

PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -GLUKOSIDASE DARI EKSTRAK AIR KULIT BATANG, DAUN, DAN AKAR TANAMAN RARU (*Vatica pauciflora*) SECARA IN VITRO**IN VITRO α -GLUCOSIDASE ENZYME INHIBITORY ACTIVITY FROM WATER EXTRACTS OF STEM BARK, LEAF, AND ROOT OF RARU PLANT (*Vatica pauciflora*)****Eris Septiana¹, Wiwi Winarti², Partomuan Simanjuntak^{1,2}**¹Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Bogor²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jakarta Selatan

Naskah diterima tanggal 7 Desember 2016

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a metabolic disorder that leading the blood sugar levels become higher than normal. In Indonesia, one of the plants that traditionally used to cure hyperglycemic is raru plant (*Vatica pauciflora*). The objectives of this research was to investigate α -glucosidase inhibitory activity from stem bark, root, and leaf of raru plant. Extraction of stem bark, root, and leaf was conducted with reflux at 70 °C by using water as a solvent. In vitro anti-diabetic activity was tested using the method of α -glucosidase inhibition. The results show that water extracts of raru's stem bark, root, and leaf have α -glucosidase inhibitory activity. The stem bark water extract has the highest activity than leaf and root with IC_{50} values were 13.53, 16.96, and 41.91 ppm respectively. All extracts is categorized as active in inhibiting the activity of α -glucosidase enzyme by having $IC_{50} \leq 100$ ppm. The results obtain in this research clearly indicate a promising potential as anti-diabetic properties of raru plant.*

Keywords: *α -glucosidase inhibition, *Vatica pauciflora*, water extracts***ABSTRAK**

Diabetes melitus merupakan salah satu kerusakan metabolisme tubuh yang menyebabkan naiknya kadar gula dalam darah di atas ambang batas normal. Di Indonesia, salah satu tanaman yang secara tradisional digunakan untuk mengobati kadar gula darah yang tinggi ialah tanaman raru (*Vatica pauciflora*). Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari bagian akar, kulit batang, dan daun tanaman raru. Ekstraksi kulit batang, akar, dan daun dilakukan menggunakan metode refluks pada suhu 70 °C menggunakan air sebagai pelarutnya. Aktivitas antidiabetes secara in vitro dilakukan menggunakan metode penghambatan enzim α -glukosidase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak air kulit batang, akar, dan daun tanaman raru memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Ekstrak air kulit batang tanaman raru memiliki aktivitas tertinggi dibandingkan dengan daun dan akar dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 13.53, 16.96, dan 41.9 ppm. Seluruh ekstrak tergolong aktif menghambat aktivitas enzim α -glukosidase karena memiliki nilai $IC_{50} \leq 100$ ppm. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tanaman raru memiliki kemampuan yang menjanjikan untuk dikembangkan sebagai obat antidiabetes.

Kata Kunci: ekstrak air, penghambatan α -glukosidase, *Vatica pauciflora*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan sebuah kerusakan metabolisme yang mengganggu metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Kondisi ini akan meningkatkan kadar gula dalam darah menjadi di atas normal (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh menurunnya sekresi dan aktivitas insulin (Hardoko *et al.*, 2014). Penyakit ini masih merupakan masalah kesehatan serius karena menyebabkan komplikasi akut maupun kronis yang dapat meningkatkan kematian penderita (Surya *et al.*, 2014). Organisasi kesehatan dunia (WHO) memperkirakan bahwa sekitar 366 juta orang akan mengidap diabetes melitus di tahun 2030 (Wild *et al.*, 2004). Diabetes merupakan pemacu dari banyak komplikasi penyakit lainnya seperti stroke, jantung, dan ginjal (Sabitha *et al.*, 2012).

