dan Hipotesis..... | 21 |
| BAB III METODE PENELITIAN..... | 24 |
| A. Waktu dan Tempat..... | 24 |
| B. Alat Dan Bahan..... | 24 |
| 1. Alat..... | 24 |
| 2. Bahan..... | 24 |
| C. Prosedur Kerja..... | 25 |
| 1. Produksi Ekstrak Kasar Enzim α -Glukosidase..... | 25 |
| 2. Fraksinasi Amonium Sulfat..... | 25 |
| 3. Uji Enzim α -Glukosidase Metode DNS..... | 26 |
| 4. Penentuan Kadar Protein..... | 26 |
| 5. Dialisis..... | 27 |
| 6. Karakterisasi Enzim α -Glukosidase..... | 27 |
| 7. Kromatografi Penukar Ion..... | 29 |
| 8. Kromatografi Kolom Filtrasi Gel..... | 29 |
| 9. Pengukuran Pola Pemisahan Protein..... | 30 |
| 10. Penentuan Berat Molekul Menggunakan Metode SDS-PAGE.. | 30 |
| 11. Pengujian Aktivitas Inhibisi Enzim..... | 30 |
| 12. Perhitungan Aktivitas Penghambatan..... | 31 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 33 |
| A. Preparasi Sampel Sebagai Sumber Enzim α -Glukosidase..... | 33 |
| B. Isolasi Ekstrak Kasar Enzim α -Glukosidase..... | 33 |
| C. Pemurnian Enzim α -Glukosidase..... | 34 |
| 1. Fraksinasi Ammonium Sulfat..... | 34 |
| 2. Dialisis | 36 |

| | |
|--|-----------|
| 3. Karakterisasi Enzim..... | 37 |
| 3.1 Karakterisasi Konsentrasi Substrat..... | 37 |
| 3.2 Karakterisasi pH..... | 39 |
| 3.3 Karakterisasi Waktu Inkubasi..... | 40 |
| 3.4 Karakterisasi Suhu..... | 41 |
| 3.5 Karakterisasi Pengaruh Ion Logam..... | 43 |
| 4. Kromatografi Penukar Ion..... | 44 |
| 5. Kromatografi Filtrasi Gel..... | 45 |
| 6. Penentuan Bobot Molekul Dengan Metode SDS-PAGE..... | 47 |
| 7. Aktivitas Inhibis Enzim α -Glukosidase..... | 49 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | 51 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 53 |
| LAMPIRAN..... | 59 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 1. Komposisi Beras Menir..... | 7 |
| Tabel 2. Penelitian Terkait Enzim α -Glukosidase..... | 9 |
| Tabel 3. Karakteristik Beberapa Tipe Shepadex | 16 |
| Tabel 4. Aktivitas Enzim α -Glukosidase Hasil Fraksinasi Dengan Ammonium Sulfat dan Dialisis..... | 37 |
| Tabel 5. Aktivitas Enzim α -Glukosidase Hasil Pemurnian..... | 47 |
| Tabel 6. Inhibisi Ekstrak Metanol Daun Pare (<i>Momordica charatia</i>) Terhadap Enzim α -Glukosidase..... | 49 |
| Tabel 7. Inhibisi Acarbosa Terhadap Enzim α -Glukosidase..... | 49 |
| Tabel 8. Nilai IC ₅₀ Larutan Pembanding Acarbosa dan Ekstrak Metanol Daun Pare (<i>Momordica charatia</i>)..... | 50 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 1. Beras Menir..... | 6 |
| Gambar 2. Reaksi Hidrolisis Disakarida Menjadi Glukosa Oleh Enzim α -Glukosidase..... | 10 |
| Gambar 3. Seperangkat Alat Elektroforesis..... | 17 |
| Gambar 4. Reaksi Antara 3,5 Dinitrosalisilat dan Gula Pereduksi..... | 18 |
| Gambar 5. Reaksi Metode Lowry..... | 19 |
| Gambar 6. Kerangka Fikir..... | 22 |
| Gambar 7. Aktivitas Spesifik Enzim α -Glukosidase Hasil Fraksinasi Dengan Ammonium Sulfat..... | 35 |
| Gambar 8. Aktivitas Spesifik Enzim α -Glukosidase Sebelum Dan Sesudah Dialisis..... | 36 |
| Gambar 9 Pengaruh Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 38 |
| Gambar 10 Pengaruh pH Terhadap Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 39 |
| Gambar 11 Pengaruh Waktu Inkubasi Terhadap Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 40 |
| Gambar 12 Pengaruh Suhu Terhadap Aktivitas Enzim α -Glukosidase.. | 42 |
| Gambar 13 Pengaruh Ion Logam Terhadap Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 44 |
| Gambar 14 Kromatografi Hasil Pemisahan Enzim α -Glukosidase Menggunakan Kromatografi Penukar Ion DEAE-Selulosa... | 45 |
| Gambar 15 Kromatografi Hasil Pemisahan Enzim α -Glukosidase Menggunakan Kromatografi Filtrasi Gel Sephadex G-100... | 46 |
| Gambar 16 Elektrofotogram Hasil Elektrosforesis Gel SDS-PAGE..... | 48 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|-------------|---|----|
| Lampiran 1 | Skema Penelitian..... | 59 |
| Lampiran 2 | Skema Prosedur Penelitian..... | 60 |
| Lampiran 3 | Fraksinasi Ammonium Sulfat..... | 61 |
| Lampiran 4 | Uji Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 62 |
| Lampiran 5 | Penentuan Kadar Protein Metode Lowry..... | 63 |
| Lampiran 6 | Dialisis..... | 64 |
| Lampiran 7 | Karakterisasi Enzim α -Glukosidase..... | 65 |
| Lampiran 8 | Kromatografi Penukar Ion..... | 68 |
| Lampiran 9 | Kromatografi Filtrasi Gel..... | 69 |
| Lampiran 10 | Pengukuran Pola Pemisahan Protein λ 280..... | 70 |
| Lampiran 11 | Penentuan Profil Protein Dengan Metode SDS-PAGE..... | 71 |
| Lampiran 12 | Pengujian Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase..... | 72 |
| Lampiran 13 | Tabel Kejenuhan Ammonium Sulfat..... | |
| Lampiran 14 | Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DNS..... | 74 |
| Lampiran 15 | Kurva Standar Glukosa Untuk Mengukur Aktivitas Enzim.... | 76 |
| Lampiran 16 | Perhitungan Uji Aktivitas Enzim α -Glukosidase..... | 77 |
| Lampiran 17 | Perhitungan Aktivitas Spesifik Enzim α -Glukosidase..... | 78 |
| Lampiran 18 | Panjang Gelombang Maksimum BSA..... | 79 |
| Lampiran 19 | Kurva Standar BSA Untuk Pengukuran Kadar Protein..... | 80 |
| Lampiran 20 | Tabel Karakterisasi Enzim α -Glukosidase Hasil Dialisis..... | 82 |
| Lampiran 21 | Tabel Kromatografi Hasil Pemisahan Enzim α -Glukosidase Menggunakan Kromatografi Penukar Ion DEAE-Selulosa... | 84 |
| Lampiran 22 | Tabel Kromatografi Hasil Pemisahan Enzim α -Glukosidase Menggunakan Kromatografi Filtrasi Gel Sephadex G-100... | 85 |
| Lampiran 24 | Kurva Inhibisi Enzim α -Glukosidase Oleh Ekstrak Metanol Daun Pare (<i>Momordica charatia</i>)..... | 86 |

