

**ORIGINAL ARTICLE**

J Sains Farm Klin 7(1):60-66 (April 2020) | DOI: 10.25077/jsfk.7.1.60-66.2020

# Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) secara In Vitro

(*In vitro determination of antioxidant and antidiabetic activity of kepundung leaf extract (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.)*)

**Lestyo Wulandari\*, Ari Satia Nugraha & Nuri Putri Azhari**

Fakultas Farmasi Universitas Jember, Jl. Kalimantan No. 37, Krajan Timur, Sumbersari, Kec. Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur 68121

**ABSTRACT:** Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) is one of the beneficial plants in Indonesia which contains flavonoids, polyphenols, tannins, and terpenoids that exhibit antioxidant properties. The presence of antioxidants in plants could be associated with antidiabetic activity of these plants. This research was conducted to determine the antioxidant and antidiabetic activities of methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts from Kepundung leaves. Extraction was carried out by the ultrasonic method. The antioxidant activity was determined quantitatively by DPPH method, while the antidiabetic activity was evaluated by using  $\alpha$ -amylase inhibition method. The  $IC_{50}$  values from the determination of antioxidant and antidiabetic activities were obtained by using UV-Vis spectrophotometer at the maximum wavelength. Results of the antioxidant determination showed that  $IC_{50}$  values of methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts were  $9.38 \pm 0.15$ ,  $10.55 \pm 0.09$ , and  $946.70 \pm 2.31$  ppm, respectively. This indicates the methanol and ethanol extracts give the best results in antioxidant activity. Meanwhile,  $IC_{50}$  values of in vitro antidiabetic activity of methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts were  $67.63 \pm 0.36$ ,  $67.46 \pm 0.23$  and  $841.04 \pm 1.52$  ppm, respectively. Methanol and ethanol leaf extracts of kepundung exhibit similar potency of antidiabetic activity.

**Keywords:** Kepundung leaves; *Baccaurea racemosa*; antioxidant activity; antidiabetic activity; DPPH;  $\alpha$ -amylase enzyme.

**ABSTRAK:** Kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.) merupakan salah satu tanaman berkahsiat di Indonesia yang mengandung flavonoid, polifenol, tanin, dan terpenoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan senyawa dengan aktivitas antioksidan dapat dikaitkan dengan potensi aktivitas antidiabetes dari tanaman ini. Penelitian dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat dari daun kepundung. Ekstraksi dilakukan dengan metode ultrasonik. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif dengan metode DPPH, sedangkan pengujian aktivitas antidiabetes menggunakan metode penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase. Nilai  $IC_{50}$  pada penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes ditentukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Hasil penentuan antioksidan menunjukkan bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat masing-masing adalah  $9,38 \pm 0,15$ ;  $10,55 \pm 0,09$ ; dan  $946,70 \pm 2,31$  ppm. Ini menunjukkan ekstrak metanol dan etanol memberikan hasil terbaik dalam aktivitas antioksidan. Nilai  $IC_{50}$  aktivitas antidiabetes in vitro ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat masing-masing adalah  $67,63 \pm 0,36$ ;  $67,46 \pm 0,23$ ; dan  $841,04 \pm 1,52$  ppm. Hasil ini juga menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol daun kepundung memiliki aktivitas antidiabetes yang hampir sama.

**Kata kunci:** daun kepundung; *Baccaurea racemosa*; aktivitas antioksidan; aktivitas antidiabetes; DPPH; enzim  $\alpha$ -amilase.

## Pendahuluan

Indonesia merupakan negara *megabiodiversity* yang memiliki kurang lebih 30.000 jenis tumbuhan dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia dan 940 diantaranya merupakan tumbuhan berkahsiat [1]. Salah satu tumbuhan berkahsiat asli Indonesia yaitu kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell.Arg.). Secara empiris, daun kepundung dimanfaatkan sebagai obat pelancar haid dan obat diare. Kepundung mengandung berbagai macam metabolit

sekunder seperti senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan senyawa polifenol. Kandungan fenolik dan flavonoid yang tinggi pada tanaman kepundung berperan dalam memberikan aktivitas antioksidan [2,3].