Pengukuran kadar gula darah dapat dilakukan secara *in vitro* menggunakan pengujian enzim. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase merupakan salah satu metode uji secara enzimatik. Enzim α -glukosidase adalah sebuah eksokarbohidrat yang mengkatalis lepasnya α -glukosa dari karbohidrat. Saat enzim tersebut dihambat, pencernaan karbohidrat akan tertunda dan menyebabkan menurunnya penyerapan glukosa (Narkhede, 2012). Di dalam pengujian, enzim α -glukosidase menghidrolisa nitrofenil- α -D-glukopiranosida sebagai substrat menjadi p-nitrofenil yang berwarna kuning dan glukosa (Djamil *et al.*, 2014). Di lain pihak, tanaman memiliki sumber yang kaya akan bahan yang dapat digunakan sebagai penghambat enzim α -glukosidase dan penapisan inhibitor dari sumber tanaman semakin meningkat (Kang *et al.*, 2011). Tanaman obat merupakan alternatif terapi karena relatif lebih aman dibandingkan dengan obat sintesis.

Secara tradisional, masyarakat Indonesia telah lama menggunakan tanaman raru sebagai obat untuk menurunkan kadar gula darah. Bagian yang umum digunakan ialah kulit batangnya. Ekstrak etanol kulit batang raru dilaporkan sebagai antidiabetes melalui pengujian secara *in vitro* dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase (Riris *et al.*, 2014). Bagian lain dari tanaman raru belum banyak diteliti. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari bagian kulit batang, daun, dan akar tanaman raru.

METODOLOGI

Alat

Reflux, lemari asam, neraca analitik, mikropipet 10-100 μ L dan 100-1000 μ L, *freeze dryer*, *cuvete*, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi-U3900H) dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan

Simplisia dari akar, kulit batang, dan daun tanaman raru yang didapat dari daerah Medan, Sumatera Utara, akuades, enzim α -glukosidase (Sigma), *bovine serum albumin* (Merck) substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Sigma), dapar pospat pH 7 (Sigma), *acarbose*, dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck), sodium karbonat (Merck).

Prosedur Penelitian

Simplisia tanaman raru dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Puslit Biologi LIPI untuk memastikan bahwa simplisia yang digunakan adalah benar tanaman raru.

1. Ekstraksi Simplisia Raru

Proses ekstraksi dilakukan dengan cara *reflux*. Masing-masing simplisia akar, kulit batang, dan daun raru ditimbang sebanyak 100 g, direflux dalam 500 mL akuades pada suhu 70 °C selama 3 jam dan dilakukan 3 kali ulangan. Ekstrak air masing-masing simplisia bagian tanaman raru kemudian dipekatkan menggunakan *freeze dryer* hingga diperoleh ekstrak air berupa serbuk. Selanjutnya dilakukan perhitungan untuk nilai rendemen dan susut pengeringan dari masing-masing ekstrak.

2. Uji Antidiabetes *in vitro*

Sebanyak 400 mg bovine serum albumin dilarutkan dalam 200 mL dapar pospat (pH 7) sebagai larutan dapar (0,2 % serum albumin). Sebanyak 1 mg enzim α -glukosidase dilarutkan dalam 100 mL dapar pospat (pH 7) yang mengandung 0,2 % serum albumin. Sebanyak 1 mL larutan enzim diencerkan dengan cara dilarutkan kembali dalam 10 mL dapar pospat (pH 7) yang mengandung 0,2 % serum albumin sebelum digunakan. Masing-masing ekstrak air tanaman raru dilarutkan dalam DMSO dengan seri konsentrasi 3.75, 7.5, 11.25, 15, dan 18.75 ppm. Akarbose sebagai kontrol positif juga dibuat seri konsentrasi yang sama dengan ekstrak uji. Sebanyak 25 μ L masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung mikro 1.5 mL dan ditambahkan 495 μ L dapar pospat (pH 7) yang mengandung 200 mg serum albumin serta 250 μ L substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) 200 mM. Campuran kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit, selanjutnya ditambahkan 250 μ L larutan enzim dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan 250 μ L larutan sodium karbonat. Aktivitas glukosidase diketahui dengan mengukur serapan p-nitrofenol yang dilepaskan dari substrat pNPG pada panjang gelombang 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Saijyo *et al.*, 2008) yang dapat dilihat pada persamaan (1). Nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat

menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase kemudian dihitung berdasarkan pada persamaan regresi linier.

$$\% \text{ penghambatan} = C - (s_1 - s_0) / C \times 100 \dots\dots (1)$$

C adalah serapan kontrol (enzim tanpa ekstrak uji), s_1 adalah serapan dengan penambahan ekstrak uji, s_0 adalah serapan dengan penambahan ekstrak uji tanpa enzim.