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

| Lambang/Singkatan | Arti dan Keterangan |
|-------------------|----------------------------------|
| μL | Mikroliter |
| $\mu\text{g/mL}$ | Mikrogram/mililiter |
| APS | Amonium persulfat |
| BSA | <i>Bovine Serum Albumin</i> |
| CMC | KarboksimetilSelulosa |
| DEAE | Dietilaminoetil |
| DNS | <i>DinitroSalisilad Acid</i> |
| IDF | International Diabet Federation |
| kDa | KiloDalton |
| mg/mL | miligram/mililiter |
| pH | power of hydrogen |
| rpm | Kecepatan putaran tiap menit |
| SDS-PAGE | Sodium Dodecyl Sulfate |
| Polyacrylamide | Gel Electrophoresis |
| WHO | <i>World Health Organization</i> |
| U/mL | Unit/Mililiter |
| U/Mg | Unit/Miligram |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia sebagai salah satu negara berkembang yang mengalami peningkatan kasus diabetes militus yang cukup tinggi. Tahun 2011 mencapai 366 juta orang, jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 522 juta orang pada tahun 2030 (IDF, 2011). Penderita diabetes militus lebih dari 95% merupakan penderita diabetes militus tipe 2 (Bailey dan Day, 2003).

Diabetes militus tipe 2 atau *non insulin dependent diabetes* merupakan penyakit atau gangguan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein. Penderita diabetes militus tipe 2 dalam menghambat absorpsi glukosa dan mengurangi keadaan hiperglikemia setelah mengonsumsi makanan yang banyak mengandung karbohidrat dapat dilakukan dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase (Maudy, 2017).

Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang terdapat dalam membran epitel usus halus dan berperan sebagai pemecah karbohidrat makanan dengan memutuskan ikatan α -glikosidik menjadi glukosa yang lebih sederhana (Akbar, 2017). Kerja enzim α -glukosidase dapat dihambat dengan penggunaan inhibitor α -glukosidase (Febrinda, dkk., 2013).

Inhibitor α -glukosidase yang saat ini digunakan penderita diabetes militus tipe 2 yakni, acarbose (*glukobay*), miglitol (*glyset*) dan voglibose, namun terdapat beberapa efek samping yang ditimbulkan yakni, rasa tidak nyaman pada perut, diare, dan hepatitis akut (Bosembreg, 2008). Penelitian pencarian senyawa analog obat sebagai inhibitor dari tanaman dan mikroorganisme telah banyak dilakukan. Senyawa analog tersebut diharapkan memiliki efek samping minimal, sehingga aman digunakan penderita diabetes militus tipe 2 (Shibano, dkk., 2008).

Pencarian senyawa analog sebagai inhibitor diperlukan pengujian antidiabetes menggunakan enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase dapat diisolasi dari beras menir yang merupakan hasil samping penggilingan padi berupa patahan. Pemanfaatan beras menir belum optimal, umumnya masyarakat menggunakan beras menir hanya sebagai pakan ternak sehingga harganya menjadi murah (Patiwiri, 2006). Beras menir memiliki kandungan karbohidrat 76% berupa pati yang terdiri dari amilosa dan amilopektin. Kandungan karbohidrat yang tinggi mengindikasikan banyaknya kandungan enzim α -glukosidase dalam beras menir.

Enzim α -glukosidase dari beras menir yang telah dimurnikan dilakukan pengujian inhibisi terhadap ekstrak metanol daun pare (*Momordica Charatia*). Menurut, Simanjutak (2018) bagian daun pare (*M. Charantia*) sebesar 40,74% telah digunakan secara tradisional sebagai obat antidiabetes. Penelitian yang dilakukan Mutiara dan Wildan,

(2014), melaporkan bahwa ekstrak daun pare dapat menurunkan kadar gula darah sebesar 50,38% pada konsentrasi 160 ppm.

Penelitian terkait isolasi dan pemurnian enzim α -glukosidase telah dilakukan oleh Billen, dkk (2018) menggunakan sampel jagung manis memperoleh aktivitas spesifik enzim ekstrak kasar 0,05 U/mg dan 0,04 U/mg setelah pemurnian. Aktivitas optimum pada suhu 55⁰C, pH 4,5, serta pengaruh ion logam Fe²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺ sebagai inhibitor, dan CaCl₂ sebagai aktivator. Hasil pemurnian menunjukkan pita protein tunggal dengan berat molekul 29 kDa.

