

AKTIVITAS INHIBISI α -GLUKOSIDASE DARI EKSTRAK AIR DAN ETANOL DAUN SIMPUR AIR (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli)

Sitairesmi Yuningtyas^{*1}, Anna Priangani Roswiem¹, Erfina¹

¹ Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

Korespondensi: sitairesmi_yuningtyas@sttif.ac.id

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan gangguan metabolisme karbohidrat yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia. Salah satu mekanisme obat hipoglikemik oral yaitu penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli yang dikenal dengan nama daun simpur air adalah tanaman obat yang telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, termasuk diabetes melitus. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak air dan etanol dari daun simpur air. Daun simpur air diekstraksi menggunakan pelarut air dan etanol 70% dengan metode maserasi. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia dan uji inhibisi aktivitas enzim α -glukosidase. Hasil penelitian menunjukkan senyawa aktif yang teridentifikasi dalam ekstrak air dan etanol adalah flavonoid, saponin dan tanin. Ekstrak air daun simpur air pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% memiliki daya inhibisi berturut-turut sebesar 1,49%, 2,76% dan 3,91%. Ekstrak etanol daun simpur air pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% memiliki daya inhibisi berturut-turut sebesar 92,10%, 98,10% dan 118,30%. Sedangkan daya inhibisi enzim α -glukosidase dari glukobay (akarbose) 1% adalah sebesar 99,50%. Daya inhibisi enzim α -glukosidase optimum berada pada ekstrak etanol 1,5% yang aktivitasnya tidak berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan daya inhibisi glukobay (akarbose) 1%.

Kata kunci : alfa-glukosidase, daun simpur air, diabetes melitus, *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disorder of carbohydrate metabolism which characterized by hyperglycemia conditions. One of the mechanism from oral hypoglycemic drug is inhibition of α -glucosidase activity. *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli, known as "simpur air" has been used to treat diabetes mellitus. This study aims to determine the inhibition activity of α -glucosidase enzyme from water and ethanol extract simpur air leaves. Simpur air leaves extracted with water and ethanol 70% using maceration method. Parameter evaluated in this research were phytochemical screening and alpha glucosidase inhibiting (AGI) activity. The results showed that the active compounds in water and ethanol extracts were flavonoids, saponins and tannins. AGI activity in water extract from simpur air leaves at concentrations of 1%, 1.5% and 2% were 1.49%, 2.76% and 3.91%, respectively. AGI activity in ethanol extract from simpur air leaves at concentrations of 1%, 1.5% and 2% were 92.10%, 98.10% and 118.30%, respectively. While the AGI activity from glucobay were 99.50%. The optimum of AGI activity was in 1.5% ethanol extract. This AGI activity which was not significantly different ($\alpha < 0.05$) from the 1% glucobay.

Keywords: alpha-glucosidase, diabetes mellitus, *Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli, simpur air leaves

PENDAHULUAN

Pola hidup masyarakat yang tidak sehat menyebabkan masuknya senyawa-senyawa xenobiotik ke dalam tubuh sehingga menyebabkan terjadinya berbagai penyakit. Senyawa-senyawa xenobiotik tersebut dapat berupa logam berat atau senyawa radikal bebas. Salah satu penyakit tersebut adalah diabetes melitus yang terjadi akibat beberapa proses xenobiotik yang merusak sel beta pankreas sehingga menyebabkan terganggunya proses metabolisme. Karakteristik diabetes melitus adalah terjadinya hiperglikemia, yaitu tingginya kadar glukosa di dalam darah akibat kurangnya sekresi insulin, menurunnya aktivitas insulin, atau keduanya^[11]. Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit yang banyak diderita di dunia. Terdapat 171 juta kasus diabetes melitus di dunia dan diperkirakan pada tahun 2030 akan menjadi 366 juta kasus^[13]. Indonesia menempati urutan ke empat di dunia dalam jumlah penderita diabetes melitus. Oleh karena itu, diabetes melitus merupakan suatu penyakit yang sangat serius bagi masyarakat Indonesia.