Adanya aktivitas antioksidan dalam tanaman dapat dikaitkan dengan aktivitas antidiabetes dari tanaman tersebut. Antioksidan mampu mengurangi stres oksidatif

**Article history**

Received: 11 Juli 2020

Accepted: 22 April 2020

Published: 30 April 2020

**Access this article****\*Corresponding Author:** Lestyo WulandariFakultas Farmasi Universitas Jember, Jl. Kalimantan No. 37, Krajan Timur, Sumbersari, Kec. Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur 68121 | Email: [lestyowulandari@unej.ac.id](mailto:lestyowulandari@unej.ac.id)

sehingga dapat mencegah terjadinya diabetes melitus dan mencegah komplikasi pada penderita diabetes [4]. Tanaman yang mengandung fenol sebagai antioksidan mampu melindungi sel beta pankreas dari efek toksik radikal bebas yang diproduksi saat hiperglikemia kronis, sehingga kadar insulin dapat tetap terjaga dan menjaga kadar glukosa darah agar tetap normal [5].

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kepundung memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang kuat, namun belum terdapat penelitian yang dilaporkan mengenai aktivitas antidiabetes dari tanaman ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari ekstrak daun kepundung. Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH dengan pembanding asam askorbat (vitamin C), sedangkan dalam uji aktivitas antidiabetes dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dengan pembanding akarbosa. Kedua metode ini dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

## Metode Penelitian

### Bahan

Daun tanaman kepundung (*Baccaurea racemosa* Muell. Arg., diperoleh dari Desa Banjarsengon, Jember, Jawa Timur), etanol 96% (Brataco, Indonesia), metanol (Brataco, Indonesia), etil asetat (Brataco, Indonesia), akuabides steril (Ikapharmindo Putramas, Indonesia), dapar fosfat pH 6,9, NaOH 2 M (Merck KGaA, Jerman), kalium natrium tartrat (Pudak, Indonesia), 3,5-dinitrosalisilat (Sigma-Aldrich, USA), substrat pati kentang (Merck KGaA, Jerman), enzim  $\alpha$ -amilase (Sigma-Aldrich, USA), akarbosa (Sigma-Aldrich, USA), vitamin C (Sigma-Aldrich, USA), DPPH 0,1 mM (Sigma-Aldrich, USA).

### Ekstraksi Daun Kepundung

Daun kepundung yang tidak terlalu tua dibersihkan, dirajang lalu dikeringkan tanpa terkena sinar matahari secara langsung. Setelah kering kemudian digiling dan diayak hingga membentuk serbuk dengan ukuran seragam. Ekstraksi dilakukan dengan metode ultrasonik. Serbuk ditimbang sebanyak 400 mg, dilarutkan dalam pelarut sampai 10 mL, kemudian diultrasonik selama 20 menit dan didiamkan selama 24 jam [6]. Ekstrak diencerkan menjadi beberapa konsentrasi untuk dilakukan penentuan uji aktivitas antioksidan dan antidiabetes.

### Skrining Fitokimia

Identifikasi senyawa polifenol: Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT yang kemudian dieluasi dengan

pelarut toluena, aseton, dan asam format dengan rasio 6:6:1, kemudian disemprot dengan penampak noda  $\text{FeCl}_3$ . Adanya polifenol dalam ekstrak ditunjukkan dengan timbulnya noda berwarna kehitaman [7].

Identifikasi senyawa flavonoid: Sampel ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi dengan butanol, asam asetat glasial, air, dan metanol dengan rasio 4:1:5:1, kemudian disemprot dengan sitroborat. Ekstrak dinyatakan mengandung flavonoid apabila timbul noda berwarna kuning intensif [7].

