

AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN DAN KULIT BATANG BINTANGUR (*Calophyllum rigidum* Miq.) SECARA IN VITRO

Oleh :

Fitria

0104108905

Charles Yulius Zalukhu

180103

universitas audi indonesia

jalan.bunga N'cole raya kelurahan No.83 kemenangan Tani,

kec. Medan tuntungan, kota medan, sumatera utara

fittia04@gmail.com

Abstrak

Penyakit diabetes mellitus masih merupakan masalah kesehatan serius baik di dunia maupun di Indonesia. Pemanfaatan tanaman sebagai sumber bahan obat antidiabetes masih diperlukan. Tanaman bintangur, *Calophyllum rigidum*, mengandung senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat antidiabetes namun belum dimanfaatkan secara optimal. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antidiabetes secara in vitro dari ekstrak etanol kulit batang dan daun *Calophyllum rigidum*. Metode antidiabetes yang digunakan adalah penghambatan enzim α -glukosidase. Penapisan fitokimia berdasarkan pada reaksi perubahan warna. Hasil yang didapatkan yaitu ekstrak etanol kulit batang dan daun memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dengan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 63,75 dan 65,86 μ g/mL. Kedua ekstrak mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, saponin, dan tannin, sedangkan kuinon hanya ditemukan pada ekstrak kulit batang. Kesimpulannya ialah bahwa ekstrak etanol kulit batang dan daun *Calophyllum rigidum* memiliki aktivitas antidiabetes yang aktif melalui penghambatan enzim α -glukosidase.

In Vitro Antidiabetic Activity Of Ethanolic Extracts Of Bintangur (*Calophyllum Rigidum* Miq.) Leaf And Stem Bark

Abstract

Diabetes mellitus is still a serious health problem both in the world and in Indonesia. The use of plants as a source of antidiabetic medicine is still needed. Bintangur plant, *Calophyllum rigidum*, contains active compounds that have the potential to act as anti-diabetic drugs but have not been used optimally. The purpose of this study was to determine the in vitro antidiabetic activity of the ethanol extract of *Calophyllum rigidum* stem bark and leaves. The antidiabetic method used was α -glucosidase enzyme inhibition. Phytochemical screening is based on color change reactions. The results obtained were that the ethanol extract of stem bark and leaf had α -glucosidase enzyme inhibitory activity with IC₅₀ values of 63.75 and 65.86 μ g/mL, respectively. Both extracts contain alkaloids, flavonoids, steroids/triterpenoids, saponins, and tannins, while quinones are only found in the stem bark extracts. The conclusion is that the ethanol extract of the stem bark and leaves of *Calophyllum rigidum* has active antidiabetic activity through inhibition of the α -glucosidase enzyme.

1. PENDAHULUAN

Penyakit diabetes mellitus (DM) masih merupakan masalah kesehatan serius baik di dunia maupun di Indonesia karena menyebabkan komplikasi akut maupun kronis yang dapat meningkatkan kematian penderita (Surya et al., 2014). Federasi Diabetes Internasional (IDF) memperkirakan bahwa sekitar 382 juta orang mengidap DM di tahun 2013 dan diperkirakan akan meningkat menjadi 592 juta orang pada tahun 2035. Penderita DM di Indonesia diperkirakan mencapai 12 juta jiwa pada tahun 2013 (Kemenkes RI, 2014). Diabetes mellitus merupakan 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). Pengujian aktivitas antidiabetes dapat dilakukan secara in vitro menggunakan pengujian enzim. α -glukosidase merupakan enzim eksokarbohidrat yang mengkatalis lepasnya α -glukosa dari karbohidrat. Saat enzim tersebut dihambat, pencernaan karbohidrat akan tertunda dan menurunkan penyerapan glukosa (Narkhede, 2012). Tanaman merupakan sumber obat alami yang menjanjikan karena memiliki kandungan bahan aktif yang dapat digunakan sebagai penghambat enzim α -glukosidase (Kang et al., 2011). Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antidiabetes adalah bintangur. Tanaman ini merupakan tanaman pohon yang sangat penting nilai manfaatnya (Taher et al., 2007). Penelitian tentang manfaat tanaman *Calophyllum* sebagai antidiabetes telah dilakukan meliputi bagian kulit batang dan daun. Beberapa diantaranya ialah *Calophyllum tomentosum*, *C. brasiliense*, dan *C. incrassatum* (Elya et al., 2012; Carvalho et al., 2016; Aminudin et al., 2016). Penggunaan bintangur (*C. rigidum*) sebagai obat tradisional telah dilakukan oleh beberapa masyarakat di Indonesia. Masyarakat di Kalimantan Barat memanfaatkan getah pohon bintangur untuk mengobati koreng (Sangat dkk., 2000) tetapi masyarakat di Kecamatan Tebing, Kabupaten Karimun, Provinsi Kepulauan Riau belum memanfaatkannya sebagai tanaman obat. Pemanfaatan bintangur untuk antidiabetes belum dilakukan penelitian. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes secara in vitro melalui penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dari ekstrak etanol daun dan kulit batang bintangur.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan pada bulan September sampai dengan Mei 2020 di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong, Jawa Barat. Sampel tanaman Bintangur berupa bagian daun dan kulit batang (Gambar 1) diperoleh dari Kecamatan Tebing, Kabupaten Karimun, Propinsi Kepulauan Riau pada bulan Mei 2020. Simplisia tanaman Bintangur berupa ranting dan daun terlebih dahulu dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Simplisia kering kulit batang dan daun disimpan di Laboratorium Kimia Bahan Alam, Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI. Proses ekstraksi dilakukan dengan maserasi. Sebanyak 50 g simplisia daun dan 300 g simplisia kulit batang bintangur masing-masing direndam dengan 1 L etanol teknis 96% dalam toples kaca selama 24 jam. Perendaman masing-masing bagian dilakukan sebanyak tiga kali. Filtrat dari masing-masing bagian diuapkan dengan rotary vacuum evaporator hingga didapatkan ekstrak kental etanol daun dan kulit batang bintangur.