Mishra dan Chandra, (2016), menggunakan sampel *Moss Hyophilla Nymaniana (Fleish) Menzel* memperoleh aktivitas spesifik enzim ekstrak kasar 1,43 U/mg dan 50 U/mg setelah pemurnian. Aktivitas optimum pada suhu 45⁰C, pH 5, serta pengaruh ion logam Ba²⁺, Co²⁺, Hg²⁺, Mn²⁺ sebagai inhibitor, dan K⁺, Na⁺, Mg²⁺ sebagai aktivator. Hasil pemurnian menunjukkan pita protein tunggal dengan berat molekul 72 kDa.

Akinloye, dkk (2013), menggunakan sampel *Trichoderma longibrachiatum* memperoleh aktivitas spesifik enzim ekstrak kasar 0,174 U/mg dan 2,173 U/mg setelah pemurnian. Aktivitas optimum pada suhu 40⁰C, pH 4,5. Hasil pemurnian menunjukkan pita protein tunggal dengan berat molekul 58 kDa.

Berdasarkan latar belakang maka dilakukan penelitian pemurnian dan karakterisasi enzim α -glukosidase dari beras menir dan studi kinetika inhibisi pada kasus diabetes militus.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaiman kondisi optimum enzim α -glukosidase dari beras menir ?
2. Berapa aktivitas spesifik enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir ?
3. Berapa berat molekul protein enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) ?
4. Berapa nilai aktivitas inhibisi ekstrak daun pare (*Momordica charatia*) terhadap enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kondisi optimum enzim α -glukosidase dari beras menir.
2. Menentukan aktivitas spesifik enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir.
3. Menentukan berat molekul protein enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*).
4. Menentukan nilai aktivitas inhibisi ekstrak daun pare (*Momordica charatia*) terhadap enzim α -glukosidase hasil pemurnian dari beras menir.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas optimum enzim α -glukosidase dalam beras menir .
2. Memberikan informasi ilmiah dan pengetahuan mengenai potensi beras menir yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil enzim α -glukosidase yang dapat digunakan dalam pencarian senyawa analog sebagai obat penyembuh penyakit diabetes militus tipe 2.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Beras Menir

Penggilingan padi merupakan salah satu tahapan pasca panen padi untuk mengolah gabah menjadi beras siap konsumsi. Hasil samping dari proses penggilingan padi antara lain 20 % sekam, 10 % bekatul, 5-8 % beras patah, dan 2 % menir. Beras menir merupakan beras patah yang ukurannya lebih kecil dari 0,2 bagian beras utuh atau butir beras patah yang lolos ayakan dengan ukuran 1,7 mm (Patiwiri, 2006). Tampilan fisik beras menir dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Beras Menir (Anonim, 2012)

Beras menir sebagai produk hasil samping penggilingan beras memiliki komponen kimiawi yang tidak berbeda dari beras giling. Menurut Houston (1972), komposisi beras giling ditampilkan pada tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Beras Menir (Houston, 1972)

| Komponen | Jumlah |
|-------------------------|---------------|
| Kadar Air (%) | 12,00 |
| Kalori (Per 100 g) | 363,00 |
| Protein (%) | 6,70 |
| Lemak (%) | 0,40 |
| Karbohidrat (Per 100 g) | 0,30 |
| Abu (%) | 0,50 |
| Thiamin (mg/100g) | 0,07 |
| Riboflavin (mg/100g) | 0,03 |
| Niacin (mg/100) | 1,60 |

B. Tanaman Pare (*M. Charantia*) sebagai antidiabetes

Tanaman pare (*M. Charantia*) memiliki kandungan asam lemak berupa, palmitik, asam streat, oleat, linoleat, dan eleostrarik. Penelusuran pustaka melaporkan bahwa pare dipercaya dapat menyembuhkan DM karena mengandung metabolit sekunder berupa saponin, flavonoid, polifenol, dan β -karoten. Buah pare banyak mengandung senyawa metabolit sekunder (senyawa organik yang berasal dari tanaman) berupa turunan triterpenoid, flavonoid, steroid, saponin, tannin, alkaloid, charantin dan polipeptida. Senyawa tersebut diduga dapat merangsang perbaikan sel-sel beta, sehingga dapat meningkatkan proses produksi insulin dan juga meningkatkan pembuangan glukosa/toleransi glukosa (Hossain, dkk., 2007).

Tanaman pare sangat berpotensi dikembangkan dan memiliki nilai ekonomi sebagai tanaman pangan dan bahan obat tradisional. Efek pare dalam menurunkan glukosa darah pada hewan percobaan bekerja dengan mencegah usus menyerap glukosa yang dimakan. Selain itu, diduga pare

memiliki komponen yang menyerupai sulfonilurea (obat antidiabetes paling tua dan banyak dipakai). Obat jenis ini menstimulasi sel β kelenjar pankreas memproduksi insulin (Wibudi, 2006).

Daun pare mengandung momordicine, momordin, charantine, asam trikosanik, resin, asam resinat, saponin, vitamin A dan C, serta minyak lemak terdiri atas asam oleat, asam linoleat, asam stearat, dan lemak oleostearat. Buah mengandung fixed oil, insulin like peptide, glikoside, alkaloid (Dalimartha, 2008).

C. Enzim α -glukosidase

Enzim α -glukosidase (EC 3.2.1.20) merupakan golongan enzim hidrolase yang berperan dalam konversi karbohidrat (oligosakarida) menjadi glukosa dengan menghidrolisis ikatan 1,4- α -glikosida pada sisi ujung non pereduksi suatu substrat oligosakarida dan polisakarida disertai dengan pembebasan glukosa. Berdasarkan spesifitasnya terhadap substrat enzim α -glukosidase dibedakan menjadi dua golongan, yakni golongan I dan II. Enzim α -glukosidase golongan I dari bakteri, yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) dan serangga, sedangkan enzim α -glukosidase golongan II berasal dari *mold*, tumbuhan dan mamalia (Kimaru, dkk., 2004).