Inhibitor α -glukosidase merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase. Pengurangan penyerapan karbohidrat dari makanan oleh usus merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia postprandial. Polisakarida kompleks akan dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi dekstrin dan dihidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase sebelum memasuki sirkulasi darah melalui penyerapan epitelium. Inhibitor sintesis dari amilase dan α -glukosidase, seperti glukobay (akarbose), telah banyak digunakan untuk penanganan pasien diabetes melitus tipe II namun obat ini juga dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping^[3]. Sehubungan dengan hal tersebut banyak usaha yang telah dilakukan untuk menemukan inhibitor α -glukosidase dari sumber alami untuk mengobati diabetes.

Daun simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) berpotensi sebagai penyembuh luka, mengobati demam, meringankan rematik, antimikroba, antivirus dengue, antitumor, dan antioksidan^[14]. Daun simpur air mengandung komponen saponin, triterpen, sterol, dan golongan fenol^[11]. Di pulau Bangka Belitung, masyarakat sering menggunakan air rebusan daun simpur air untuk mengobati penyakit diabetes melitus. Potensi daun simpur air sebagai tanaman obat sangat besar namun kajian ilmiah mengenai khasiat daun simpur air sebagai agen antidiabetik

belum ada. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas inhibisi α -glukosidase dari ekstrak air dan etanol dari daun simpur air.

METODE PENELITIAN

Bahan: daun simpur air (*Dillenia suffruticosa* (Griff.) Martelli) yang berasal dari Desa Jebus, Kepulauan Bangka Belitung, akuades, etanol 70%, enzim α -glukosidase, tablet Glucobay (akarbose), p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG), serbuk magnesium (Mg), pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorf, HCl, amil alkohol, H₂SO₄ p, pereaksi Dreagendorf, FeCl₃, kloroform, asam asetat anhidrat larutan bufer fosfat pH 7, dimetilsulfoksida (DMSO), HCl 2N, dan Na₂CO₃.

Alat: alat gelas, rotary evaporator, oven, kertas saring, neraca analitik, pipet mikro dan microplate reader (Epoch Microplate Spectrophotometer).

Metode

Pembuatan Simplisia Daun Simpur Air

Daun simpur air dicuci dengan air bersih kemudian dilakukan perajangan dengan ketebalan 1-3 mm. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan selama 5 hari kemudian dilakukan sortasi kering. Simplisia yang sudah kering diblender sampai halus kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh.

Ekstraksi Daun Simpur Air

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian direndam masing-masing dengan menggunakan pelarut air dan etanol 70% sebanyak 500 mL selama 24 jam pada suhu kamar di dalam maserator. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring halus dan filtratnya disimpan. Residu dilakukan remaserasi dengan pelarut yang sama. Remaserasi dilakukan sebanyak dua kali sehingga total ekstraksi selama 3x24 jam. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) sehingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak yang diperoleh dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

Selanjutnya ekstrak air dan etanol daun simpur air dilakukan uji fitokimia dan uji inhibisi α -glukosidase secara *in vitro*.

Penapisan Fitokimia^[4]

Ekstrak yang diperoleh dilakukan uji fitokimia berupa uji kualitatif golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid.

Uji Inhibisi α -Glukosidase^[8]

Masing-masing ekstrak air dan etanol daun simpur air dilarutkan dalam pelarut dimetil sulfoksida (DMSO) sehingga menghasilkan konsentrasi 1, 1,5, dan 2% (b/v). Campuran pereaksi terdiri dari 25 μ L *p*-nitrofenil α -D-glukosida (*p*-NPG) 0,5 mM sebagai substrat (yang dilarutkan dalam bufer fosfat (pH 7) 0,1 M), 50 μ L larutan bufer fosfat (pH 7) 0,1 M, dan 10 μ L larutan sampel. Setelah itu ditambahkan 25 μ L larutan enzim α -glukosidase, kemudian campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan 100 μ L sodium karbonat (Na_2CO_3) 0.2 M. Absorbans dari *p*-nitrofenol yang merupakan hasil hidrolisis enzimatis dari substrat *p*-NPG diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang maksimum (λ) 410 nm.