HASIL DAN PEMBAHASAN

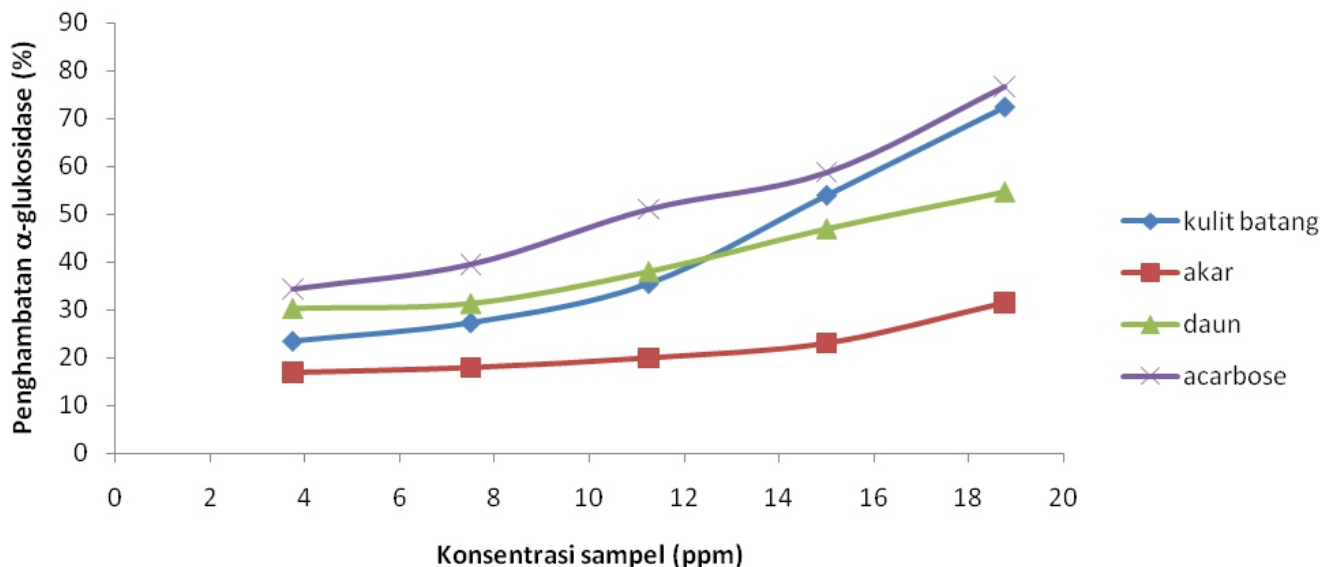
Hasil determinasi tanaman didapatkan bahwa simplisia yang digunakan pada penelitian ini merupakan pohon raru (*Vatica pauciflora*, Blume.) dari suku Dipterocarpaceae. Hasil ekstraksi tanaman raru dengan pelarut akuades diperoleh rendemen ekstrak untuk akar, kulit batang, dan daun masing-masing sebesar 9.62, 19.72, dan 24.39 %. Sedangkan susut pengeringan untuk akar, kulit batang, dan daun raru masing-masing sebesar 8.92, 8.09, dan 6.03 %.

Secara alamiah, karbohidrat yang masuk ke dalam saluran pencernaan akan dipecah menjadi gula sederhana yang dapat diserap oleh usus halus. Penggunaan enzim α -glukosidase dalam uji antidiabetes secara *in vitro* dikarenakan enzim α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam pemecahan disakarida menjadi monosakarida di dalam usus halus (Bhat *et al.*, 2011). Oleh karena itu, menghambat aktivitas enzim α -glukosidase akan menunda pemecahan karbohidrat kompleks dalam usus halus sehingga akan menurunkan kadar gula dalam darah (Malunga, *et al.*, 2016). Hasil uji *in vitro*

menunjukkan bahwa seluruh ekstrak mempunyai aktivitas untuk menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Persen penghambatan bervariasi antara 16.92 – 76.67 % dari konsentrasi terendah sampai konsentrasi tertinggi seluruh ekstrak dan kontrol.