Enzim α -glukosidase dalam tanaman merupakan enzim golongan hidrolitik yang terlibat dalam degradasi pati pada biji yang dalam perkecambahan dan secara umum dianggap sebagai enzim yang

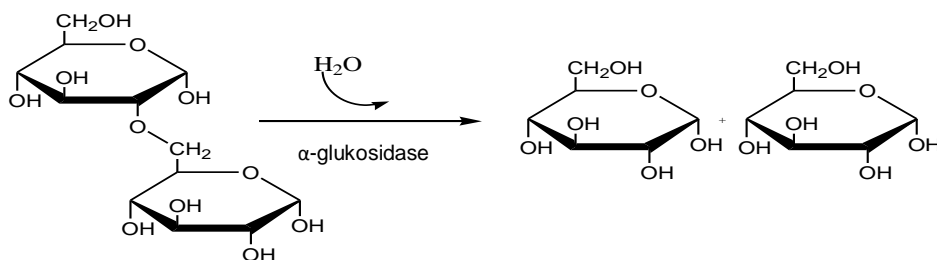
mengubah oligosakarida yang diproduksi oleh α -amilase, β -amilase dan enzim pemecah cabang menjadi glukosa (Nakai, 2007).

Tabel 2. Penelitian Terkait Enzim α -glukosidase

| No | Nama/Tahun | Sumber Enzim α -glukosidase | Hasil Penelitian |
|----|---------------------------|--|---|
| 1. | Mishra dan Chandra (2016) | <i>Moss hyophilla nymaniana (Fleish) menzel</i> | Aktivitas spesifik 50 U/mg. Aktivitas optimum pada pH 5, 45 ⁰ C, ion logam K ⁺ , Na ⁺ , Mg ²⁺ sebagai aktivator, Co ²⁺ , Mn ²⁺ , Hg ²⁺ , Ba ²⁺ sebagai inhibitor. Menunjukkan satu pita protein dengan berat molekul 72 kDa |
| 2. | Binate, dkk (2016) | <i>Termite workers macrotermes bellicosus</i> | Aktivitas Spesifik 38,02 U/mg. Aktivitas optimum pada pH 6, 50 ⁰ C, ion logam Fe ²⁺ , Hg ²⁺ sebagai inhibitor. Menunjukkan satu pita protein dengan berat molekul 116 kDa |
| 3. | Billen, dkk (2018) | Jagung manis | Aktivitas spesifik 0,05 U/mg. Aktivitas optimum pada pH 4,5, 55 ⁰ C, ion logam CaCl ₂ sebagai activator, Mg ²⁺ , Mn ²⁺ sebagai inhibitor. Menunjukkan satu pita protein dengan berat molekul 29 kDa |
| 4. | Akinioye, dkk (2013) | <i>Trichoderma longibrachiatum</i> | Aktivitas spesifik 2,173 U/mg. Aktivitas optimum pada pH 4,5, 40 ⁰ C. Menunjukkan satu pita protein dengan berat molekul 58 kDa |
| 5. | Park, dkk (2013) | <i>Acidothermophilic crenarchaeon sulfolobus tokodaii strain 7</i> | Aktivitas spesifik 0,168 U/mg. Aktivitas optimum pada pH 4, 90 ⁰ C. Menunjukkan satu pita protein dengan berat molekul 70,5 kDa |

D. Mekanisme Kerja Enzim α -glukosidase

Karbohidrat merupakan zat gizi yang memiliki fungsi utama sebagai penghasil energi. Karbohidrat di dalam diolah menjadi gula yang lebih sederhana dengan adanya kerja enzim α -glukosidase, kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah (Bosenberg, 2008). Proses pencernaan karbohidrat menyebabkan pankreas melepaskan enzim α -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi disakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh (Berg, dkk., 2002). Mekanisme kerja enzim α -glukosidase dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Reaksi Hidrolisis Disakarida Menjadi Glukosa Oleh Enzim α -glukosidase (Sugiawati, dkk., 2009)

E. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kerja Enzim

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat serta keberadaan inhibitor (Hames dan Hooper, 2005). Penjelasan mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim sebagai berikut:

1. Suhu

Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi laju katalis suatu reaksi enzimatik. Enzim tidak memiliki aktivitas maksimal pada temperatur yang sangat rendah. Kenaikan temperatur menyebabkan aktivitas enzim meningkat sehingga mencapai kondisi optimum. Setelah mencapai kondisi optimum menyebabkan aktivitas enzim juga menurun (Hames dan Hooper, 2005).

2. pH

pH merupakan faktor yang sangat berpengaruh terhadap struktur dan aktivitas biologi enzim. Interaksi ion yang terjadi di dalam strukturnya akan menstabilkan enzim dan memungkinkan enzim untuk mengenali dan berkaitan dengan substratnya (Idiawati, 2014).

3. Konsentrasi substrat

Konsentrasi substrat tahap awal reaksi mencerminkan kenaikan kecepatan reaksi. Sisi aktif enzim mulai berkaitan dengan substrat maka kecepatan maksimum reaksi akan tercapai. Penambahan substrat berikutnya tidak akan mempengaruhi tingkat reaksi, hal ini disebabkan sisi aktif enzim telah jenuh dipakai untuk mengikat molekul substrat (Nelson dan Cox, 2005).

4. Pengaruh Ion Logam

Penambahan ion logam dalam reaksi enzimatik dapat bersifat sebagai inhibitor maupun aktivator. Inhibitor enzim merupakan molekul yang dapat mengganggu katalisis dengan cara lambat maupun

menghentikan reaksi enzimatik (Nelson dan Cox, 2005). Aktivator enzim merupakan substansi yang memulihkan aktivitas enzim. Enzim dengan mudah berikatan dengan substrat yang menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim (Whittaker, 1994).