Selain sampel uji, juga disiapkan campuran ekstrak tanpa direaksikan dengan enzim (S_0) yang digunakan sebagai koreksi terhadap absorbans ekstrak. Kontrol negatif (C) merupakan campuran tanpa ekstrak/sampel uji. Kontrol positif yang dibuat dengan melarutkan tablet glucobay (akarbose) dalam bufer fosfat (pH 7) dan HCL 2 N dengan konsentrasi 1% (b/v). Larutan ini kemudian disentrifuse, supernatan dimasukkan ke dalam campuran pereaksi seperti pada sampel uji (10 μ L). Hasil reaksi tersebut diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 410 nm untuk mengukur absorbansi *p*-nitrofenol. Masing-masing sampel uji dihitung persen inhibisinya dengan menggunakan persamaan sebagai berikut :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{C - (S_1 - S_0)}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

C= Absorban campuran tanpa ekstrak

S_0 = Absorban campuran tanpa enzim namun dengan ekstrak

S_1 = Absorban campuran dengan enzim dan ekstrak.

Analisis Data

Data aktivitas inhibisi α -glukosidase yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan ANOVA yaitu RAL (Rancangan Acak Lengkap) satu faktor dengan

tiga kali ulangan pada tingkat kepercayaan 95% dan taraf α 0,05 dan kemudian dilanjutkan dengan uji DUNCAN. Pengolahan data dengan SPSS 14.

HASIL DAN PEMBAHASAN**Ekstraksi Daun Simpung Air**

Daun simpur yang digunakan sebagai sampel penelitian diperoleh dari Desa Jebus, Kepulauan Bangka Belitung. Daun yang digunakan adalah daun ke-4 sampai ke-6 dari pucuk. Serbuk daun simpur diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut air dan etanol 70%. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah air dan etanol 70%. Penggunaan pelarut air dan etanol ini juga bertujuan untuk menarik senyawa polar yang terdapat dalam sampel. Air dipilih karena kebiasaan masyarakat Indonesia mengkonsumsi obat tradisional yang direbus dalam air. Sedangkan pemilihan etanol disebabkan karena etanol merupakan pelarut yang universal, yang dapat mengekstrak senyawa-senyawa yang bersifat polar^[4]. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Hasil rendemen dari ekstrak air sebesar 4,02% dan dari ekstrak etanol sebesar 7,02%. Perbedaan rendemen ekstrak air dan etanol tersebut terjadi karena terdapat perbedaan sifat antara air dan etanol. Air dan etanol bersifat polar sehingga mampu menarik senyawa yang bersifat polar. Namun berbeda dengan air, etanol juga mampu menarik senyawa yang bersifat semipolar. Rendemen ekstrak etanol yang lebih tinggi jika dibandingkan rendemen ekstrak air menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder pada daun simpur lebih banyak yang bersifat semipolar dibandingkan senyawa polar.

Penapisan Fitokimia

Hasil analisis fitokimia ekstrak air dan etanol daun simpur disajikan pada Tabel 1. Pada penapisan fitokimia ini, hasil yang didapat dari ekstrak air dan etanol daun simpur air yakni mengandung flavonoid, saponin, dan tanin.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak air dan etanol daun simpur air

No.	Jenis Pengujian	Jenis Ekstrak	
		Air	Etanol
1	Alkaloid	-	-
2	Flavonoid	+	+
3	Saponin	+	+
4	Tanin	+	+
5	Steroid	-	-
6	Triterpenoid	-	-

Keterangan: (-) : tidak terdeteksi
(+) : terdeteksi

Air dan etanol sebagai pelarut polar umumnya akan melarutkan senyawa golongan gula, asam amino, protein, poliglukosida, tanin, garam alkaloid, dan polifenol. Flavonoid memiliki gugus hidroksi yang tidak tersubstitusi sehingga bersifat polar dan tanin termasuk golongan polifenol yang bersifat polar. Saponin memiliki gugus glikosil yang berfungsi sebagai gugus polar^[4]. Berdasarkan hal tersebut maka golongan flavonoid, tanin, dan saponin dapat ditemukan pada ekstrak air dan etanol daun simpur air. Ketiga jenis senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antidiabetik.

Inhibisi Aktivitas α -Glukosidase

Dalam penelitian ini, kemampuan hipoglikemik potensial daun simpur air diuji secara *in vitro* melalui penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Sebagai pembanding digunakan glukobay 1 % yang merupakan agen antidiabetik komersial yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase. Hasil yang disajikan pada Tabel 2 menunjukkan bahwa baik ekstrak air dan etanol daun simpur air mempunyai kemampuan untuk menghambat aktivitas α -glukosidase.