Identifikasi senyawa terpenoid: 1 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut, dan ditotolkan pada lempeng KLT yang kemudian dieluasi dengan heksana-etil asetat (4:1), disemprot dengan anisaldehida asam sulfat, dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 5-10 menit. Adanya terpenoid ditunjukkan dengan timbulnya warna merah ungu atau ungu [8].

Identifikasi senyawa alkaloid: Ekstrak ditotolkan pada lempeng dan dieluasi dengan etil asetat, metanol, dan air dengan rasio 9:2:2, kemudian disemprot dengan pereaksi *dragendorff*. Ekstrak dinyatakan mengandung alkaloid apabila timbul warna jingga, maka terdapat alkaloid dalam ekstrak [9].

Identifikasi senyawa tanin: Ekstrak ditambahkan beberapa tetes  $\text{FeCl}_3$ . Perubahan warna menjadi hijau, ungu, biru atau hitam menunjukkan adanya tanin dalam ekstrak [10].

### Penentuan Aktivitas Antioksidan

#### *Penetapan Panjang Gelombang Maksimum*

Sebanyak 1,2 mL larutan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0,1 mM dan 0,3 mL metanol dicampurkan dan dihomogenkan dalam kuvet dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400–600 nm.

#### *Penentuan Waktu Inkubasi*

Sebanyak 1,2 mL larutan DPPH 0,1 mM dipipet dalam kuvet dan ditambahkan 0,3 mL larutan ekstrak dan vitamin C dengan konsentrasi tertentu. Larutan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh dengan interval waktu 5 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil.

#### *Pengujian Aktivitas Antioksidan*

Sebanyak 0,3 mL larutan sampel ekstrak dan vitamin C diambil dari sampel masing-masing kemudian ditambahkan 1,2 mL DPPH 0,1 mM. Larutan yang telah direaksikan didiamkan sesuai waktu inkubasi di tempat

**Tabel 1.** Volume larutan pada uji antidiabetes ( $\mu\text{L}$ )

Sampel	Volume larutan ( $\mu\text{L}$ )			
	Dapar	Ekstrak	Enzim	Akarbosa
Blanko larutan ekstrak	400	100	-	-
Larutan ekstrak	375	100	25	-
Blanko akarbosa	400	-	-	100
Larutan akarbosa	375	-	25	100
Blanko kontrol negatif	500	-	-	-
Kontrol negatif	475	-	25	-

gelap dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis (U-1800 Hitachi, Jepang) pada panjang gelombang maksimum.

### Penentuan Aktivitas Antidiabetes

#### Pembuatan Reagen

Pembuatan reagen DNS: Sejumlah 30 gram kalium natrium tartrat dilarutkan dalam 20 mL NaOH 2 M sambil dipanaskan dan diaduk. Secara terpisah, sejumlah 1,095 gram 3,5-dinitrosalisolat (DNS) dilarutkan dalam labu ukur 50 mL dengan akuabides. Kedua larutan dicampurkan dan ditambahkan akuabides hingga 100 mL.

Pembuatan substrat pati kentang 0,5%: Substrat dibuat dengan menimbang 0,05 gram pati kentang dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,9 pada labu ukur dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga larut.

Pembuatan larutan enzim  $\alpha$ -amilase: Sejumlah 20 mg enzim dilarutkan dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,9 sehingga didapatkan konsentrasi enzim 20 U/mL. Sejumlah 25  $\mu\text{L}$  larutan direaksikan dengan inhibitor, substrat, dan DNS agar diperoleh konsentrasi 0,5 U/mL yang merupakan hasil optimasi [11].