F. Pemurnian Protein

Protein memegang peranan yang sangat penting pada organisme yaitu dalam struktur, fungsi, dan reproduksi. Protein adalah suatu polipeptida yang mempunyai bobot molekul yang sangat bervariasi, dari 5000 hingga lebih dari satu juta. Disamping berat molekul yang berbeda-beda, protein mempunyai sifat yang berbeda-beda pula. Ada protein yang mudah larut dalam air, tetapi ada juga yang sukar larut dalam air (Purwanto, 2014).

Semua jenis protein terdiri dari rangkaian dan kombinasi dari 20 asam amino. Setiap jenis protein mempunyai jumlah dan urutan asam amino yang khas. Di dalam sel, protein juga terdapat pada membran plasma maupun membran internal yang menyusun organel sel seperti mitokondria, retikulum endoplasma, nukleus dan badan golgi dengan fungsi yang berbeda-beda tergantung pada tempatnya. Protein-protein yang terlibat dalam reaksi biokimia sebagian besar berupa enzim banyak terdapat di dalam sitoplasma dan sebagian terdapat pada kompartemen dari organel sel (Subekti, 2012).

Penggolongan protein berdasarkan bentuk dan sifat fisik yaitu protein globular dan protein serabut. Protein berdasarkan fungsi biologi

yaitu enzim, protein transport, protein nutrien dan penyimpan. Protein kontraktil, protein struktural, protein pertahanan dan protein pengatur. Protein berdasarkan daya larutnya yaitu albumin, globulin, glutelin, gliadin, histon, protamin. Penggolongan protein majemuk merupakan protein yang mengandung senyawa bukan hanya protein, seperti: fosforprotein, kromoprotein, fosfoprotein, protein koenzim, lipoprotein, metaloprotein, glikoprotein dan nukleoprotein (Subekti, 2014).

Pemurnian dalam protein merupakan proses penambahan senyawa yang dapat menggumpalkan dan memisahkan protein dari bahan lain sehingga didapatkan protein yang lebih murni. Pemurnian berarti membebaskan suatu bahan dari senyawa lain yang mengganggu dan tidak diinginkan atau sering disebut pengotor. Pemurnian protein terdiri dari beberapa tahapan yakni:

1. Fraksinasi Ammonium Sulfat

Fraksinasi adalah proses pemisahan fraksi yang terkandung dalam suatu larutan atau suspensi yang memiliki karakteristik berbeda (Yuliasih, 2010). Fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat karena memiliki daya larut yang tinggi dalam air, tidak mengandung zat-zat bersifat toksik terhadap kebanyakan enzim dan bertindak sebagai stabilisator enzim (Natsir, 2010).

Fraksinasi menggunakan garam ammonium sulfat bertujuan untuk meningkatkan konsentrasi enzim dan merupakan langkah awal proses pemurnian enzim. Penambahan garam ammonium sulfat pada konsentrasi

tertentu akan menurunkan kelarutan protein, dengan demikian molekul air akan berinteraksi dengan protein hidrofilik, sehingga protein bersifat hidrofobik akan mengendap terlebih dahulu (Natsir, 2010).

2. Dialisis

Proses fraksinasi tidak menghendaki adanya kelebihan garam, oleh karena itu kelebihan garam yang tersisa dari proses fraksinasi dengan garam ammonium sulfat dipisahkan dengan cara dialisis. Dialisis adalah proses yang umum digunakan untuk menghilangkan molekul pengotor seperti garam atau ion lain yang berukuran kecil (Natsir, dkk., 2010).

Proses dialisis dilakukan pada suhu dingin untuk mencegah terjadinya kerusakan protein enzim yang dimurnikan. Prinsip dialisis adalah difusi, yaitu terjadinya perpindahan zat terlarut dari larutan berkonsentrasi tinggi ke larutan berkonsentrasi yang rendah. Konsentrasi buffer di luar membran selofan lebih rendah dari pada konsentrasi bufer di dalam membran selofan sehingga amonium sulfat dapat berdifusi ke luar membran selofan dan terpisah (Sinatari, 2013).

3. Kromatografi Penukar Ion

Kromatografi penukar ion merupakan teknik pemisahan molekul ion-ion polar yang didasarkan pada perbedaan muatan, yakni antara molekul bermuatan di dalam larutan dengan senyawa yang tidak reaktif yang muatannya berlawanan sebagai pengisi kolom. Protein terdiri dari muatan positif dan muatan negatif tergantung pada rantai asam amino asam atau basa (Haris dan Angal, 1993).

Pengerjaan kromatografi penukar ion didahului dengan mengelusi protein enzim dengan buffer yang pH nya telah diatur sebelumnya. Protein diharapkan terikat kuat pada kolom dan protein lain dibiarkan terelusi terlebih dahulu. Protein yang terikat pada kolom dilepaskan dengan cara mengubah pH buffer atau kekuatan ion pelarut. Matriks penukar ion mengikat secara kovalen gugus fungsional yang bermuatan positif pada penukar anion atau gugus fungsional yang bermuatan negatif pada penukar kation. Matriks berupa polimer elastis dan mengandung senyawa resin sintetik terbuat dari bahan dekstran, selulosa atau sephadex. Contoh matriks kation dan anion masing-masing adalah karboksimetil selulosa (CMC) dan dietilaminoetil (DEAE) selulosa (Scopes, 1993).

4. Kromatografi Filtrasi Gel

Kromatografi filtrasi gel merupakan teknik pemisahan protein dan makromolekul biologi lain berdasarkan ukuran molekul. Matriks fil trasi gel berupa gel yang berpori seperti dextran, agarosa atau poliakrilamida, shepadex, dan sheparose. Pori-pori matriks dapat menampung molekul berukuran kecil. Molekul berukuran kecil akan memasuki pori-pori matriks, molekul berukuran besar tidak terperangkap ke dalam pori matriks dan akan keluar terlebih dahulu dari kolom (Scopes, 1993)

Matriks yang sering digunakan yaitu Sephadex yang terdiri atas partikel kecil dari senyawa yang tidak larut, bersifat hidrofolik, stabil dan tidak dipengaruhi oleh basa dan asam lemah. Karakteristik Tipe Sephadex dapat dilihat pada tabel 3.