Tabel 2. Aktivitas inhibisi α -glukosidase dari daun simpur air

Sampel	Konsentrasi (%b/v)	% Daya Inhibisi
Air	1,0	1,49 ^a
	1,5	2,77 ^a
	2,0	3,91 ^a
Etanol	1,0	92,10 ^b
	1,5	98,40 ^c
	2,0	118,30 ^d
Glukobay	1,0	99,50 ^c

Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan nilai beda nyata pada $\alpha < 0,05$.

Ekstrak air daun simpur air memiliki daya inhibisi berturut-turut untuk konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% sebesar 1,49%, 2,76% dan 3,91%. Ekstrak etanol daun simpur air memiliki daya inhibisi berturut-turut untuk konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% sebesar 92,13%, 98,41%, dan 118,30%. Daya inhibisi ekstrak air dan etanol 70% menunjukkan nilai yang berbeda. Hal ini disebabkan karena adanya perbedaan sifat pelarut antara air dan etanol yang menyebabkan perbedaan ketertarikan senyawa metabolit sekunder yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. Hasil ini ditunjang pada nilai rendemen yang didapat yaitu pada ekstrak air sebesar 4,02% dan etanol sebesar 7,02%. Sehingga dari hasil rendemen tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak etanol daun simpur air memiliki jumlah metabolit sekunder lebih banyak sehingga menyebabkan perbedaan penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase.

Data pada Tabel 2 memperlihatkan bahwa ekstrak etanol memiliki kemampuan signifikan lebih besar dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dibandingkan ekstrak air, dan aktivitas tersebut setara dengan yang dimiliki oleh glukobay. Daya inhibisi aktivitas enzim α -glukosidase ekstrak etanol 1,5% tidak berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan daya inhibisi dari glukobay 1%. Sehingga ekstrak etanol 1,5% memiliki aktivitas optimum karena efektivitasnya sama dengan glukobay. Ekstrak etanol 2% memiliki daya inhibisi enzim α -glukosidase tertinggi dengan nilai 118,3%. Daya inhibisi tersebut berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan glukobay (akarbose) 1%. Konsentrasi ekstrak etanol 2% lebih tinggi dalam penghambatan enzim α -glukosidase sehingga diduga akan memicu kondisi hipoglikemia.

Glukobay mengandung akarbose. Akarbose merupakan senyawa oligosakarida kompleks yang merupakan inhibitor kompetitif potensial dari enzim α -glukosidase yang bekerja di *brush border* untuk memecah pati, dekstrin, maltosa, dan sukrosa sehingga menghasilkan monosakarida yang dapat dicerna. Berdasarkan sifat tersebut maka akarbose merupakan salah satu agen antidiabetik oral bagi pasien diabetes melitus tipe 2^[5].

Enzim α -glukosidase bekerja memotong ikatan glikosidik pada oligosakarida. Aktivitas glukosidase ini merupakan hal penting pada proses biokimia seperti degradasi polisakarida menjadi unit monosakarida agar dapat diserap dan digunakan oleh mikroorganisme. Oleh karena itu, pada kondisi hiperglikemia dimana konsentrasi gula pada darah tinggi melebihi

normal seperti yang terjadi pada penderita diabetes, penghambatan kerja enzim α -glukosidase dapat membantu mengatasi kondisi hiperglikemia karena jumlah monosakarida yang dapat diserap usus menjadi berkurang. Sebagian besar inhibitor α -glukosidase bekerja dengan cara meniru posisi transisi unit piranodisik dari substrat α -glukosidase alami, sehingga diduga mekanisme penghambatannya berupa penghambatan kompetitif.