#### Pengujian aktivitas antidiabetes secara *in vitro*

Sejumlah 100  $\mu\text{L}$  inhibitor (ekstrak dan akarbosa) dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dapar serta enzim yang kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C. Substrat pati kentang 100  $\mu\text{L}$  ditambahkan dan diinkubasi lagi pada suhu 25°C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan pemberian DNS 400  $\mu\text{L}$  dan dipanaskan dalam air mendidih di atas *hot plate* selama 15 menit, kemudian diukur serapan pada panjang gelombang 540 nm. Jumlah volume setiap larutan dalam uji antidiabetes disajikan pada [Tabel 1](#).

### Pengolahan Data

Aktivitas antioksidan dan antidiabetes sampel ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dan hambatan enzim  $\alpha$ -amilase melalui perhitungan persentase penghambatan menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = \text{Abs kontrol} - \text{abs sampel} / \text{Abs kontrol} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs kontrol: absorbansi DPPH (uji antioksidan), absorbansi kontrol negatif (selisih absorbansi kontrol negatif dengan enzim dan tanpa enzim pada uji antidiabetes)

**Tabel 2.** Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kepundung

Golongan Senyawa	Metode Uji	Penampak noda	Hasil Uji			Keterangan jika positif
			Ekstrak Metanol	Ekstrak Etanol	Ekstrak Etil Asetat	
Polifenol	KLT	FeCl <sub>3</sub>	+	+	-	Noda berwarna kehitaman
Terpenoid	KLT	Anisaldehida asam sulfat	+	+	+	Noda berwarna ungu
Alkaloid	KLT	Dragendorff	-	-	-	Noda berwarna jingga
Flavonoid	KLT	Sitroborat	+	+	-	Noda berwarna kuning intensif
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	-	+	+	-	Warna menjadi hijau kehitaman

Abs sampel: absorbansi sampel (uji antioksidan), absorbansi sampel (selisih absorbansi inhibitor dengan enzim dan tanpa enzim pada uji antidiabetes)

Nilai  $IC_{50}$  sampel dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % penghambatan sebagai sumbu y. Persamaan regresi  $y = bx + a$  digunakan untuk menentukan  $IC_{50}$  dengan persamaan:

$$IC_{50} = 50 - a / b$$

## Hasil dan Diskusi

Daun tanaman kepundung dibersihkan terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel pada daun. Daun kemudian dirajang untuk mempercepat proses penguapan dan pengeringan. Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air pada sampel tumbuhan, sehingga mencegah terjadinya proses pembusukan selama proses penyimpanan [12]. Daun kepundung yang sudah kering digiling dan diayak agar menjadi serbuk yang homogen.

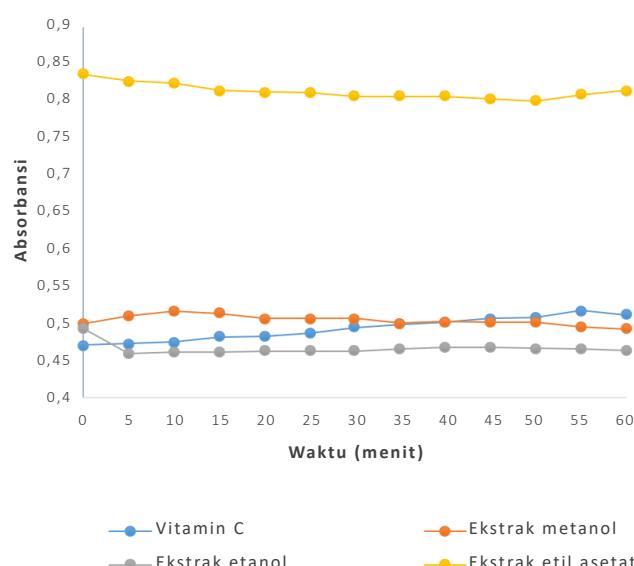
Skrining fitokimia merupakan proses penentuan golongan senyawa untuk memberikan gambaran tentang senyawa yang terkandung dalam tanaman yang diteliti [13]. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat mengandung terpenoid, namun tidak mengandung alkaloid. Beda halnya dengan uji senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin pada ekstrak yang