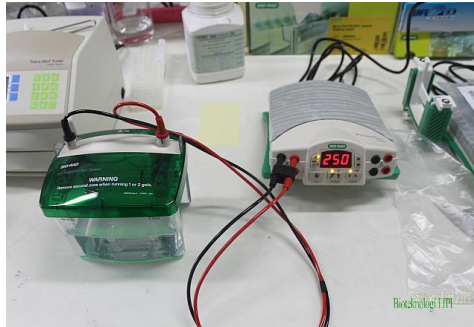
Tabel 3. Karakteristik Beberapa Tipe Sephadex (Suhartono, 1989)

| Tipe Sephadex | Bobot Molekul Protein | Waktu Pengembangan (Jam) Suhu 20⁰C | Waktu Pengembangan (Jam) Suhu 90⁰C |
|----------------------|------------------------------|--|--|
| G-10 | 0-700 kDa | 3 | 1 |
| G-25 | 1-5 kDa | 3 | 1 |
| G-50 | 1,5-30 KDa | 3 | 1 |
| G-75 | 3-70 kDa | 24 | 3 |
| G- 100 | 4-150 kDa | 72 | 5 |
| G-200 | 5-600 kDa | 72 | 5 |

5. Elektroforesis

Elektroforesis merupakan teknik pemisahan molekul bermuatan berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi dalam medan listrik. Teknik elektroforesis menggunakan matriks gel yang berfungsi sebagai medan listrik tempat terjadinya migrasi molekul-molekul organik. Molekul bermuatan negatif akan bermigrasi ke elektroda positif dan molekul bermuatan positif akan bermigrasi ke elektroda negatif. Salah satu jenis elektroforesis adalah elektroforesis SDS-PAGE (Freifelder, 1987).

Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Elektroforesis (SDS-PAGE) adalah teknik untuk memisahkan rantai polipeptida pada protein berdasarkan kemampuannya untuk bergerak dalam arus listrik, yang merupakan fungsi dari panjang rantai polipeptida atau berat molekulnya. (Wulansari, dkk., 2015).



Gambar 3. Seperangkat Alat Elektroforesis (Kasmawati, 2017)

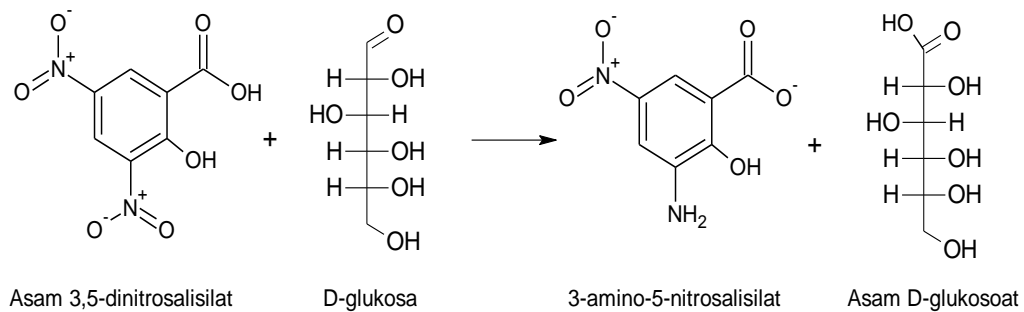
G. Isolasi Enzim

Isolasi enzim merupakan proses memisahkan enzim dari sumbernya yang melibatkan beberapa tahapan. Isolasi enzim erat hubungannya dengan isolasi protein dan pemisahannya, dimana dasar dari pemisahan protein ialah memisahkan semua protein dari protein lain yang tidak diperlukan yang semuanya berada dalam material yang sama (Dennison, 2002).

H. Metode DNS

Metode DNS atau metode *dinitrosalisilic acid* merupakan metode yang digunakan untuk mengukur estimasi glukosa sebagai hasil hidrolisis enzim (Jenifer dan Theiruneelakandam, 2015). Prinsip pengujian dengan metode *dinitrosalisilat Acid* (DNS) adalah gugus aldehid pada rantai polisakarida dioksidasi menjadi gugus karboksil, disaat yang bersamaan, gugus aldehid gula akan mereduksi asam 3,5-dinitrosalisilat menjadi asam 3-amino-5-nitrosalisilat. Reaksi tersebut akan berlangsung terus-menerus selama terdapat gula pereduksi dalam larutan yang diujikan. Adanya gula pereduksi pada sampel akan bereaksi dengan larutan DNS yang awalnya

berwarna kuning menjadi warna jingga kemerahan (Hasanah dan Iwan, 2015).