Kerja enzim α -glukosidase dapat dihambat oleh senyawa fitokimia seperti golongan flavonoid^[12], golongan alkaloid^[9], dan triterpen^[6]. Flavonoid memiliki aktivitas hipoglikemik atau penurun kadar glukosa darah dengan menghambat enzim-enzim penting yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida yang dapat diserap oleh usus, yaitu enzim alfa amilase dan enzim alfa glukosidase. Penghambatan pada kedua enzim tersebut berakibat terganggunya proses pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida sehingga tidak dapat diserap oleh usus. Dengan demikian, kadar glukosa darah tidak meningkat setelah mengkonsumsi makanan yang mengandung glukosa^[2]. Penghambatan α -glukosidase dapat dihambat oleh berbagai senyawa fenolik seperti flavonol^[7], luteolin, mirisasetin, dan kuarsetin^[10]. Dengan demikian kemampuan penghambatan α -glukosidase dari daun simpur air tidak lepas dari senyawa yang dikandungnya yaitu flavonoid.

SIMPULAN

Ekstrak air dan etanol daun simpur air mengandung flavonoid, saponin dan tanin. Daya inhibisi ekstrak air daun simpur air terhadap α -glukosidase pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% berturut-turut sebesar 1,49%, 2,76% dan 3,91%. Ekstrak etanol daun simpur air pada konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% memiliki daya inhibisi terhadap α -glukosidase berturut-turut sebesar 92,10%, 98,10% dan 118,30%. Ekstrak yang memberikan daya inhibisi optimum adalah ekstrak etanol 1,5% yang daya inhibisinya tidak berbeda nyata ($\alpha < 0,05$) dengan glukobay 1%.

SARAN

Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan pengujian ekstrak etanol daun simpur air secara *in vivo* untuk mengetahui aktivitas antihiperglikemik pada hewan coba. Selain itu, dapat dilakukan penentuan kapasitas antioksidan dari ekstrak etanol daun simpur air. Perpaduan kapasitas antioksidan dan

kemampuan penghambatan α -glukosidase dapat berpotensi sebagai agen antidiabetik yang bermanfaat dalam pencegahan dan perlindungan terhadap penyakit diabetes melitus.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Armania, N., Yazan, L.S., Musa, S.N., Foo, J.B., Chan, K.W., Noreen, H. Hisyam, A.H., Zulfahmi, S., Ismail, M. 2013. *Dillenia suffruticosa* exhibited antioxidant and cytotoxic activity through induction of apoptosis and G₂/M cell cycle arrest. *J Ethnopharmacol* 146 (2): 525-535.
- [2]. Brahmachari, G. 2011. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry*: 187-212.
- [3]. Feng, J., Yang, X.W., Wang, R.F. 2011. Bio-assay guided isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from the leaves of *Aquilaria sinensis*. *Phytochemistry* 72: 242-247.
- [4]. Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- [5]. Hollander, P., Pi-Sunyer, X., Coniff, R.F. 1997. Acarbose in the treatment of type 1 diabetes. *Diabetes care* 20: 248-253.
- [6]. Lai, Y.C., Chen, C.K., Tsai, S.F., Lee, S.S. 2012. Triterpenes as α -glucosidase inhibitors from *Fagus hayatae*. *Phytochemistry* 74: 206-211.
- [7]. Lee, S.S., Lin, H.C., Chen, C.K. 2008. Acylated flavonol monorhamnosides, α -glucosidase inhibitors, from *Machilus philippinensis*. *Phytochemistry* 69: 2347-2353.
- [8]. Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S., Yum, S. S. 2010. Antioxidant And α -Glucosidase Inhibitory Properties Of *Carpesium Abrotanoides* L. *Journal Of Medicinal Plants Research*. 4(15) : 1547-1553.
- [9]. Patel, M.B., Mishra, S.M. 2012. Magnoflorine from *Tinospora cordifolia*

- stem inhibits α -glukosidase and is antigyemic in rats. *J Funct Foods* 4: 79- 86.
- [10].Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., Matsuoka, T. 2006. Inhibition of α -glukosidase and α -amylase by flavonoids. *J. Nutr. Sci Vitaminol* 52: 149-153.
- [11].The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 2003. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26 (Suppl 1): 5-20.
- [12].Wang, H., Du, Y.J., Song, H.C. 2010. α -glukosidase and amylase inhibitory activities of guava leaves. *Food Chem* 123: 6-13.
- [13].Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections 2030. *Diabetes Care* 27 1047-1053.
- [14].Yazan, L.S., Armania N. 2014. Dillenia species: a review of the traditional uses, active constituents and pharmacological properties from pre-clinical studies. *Pharm Biol*(7): 890-897