**Tabel 3.** Waktu inkubasi sampel

Larutan	Waktu (menit)
Vitamin C	15
Ekstrak Metanol	20
Ekstrak Etanol	20
Ekstrak Etil Asetat	30

menunjukkan bahwa senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin terdeteksi dalam ekstrak metanol dan etanol, namun tidak terdeteksi dalam ekstrak etil asetat. Hal ini terjadi karena senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin mempunyai gugus hidroksil sehingga bersifat polar. Metanol dan etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar [14], sedangkan etil asetat merupakan pelarut semipolar, sehingga lebih mudah melarutkan senyawa yang bersifat semi polar [15]. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun kepundung dapat dilihat pada [Tabel 2](#).

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi ultrasonik. Getaran ultrasonik dapat menghasilkan gelembung kavitas yang memecah sel tanaman, sehingga pelarut dapat masuk ke dalam sel dan melarutkan komponen-komponen sel [16]. Metode ini dapat mempercepat proses ekstraksi, mudah, aman, dan efisien [17]. Pelarut yang digunakan yaitu metanol, etanol, dan etil asetat. Digunkannya metanol dan etanol dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jika terdapat perbedaan senyawa yang terkandung di dalamnya, serta perbedaan



**Gambar 1.** Hasil pengamatan waktu inkubasi ekstrak daun kepundung dan vitamin C

aktivitas antioksidan dan antidiabetes dalam kedua ekstrak tersebut. Metanol dan etanol merupakan pelarut polar, sedangkan etil asetat adalah pelarut semipolar. Penggunaan pelarut yang berbeda ditujukan untuk dapat membandingkan aktivitasnya.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan adalah metode DPPH karena merupakan metode yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat [18]. Pengukuran aktivitas antioksidan sampel dilakukan pada panjang gelombang 514 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) adalah panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimal. Suatu analisis harus menggunakan panjang gelombang maksimum, karena kepekaan maksimum dapat dicapai pada panjang gelombang tersebut.

Waktu inkubasi merupakan waktu yang dibutuhkan oleh DPPH untuk bereaksi sempurna dengan larutan uji. Waktu yang ditetapkan ditunjukkan dengan absorbansi yang mulai stabil atau tidak berubah signifikan. Pengukuran dilakukan terhadap masing-masing larutan uji pada panjang gelombang 514 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum dari DPPH. Konsentrasi yang digunakan dalam penentuan waktu inkubasi yaitu 2 ppm vitamin C, 20 ppm ekstrak metanol, dan etanol, serta 200 ppm ekstrak etil asetat. Pengukuran absorbansi dimulai dari menit ke-0 hingga ke-60 seperti pada pada [Gambar 1](#).

Hasil dari waktu inkubasi menunjukkan bahwa vitamin C mulai memberikan absorbansi yang stabil pada

menit ke-15, 20, dan 25, namun absorbansi berubah lagi di menit selanjutnya. Hal ini berbeda dengan ekstrak metanol dan etanol yang memberikan absorbansi stabil mulai menit ke-20 hingga menit ke-50, sedangkan untuk ekstrak etil asetat pada menit ke-30 hingga menit ke-50.

[Tabel 3](#) menunjukkan bahwa setiap larutan mempunyai waktu inkubasi yang berbeda. Vitamin C memiliki waktu inkubasi yang paling cepat, hal ini diduga karena merupakan senyawa tunggal dan terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sehingga menyebabkan vitamin C lebih cepat bereaksi sempurna dengan DPPH. Sedangkan ekstrak kepundung yang terdiri dari berbagai senyawa membutuhkan waktu lebih lama untuk bereaksi dengan DPPH. Ekstrak metanol dan etanol memberikan waktu inkubasi yang lebih cepat dibanding ekstrak etil asetat, karena senyawa yang berperan sebagai antioksidan lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti metanol dan etanol. Sesuai dengan skrining fitokimia yang telah dilakukan bahwa senyawa polifenol, flavonoid, dan tanin yang mempunyai peran sebagai antioksidan hanya terdeteksi pada ekstrak metanol dan etanol. Oleh karena itu reaksi antara senyawa dalam pelarut polar dengan DPPH berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan pelarut semipolar pada penelitian ini, yaitu etil asetat.