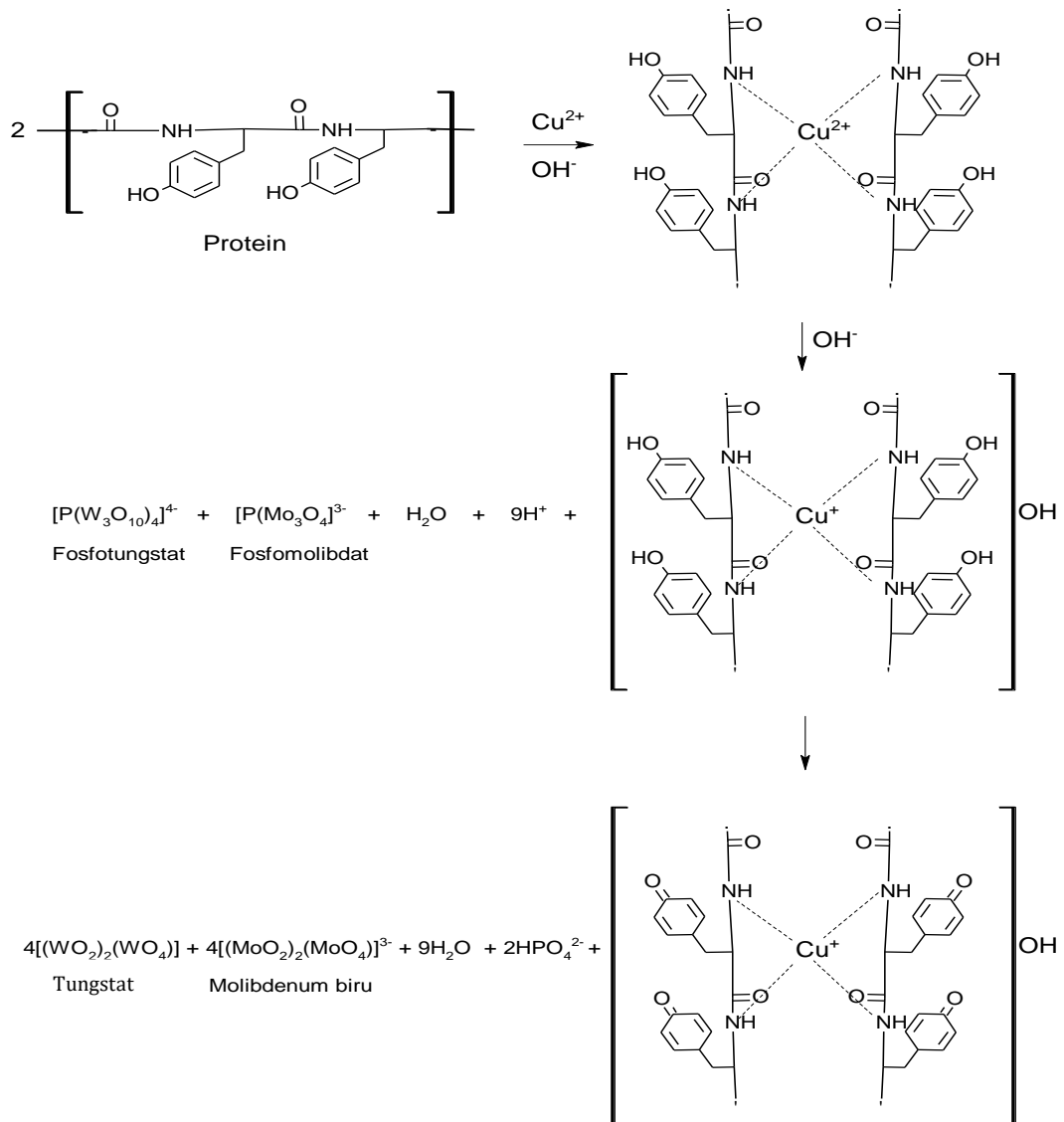


Gambar 4. Reaksi Antara 3,5 Dinitrosalisilat dan Gula Pereduksi (Hasanah dan Iwan, 2015)

I. Metode Lowry

Metode Lowry adalah salah satu metode yang digunakan dalam penetapan kadar protein dengan menggunakan reagen Folin-ciocalteu untuk mendeteksi gugus-gugus fenolik. Dalam keadaan basa ion tembaga divalen (Cu^{2+}) dengan ikatan iktan peptida yang mereduksi Cu^{2+} menjadi tembaga monovalen (Cu^+) (Bintang, 2010).

reagen Folin-ciocalteu dalam analisis protein dapat mendeteksi residu oksidasi dimana gugus fenolik tirosin akan mereduksi fosfotungstat dan fosfomolibdat yang terdapat dalam reagen menjadi tungsten dan molibden yang menghasilkan warna biru, yang dapat diukur absorbannya pada panjang gelombang maksimal 600-800 nm.



Gambar 5. Reaksi Metode Lowry (Bintang, 2010)

J. Inhibisi Enzim α -glukosidase

Senyawa bioaktif dari tumbuhan ketika ditambahkan ke dalam reaksi enzimatik dapat berperan sebagai aktivator dan juga inhibitor. Inhibitor secara kimiawi dapat dibedakan dari aktivator ketika senyawa bioaktif berinteraksi dengan enzim. Aktivator berikatan dengan enzim menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim, sedangkan inhibitor

berikatan dengan enzim dan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzim. Inhibitor menghambat kerja enzim dengan tiga jenis penghambatan, yakni penghambatan kompetitif, non kompetitif dan unkompetitif.

1. Penghambatan Kompetitif

Senyawa aktif yang berkompetisi secara langsung dengan suatu substrat normal untuk suatu daerah (site) ikatan enzim dikenal dengan suatu inhibitor kompetitif. Inhibitor seperti ini biasanya menyerupai substrat dimana secara spesifik mengikat daerah aktif enzim. Reaksi akan terjadi dan produk akan dihasilkan, walaupun enzim bereaksi dengan inhibitor. Produk yang dihasilkan dari inhibitor akan berbeda jenisnya dengan produk yang dihasilkan oleh substrat (Urifah, 2003).

Contoh inhibitor kompetitif adalah Inhibitor α -glukosidase merupakan sakarida yang berperan sebagai inhibitor kompetitif yang dibutuhkan untuk mencerna karbohidrat. Inhibitor ini menginhibisi enzim α -glukosidase yang berada di dalam usus halus (Goldstein, dkk., 2008).

2. Penghambatan Nonkompetitif

inhibisi non-kompetitif antara substrat dan inhibitor tidak memiliki kesamaan struktur. Efek penghambatan akan terjadi karena inhibitor berikatan dengan sisi allosterik enzim, dan akan mengubah sisi aktifnya. Inhibitor nonkompetitif dapat membentuk ikatan dengan enzim dalam keadaan bebas, disamping dapat membentuk ikatan dengan kompleks enzim-substrat.