Secara umum, ekstrak air akar raru memiliki aktivitas terendah dalam menghambat enzim α -glukosidase. Ekstrak air kulit batang menunjukkan aktivitas tertinggi diantara ketiga sampel ekstrak meskipun masih di bawah kontrol positif acarbose. Hasil yang diperoleh sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa kulit batang raru secara umum merupakan bagian yang digunakan sebagai pengobatan antidiabetes secara tradisional (Oishi *et al.*, 2007). Selain kulit batang raru, penelitian tentang aktivitas antidiabetes dari kulit batang tanaman hutan lain juga telah dilakukan. Ekstrak aseton kulit batang pasang butarua (*Quercus induta*), beuying (*Ficus fistulosa*), hamerang (*Ficus foxicaria*), dan kopo (*Eugenia cymosa*) memiliki aktivitas penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 17.2, 43.2, 131.1, dan 724.8 ppm (Sari *et al.*, 2014).

Persentase penghambatan pada seri konsentrasi menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak yang diujikan (Gambar 1). Oleh karena itu, konsentrasi ekstrak tertinggi yaitu 18.75 ppm menunjukkan penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase tertinggi pula yaitu sebesar 72.31 % pada ekstrak air kulit batang raru. Penelitian ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak air daun jambu biji menghambat enzim α -



Gambar 1. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak air sampel uji dan kontrol positif (acarbose) dengan persen penghambatan enzim α -glukosidase

Tabel 1. Aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dengan metode penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase

No.	Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Penggolongan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase*
1	Ekstrak air kulit batang raru	13.53	Aktif
2	Ekstrak air akar raru	41.91	Aktif
3	Ekstrak air daun raru	16.96	Aktif
4	Acarbose	10.51	Aktif

glukosidase secara *in vitro* berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak uji (Manikandan *et al.*, 2013). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak etanol, air, etil asetat, dan n-heksana kulit batang raru (*V. pauciflora*) memiliki nilai penghambatan masing-masing sebesar 91.08, 78.34, 60.83, dan 28.98 % pada konsentrasi ekstrak 50 ppm (Riris, 2014).

Nilai IC₅₀ dari seluruh ekstrak dan kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa semakin rendah nilainya maka potensinya semakin tinggi. Suatu ekstrak dikatakan memiliki kemampuan aktif sebagai penghambat enzim α -glukosidase jika memiliki nilai IC₅₀ ≤ 100 ppm (Lee & Lee, 2001). Penelitian ini memberikan hasil penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dari ekstrak air kulit batang raru yang lebih tinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 13.53 ppm dibandingkan dengan penelitian Riris (2014) yang melaporkan bahwa ekstrak etanol kulit batang tanaman raru memiliki IC₅₀ sebesar 93.46 ppm. Penelitian terbaru melaporkan bahwa didapatkan senyawa *methoxy bergenin* yang diisolasi dari ekstrak etanol kulit batang raru (*V. pauciflora*) yang memiliki aktivitas antidiabetes setelah diujikan pada hewan coba tikus yang diinduksi oleh *alloxan* (Riris & Napitupulu, 2017). Kemampuan ekstrak air kulit batang raru dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase yang lebih tinggi pada penelitian ini dibandingkan dengan ekstrak etanol penelitian lainnya menarik untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Oleh karena itu, ekstrak air seluruh bagian tumbuhan raru terutama bagian kulit batang, sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antidiabetes.

KESIMPULAN

Ekstrak air kulit batang, daun, dan akar tanaman raru tergolong aktif dalam menghambat enzim α -gukosidase dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 13.53, 16.96, dan 41.91 ppm, sehingga sangat berpotensi dikembangkan sebagai obat antidiabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan pada Greesty Finotory Swandiny atas asistensinya pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Bhat, M., Zinjarde, S.S., Bhargava, S.Y., Kumar, A.R., Joshi, B.N., 2011. Antidiabetic Indian Plants: A Good Source of Potent Amylase Inhibitors. *Evid. Based. Complement. Alternat. Med* 2011, 810207. Doi:10.1093/ecam/nen040