Adanya aktivitas antioksidan dari sampel mengakibatkan perubahan warna pada larutan DPPH dalam metanol yang semula berwarna ungu menjadi kuning. Besarnya aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% DPPH. Larutan yang memberikan

**Tabel 4.** Hasil pengujian aktivitas antioksidan ekstrak daun kepundung

Sampel	$IC_{50}$ (ppm)	Rata-rata $IC_{50}$ (ppm) $\pm$ SD (ppm)	CV (%)
<b>Vitamin C</b>	1,64		
	1,66	1,65 $\pm$ 0,01	0,92
	1,63		
<b>Ekstrak Metanol</b>	9,34		
	9,25	9,38 $\pm$ 0,15	1,56
	9,54		
<b>Ekstrak Etanol</b>	10,56		
	10,62	10,55 $\pm$ 0,09	0,81
	10,45		
<b>Ekstrak Etil Asetat</b>	949,32		
	944,96	946,70 $\pm$ 2,31	0,24
	945,81		

nilai  $IC_{50}$  paling kecil menunjukkan kemampuan meredam DPPH yang semakin besar, sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang paling tinggi.

Penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding karena vitamin C telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Digunakannya vitamin C sebagai kontrol positif juga untuk memastikan bahwa metode yang digunakan telah benar. Beberapa penelitian terdahulu telah melaporkan nilai  $IC_{50}$  dari vitamin C, yaitu 1,89 ppm dan 1,73 ppm [19,20].

**Tabel 4** menunjukkan hasil uji aktivitas antioksidan dimana nilai  $IC_{50}$  vitamin C sebesar  $1,65 \pm 0,01$  ppm yang merupakan nilai terkecil dari semua sampel ekstrak daun kepundung. Nilai hasil penelitian ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya oleh Sulaweh dkk. dan Moein dkk. [19,20]. Nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol dan etanol masing-masing sebesar  $9,38 \pm 0,15$  dan  $10,55 \pm 0,09$  ppm. Kedua nilai ini tidak berbeda jauh karena kedua pelarut bersifat polar dan senyawa terlarut pada kedua ekstrak ini yang memberikan aktivitas antioksidan adalah relatif sama. Hal ini sesuai dengan hasil skrining fitokimia pada **Tabel 2** yang menunjukkan bahwa senyawa yang dapat dideteksi pada ekstrak metanol juga terdeteksi pada ekstrak etanol. Sedangkan ekstrak etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar  $946,70 \pm 2,31$  ppm yang jauh lebih besar dibandingkan sampel lain. Perbedaan ini disebabkan karena senyawasenyawa yang memberikan aktivitas antioksidan dalam ekstrak lebih banyak larut dalam metanol dan etanol dibandingkan dalam etil asetat. Secara khusus, polifenol dan flavonoid terdeteksi dalam ekstrak metanol dan etanol,

namun tidak terdeteksi dalam ekstrak etil asetat.

Penentuan aktivitas antidiabetes ekstrak daun kepundung dilakukan secara *in vitro* dengan metode penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim ini mampu memecah pati menjadi gula yang lebih sederhana seperti maltosa. **Tabel 5** menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan etanol mampu menghambat enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai  $IC_{50}$  hampir 3 kali lipat lebih besar dari obat standar, akarbosa. Dari ketiga ekstrak yang dibuat, ekstrak metanol dan etanol memberikan nilai  $IC_{50}$  yang relatif sama yaitu sebesar  $67,64 \pm 0,36$  dan  $67,46 \pm 0,23$  ppm dan nilai tersebut jauh lebih kecil dibandingkan dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat sebesar  $841,04 \pm 1,52$  ppm. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  suatu inhibitor menunjukkan kemampuan dalam menghambat enzim  $\alpha$ -amilase semakin besar. Adanya perbedaan yang jauh antara nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol dan etanol dengan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etil asetat disebabkan senyawa yang berperan sebagai antidiabetes lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, golongan senyawa yang hanya terdapat di dalam ekstrak metanol dan etanol yaitu golongan polifenol, flavonoid, dan tanin. Golongan senyawa inilah yang diduga berperan memberikan aktivitas antidiabetes pada ekstrak metanol dan etanol daun kepundung.