Reaksi sampingan yang sangat merugikan akibat pengaruh inhibitor pada jenis penghambatan ini adalah besarnya peluang sisi aktif enzim untuk berubah secara permanen dari keadaan alami jika kompleks enzim inhibitor memiliki ikatan yang sangat kuat. Hal ini akan menyebabkan enzim kehilangan reaktifitasnya secara permanen (Urifah, 2011).

3. Penghambatan Unkompetitif

Penghambatan unkompetitif merupakan senyawa yang berikatan secara reversibel pada molekul kompleks enzim substrat, membentuk kompleks enzim substrat inhibitor (ESI) yang bersifat inaktif sehingga tidak dapat menghasilkan produk. Inhibitor tidak berikatan dengan molekul enzim bebas (E). Umumnya, inhibisi unkompetitif terjadi akibat adanya akumulasi produk dari reaksi enzim itu sendiri dan sangat jarang dijumpai pada reaksi enzim yang melibatkan hanya satu substrat dan satu produk (Urifah, 2011).

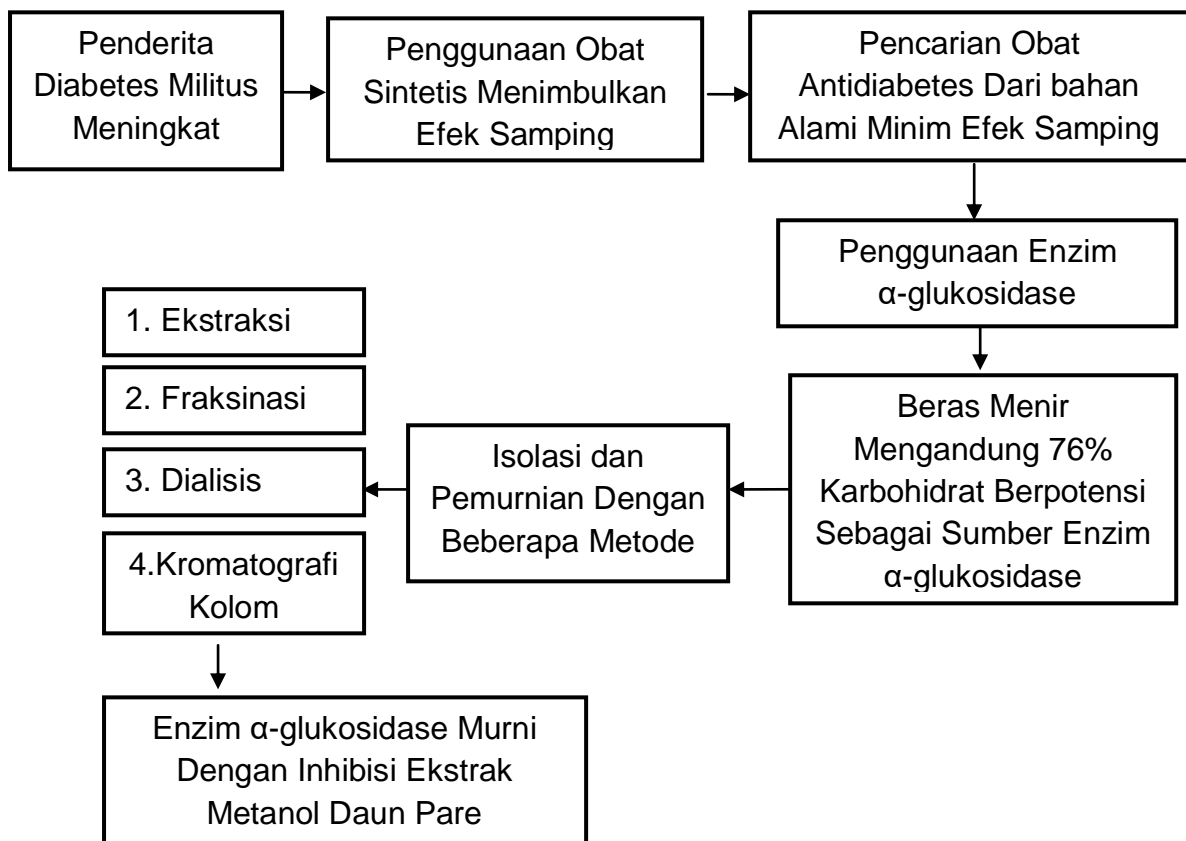
K. Kerangka Pikir dan Hipotesis

1. Kerangka Pikir

Penderita penyakit diabetes militus semakin meningkat, penggunaan obat sintetis sebagai inhibitor enzim α -glukosidase dalam menghambat absorpsi glukosa memiliki beberapa efek samping yang ditimbulkan yakni rasa tidak nyaman diperut, diare, dan hepatitis akut. Pencarian bahan obat antidiabetes dari bahan alami minim efek samping

telah banyak dilakukan, dalam menunjang pencarian obat antidiabetes dibutuhkan enzim α -glukosidase.

Beras menir adalah salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai sumber enzim α -glukosidase karena mengandung 76% karbohidrat yang merupakan pati. Beras menir dapat diisolasi dan dimurnikan dengan metode ekstraksi, fraksinasi, dialisis, kromatografi penukar ion dan kromatografi filtrasi gel. Enzim α -glukosidase hasil pemurnian yang diperoleh diharapkan dapat digunakan dalam menunjang pencarian obat antidiabetes. Diagram alir kerang pikir dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram Alir Kerangka Pikir

2. Hipotesis

Adapun hipotesis yang dapat diajukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Beras menir berpotensi menghasilkan enzim α -glukosidase yang dapat ditentukan aktivitas optimumnya.
- b. Enzim α -glukosidase yang dihasilkan oleh beras menir dapat dimurnikan dan diketahui aktivitas spesifiknya.
- c. Enzim α -glukosidase hasil pemurnian yang dihasilkan oleh beras menir dapat diketahui berat molekulnya dengan menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*).
- d. Enzim α -glukosidase yang dihasilkan oleh beras menir dapat digunakan dalam studi kinetika inhibisi ekstrak daun pare (*Momordica charatia*).