Djamil, R., Winarti, W., Simanjuntak, P., Syamsudin., 2014. Standardization and α -Glycosidase Inhibition of Extracts of *Vatica pauciflora* Blume Stem Barks and *Smallanthus sonchifolius* Leaves. *J. Pharm. Phytochem* 3, 42-46

Hardoko, Siratantri, T., Eveline, Yogabuana, M., Olivia, S., 2014. An In Vitro Study of Antidiabetic Activity of *Sargassum Duplicatum* and *Turbinaria Decurens* Seaweed. *Int. J. Phram. Sci. Invent* 3, 13-18

Kang, W.Y., Song, Y.L., Zhang, L., 2011. α -Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Properties and Antidiabetic Activity of *Hypericum ascyron* L. *Med. Chem. Res* 20, 809-816

Lee, D.S., Lee, S.H., 2001. Genistein, a Soy Isoflavone, Is a Potent α -Glucosidase Inhibitor. *FEBS Lett* 501, 84-86

Malunga, L.N., Eck, P., Beta, T. 2016. Inhibition of Intestinal α -Glucosidase and Glucose Absorption by Feruloylated Arabinoxylan Mono- and Oligosaccharides from Corn Bran and Wheat Aleurone. *J. Nutr. Metab* 21, 1-9

Manikandan, R., Anand, A.V., Muthumani, G.D., 2013. Phytochemical and In Vitro Anti-Diabetic Activity of Methanolic Extract of *Psidium Guajava* Leaves. *Int. J. Curr. Microbiol. App Sci* 2, 15-19

Narkhede, M.B. 2012. Evaluation of Alpha Amylase Inhibitory Potential of Four

- Traditional Culinary Leaves. *Asian J. Pharm. Clin. Res* 5, 75-76
- Oishi, Y., Sakamoto, T., Udagawa, H., Taniguchi, H., Kobayashi-Hattori, K., Ozawa, Y., Takita, T., 2007. Inhibition of Increases in Blood Glucose and Serum Neutral Fat by *Momordica charantia* Saponin Fraction. *Biosci. Biotechnol. Biochem* 71, 735-740
- Riris, I.D. 2014. Identification of Chemistry Bioactivity Structure of α -Glucosidase Inhibitor from Ethanol Extract of the Stem Bark Raru (*Vatica pauciflora* Blume). *IOSR J. App. Chem* 7, 35-40
- Riris, I.D., Barus, T., Simanjuntak, P., Wirjosentono, B., 2014. Isolation and Structure Elucidation of Bioactive Compounds Chemical as Inhibitors of the Enzyme α -Glucosidase Raru Bark Ethanol Extract (*Vatica pauciflora* Blume). *Int. J. Chem* 6, 15-21
- Riris, I.D., Napitupulu, M.A. 2017. Antidiabetic Activity of Methoxy Bergenin Isolated from Ethanol Extract of Raru Stem Bark (*Vatica pauciflora* Blume) in Alloxan Induced Diabetic Wistar Rats. *Asian J. Chem* 29, 870-874
- Sabitha, V., Panneerselvam, K., Ramachandran, S., 2012. In Vitro α -Glucosidase and α -Amylase Enzyme Inhibitory Effects in Aqueous Extracts of *Abelmoscus esculentus* (L.) Moench. *Asian. Pac. J. Trop. Biomed* DOI. 10.1016/S2221-1691(12)60150-6
- Saijyo, J., Suzuki, Y., Okuno, Y., Yamaki, H., 2008. α -Glucosidase Inhibitor from *Bergenia ligulata*. *J. Oleo. Sci* 57, 431-435
- Sari, R.K., Syafii, W., Azizah, N., Juliasman, Fadli, M., Minarti. 2014. Potensi Ekstrak Kayu Hutan dari Hutan Gunung Salak sebagai Agen Antidiabetes dan Antikanker. *J. Ilmu Teknol. Kayu Tropis* 12, 108-117
- Surya, S., Salam, A.D., Tommy, D.V., Carla, B., Kumar, R.A., Sunil, C. 2014. Diabetes Mellitus and Medicinal Plants-Review. *Asian Pac. J. Trop. Dis* 4, 337-347
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H., 2004. Global Prevalence of Diabetes Estimates for the Year 2000 and Projections for 2030. *Diabetes Care* 27, 1047-1053