Ekstrak dapat menghambat enzim  $\alpha$ -amilase disebabkan adanya senyawa flavonoid dan polifenol [21], sesuai dengan skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini. Flavonoid merupakan senyawa golongan polifenol yang bersifat polar sehingga cenderung larut

**Tabel 5.** Hasil pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak daun kepundung

Sampel	$IC_{50}$ (ppm)	Rata-rata $IC_{50}$ (ppm) $\pm$ SD (ppm)	CV (%)
<b>Akarbosa</b>	23,71		
	23,08	23,48 $\pm$ 0,35	1,48
	23,64		
<b>Ekstrak Metanol Kepundung</b>	67,44		
	68,05	67,64 $\pm$ 0,36	0,53
	67,42		
<b>Ekstrak Etanol Kepundung</b>	67,73		
	67,32	67,46 $\pm$ 0,23	0,34
	67,33		
<b>Ekstrak Etil Asetat Kepundung</b>	839,86		
	840,49	841,04 $\pm$ 1,52	0,18
	842,76		

dalam pelarut polar dan sedikit larut dalam pelarut semipolar. Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai antioksidan yang melindungi kerusakan sel  $\beta$  sebagai penghasil insulin dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin [22]. Mekanisme lain flavonoid sebagai antidiabetes adalah kemampuannya dalam menghambat GLUT 2 (*Glucose Transporter type 2*) yang merupakan transporter mayor glukosa di dalam usus. Dengan dihambatnya GLUT 2, maka kadar glukosa dalam darah mengalami penurunan [23]. Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas. Peningkatan cAMP akan merangsang pengeluaran protein kinase yang menstimulasi sekresi insulin, sehingga produksi insulin meningkat dan menurunkan kadar glukosa darah [24]. Kemampuan ekstrak metanol dan etanol daun kepundung diharapkan mampu menurunkan kadar glukosa darah, sehingga mencegah terjadinya komplikasi pada pasien penderita diabetes melitus, khususnya diabetes melitus tipe 2.

## Kesimpulan

Ekstrak metanol dan etanol daun kepundung mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> masing-masing sebesar  $9,38 \pm 0,15$  dan  $10,55 \pm 0,09$  ppm, mendekati nilai IC<sub>50</sub> vitamin C yaitu sebesar  $1,65 \pm 0,01$ , dan jauh lebih baik dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etil asetat ( $946,70 \pm 2,31$  ppm). Ekstrak metanol dan etanol daun kepundung mempunyai aktivitas antidiabetes yang hampir sama dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut  $67,64 \pm 0,36$  dan  $67,46 \pm 0,23$  ppm.

## Referensi

- [1]. Masyhud. Lokakarya Nasional Tumbuhan Obat Indonesia [Internet]. 2010 [cited 2020 May 13]. Available from: <http://www.dephut.go.id/index.php/news/details/7043>
- [2]. Junaidi E, Arian Y, Anwar S. Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan Asam Galat dari Kulit Buah Lokal yang Diproduksi dengan Tanase. 2018;14(1):131–42. <https://doi.org/10.20961/alchemy.14.1.11300.131-142>
- [3]. Gunawan, Chikmawati T, Sobir, Sulistijorini. Review : Fitokimia genus *Baccharaea* spp. 2016;2(2):96–110. <https://doi.org/https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v2i2.2488>
- [4]. Widowati W. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. JKM. 2008;7(2):1–11.
- [5]. Wisudanti DD. Kajian Pustaka: Aplikasi Terapeutik Geraniin dari Ekstrak Kulit Rambutan (*Nephelium lappaceum*) sebagai Antihiperglykemik melalui Aktivitasnya sebagai Antioksidan pada Diabetes Melitus Tipe 2. *NurseLine J*. 2016;1(1):120–38.
- [6]. Trianto GO. Penetapan Kadar Kafein Dalam Teh Celup yang Beredar di Supermarket di Wilayah Kabupaten Jember Secara KLT-Densitometri [skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2009.
- [7]. Harborne JB. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
- [8]. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *Int Pharm Sci*. 2011;1(1):98–106.
- [9]. Agarwal P, Gupta R. Alpha-amylase inhibition can treat diabetes mellitus. *J Med Heal Sci*. 2016;5(4):1–8.
- [10]. Sari PP, Susanah W, Puspawati NM. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Tanin Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea Saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli* (E. Coli). *J Kim*. 2015;9(1):27–34.
- [11]. Khairunnisa P. Pengembangan Dan Validasi Metode Uji Aktivitas Inhibitor  $\alpha$ -Amilase Dari Ekstrak Metanol Daun Kopi Secara In Vitro [skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2017.
- [12]. Katno, Pramono S. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Tanaman Obat Tradisional. Yogyakarta: Farmasi UGM; 2001.
- [13]. Kristanti AN, Amnah NS, Tanjung M, Kurniadi B. Buku Ajar Fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press; 2008. 23 p.
- [14]. Romadanu, Rachmawati SH, Lestari SD. Antioxidant Activity of Lotus Leaves Extract (*Nelumbo nucifera*). *Fishtech*. 2014;3(1):1–7.
- [15]. Harborne JB. Phytochemical Methods. Terjemahan: Padmawinata K, Soediro I. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
- [16]. Sahin S, Samli R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasón Sonochem*. 2013;20(1):595–602. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.029>
- [17]. Bimakr M, Rahman RA, Ganjloo A, Taip FS, Adzahan NM, Sarker MZ. Characterization of valuable compounds from winter melon (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) seeds using supercritical carbon dioxide extraction combined with pressure swing technique. *Food Bioprocess Tech*. 2016;9(3):396–406. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1636-3>
- [18]. Prakash A, Rigelhof F, Miller E. Antioxidant Activity. *Medallion Lab Anal Prog*. 2001;19(2):1–6.
- [19]. Weber HFAC, Dewi IP, Tan V, Gani J. Uji Aktivitas Antioksidan Masker Peel-Off Ekstrak Etanol Buah Naga Super Merah. 2019;6(1):1–6.
- [20]. Sulaeja S, Jura MR, Rahman N. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol biji buah merah. 2017;6(August):170–4.
- [21]. Moein M, Pimoradloo E, Moein S, Vessal M. Evaluation of Antioxidant Potentials and alpha-amylase Inhibition of Different Fractions of Labiatea Plants Extracts: as a model of antidiabetic compounds properties. *Biomed Res Int*. 2017;7(1):1–8. <https://doi.org/10.1155/2017/7319504>
- [22]. Panjuantiningrum F. Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*H. polystachya*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan [skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret; 2010.
- [23]. Song J, Kwon O, Chen S, Daruwala R, Eck P, Park JB, et al. Flavonoid Inhibition of SVCT1 and GLUT2, Intestinal Transporters for Vitamin C and Glucose. *Biol Chem*. 2002;277(18): 15252–60. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110496200>
- [24]. Jamil KF, Hayati Z, Muhammad I. Peran Puasa dalam Remodelling Sel Enteroendokrin untuk Mencegah Diabetes Melitus Tipe 2. *JIMKI*. 2010;1(1):36–40.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)