Uji Aktivitas Antidiabetes Sebanyak 1 mg enzim α -glukosidase asal *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma) dilarutkan dalam 1 mL dapar pospat 0,01 M (pH 7) (Sigma) sebagai larutan stok enzim (100 unit). Sebanyak 0,012 mL larutan stok enzim diencerkan dengan cara dilarutkan kembali sampai 30 mL dalam dapar pospat 0,01 M (pH 7) sebelum digunakan. Konsentrasi larutan uji ekstrak etanol kulit batang dan daun *C. rigidum* dalam dimetilsulfoksida (DMSO) (Merck) sebesar 15,625; 31,25; 62,5; 125; dan 250 μ g/mL. Tablet akarbosa generik dalam HCl 2N sebagai kontrol positif dibuat seri konsentrasi sebesar 7; 9; 11; 13; dan 15 μ g/mL. Sebanyak 475 μ L dapar pospat 0,1 M (pH 7) (Sigma), 250 μ L substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) 0,2 M (Sigma) serta 25 μ L masing-masing ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi. 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 30 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan 1000 μ L larutan sodium karbonat 0,2 M (Merck) (Tabel 1). Aktivitas penghambatan α -glukosidase diketahui dengan mengukur serapan pada panjang gelombang 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Saijiyo

et al., 2008) dengan persamaan (1). Nilai IC50 yang merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase kemudian dihitung berdasarkan pada persamaan regresi linier.

% penghambatan = $[(C-S)/C] \times 100$(1) Keterangan: C = absorbansi kontrol (kontrol - blanko); S =absorbansi sampel (S1 – S0) Tabel 1. Sistem reaksi enzim untuk satu sampel dengan total volume 2 mL Blanko (μ L) Kontrol (μ L) S0* (μ L) S1* (μ L) Sampel - - 25 25 DMSO 25 25 - - Dapar pospat 475 475 475 475 Substrat 250 250 250 250 Inkubasi pada 37 °C selama 5 menit Dapar pospat 250 - 250 - Enzim - 250 - 250 Inkubasi pada 37 °C selama 30 menit Na2CO3 1000 1000 1000 1000 Keterangan: S0= campuran larutan uji tanpa enzim, S1= campuran larutan uji dengan enzim.

3. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

% penghambatan = $[(C-S)/C] \times 100$(1) Keterangan: C = absorbansi kontrol (kontrol - blanko); S =absorbansi sampel (S1 – S0) Tabel 1. Sistem reaksi enzim untuk satu sampel dengan total volume 2 mL Blanko (μ L) Kontrol (μ L) S0* (μ L) S1* (μ L) Sampel - - 25 25 DMSO 25 25 - - Dapar pospat 475 475 475 475 Substrat 250 250 250 250 Inkubasi pada 37 °C selama 5 menit Dapar pospat 250 - 250 - Enzim - 250 - 250 Inkubasi pada 37 °C selama 30 menit Na2CO3 1000 1000 1000 1000 Keterangan: S0= campuran larutan uji tanpa enzim, S1= campuran larutan uji dengan enzim.

Hasil uji in vitro menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang *C. rigidum* mempunyai kemampuan dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sedikit lebih baik dibandingkan dengan bagian daun namun masih di bawah akarbosa sebagai kontrol positif . Sebelum diserap oleh usus halus, karbohidrat yang masuk ke dalam sistem pencernaan akan diubah menjadi gula sederhana. Enzim α -glukosidase merupakan enzim di dalam usus halus yang berperan dalam pemecahan disakarida menjadi monosakarida (Bhat et al., 2011). Penghambatan terhadap 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 ekstrak etanol kulit batang *C. rigidum* mempunyai kemampuan dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sedikit lebih baik dibandingkan dengan bagian daun namun masih di bawah akarbosa sebagai kontrol positif (Tabel 2). Sebelum diserap oleh usus halus, karbohidrat yang masuk ke dalam sistem pencernaan akan diubah menjadi gula sederhana. Enzim α -glukosidase merupakan enzim di dalam usus halus yang berperan dalam pemecahan disakarida menjadi monosakarida (Bhat et al., 2011). Penghambatan terhadap enzim α -glukosidase akan menunda pemecahan karbohidrat kompleks dalam usus halus sehingga akan menurunkan kadar gula dalam darah (Malunga et al., 2016). Tabel 2. Aktivitas antidiabetes Bintangur No. Sampel IC50 \pm SD (μ g/mL) Aktivitas* 1. Ekstrak etanol daun 65,86 \pm 0,34 Aktif 2. Ekstrak etanol kulit batang 63,75 \pm 3,42 Aktif 3. Acarbose 14,64 \pm 0,30 Aktif Keterangan: * (Lee and Lee, 2001) 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 \leq 100 μ g/mL (Lee and Lee, 2001). Ekstrak etanol kulit batang dan daun *C.*

Penapisan Fitokimia Kemampuan suatu tanaman dalam memberikan hasil positif pada beberapa uji aktivitas biologisnya berhubungan dengan senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Begitu pula dengan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak etanol bagian kulit batang dan daun *C. rigidum*. Ekstrak etanol kulit batang dan daun *C. rigidum* mengandung beberapa golongan senyawa kimia.

Penelitian sebelumnya tentang mekanisme saponin dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase melaporkan bahwa saponin dapat menghambat aktivitas disakarida dan kadar glukosa dalam darah setelah pemecahan sukrosa (Oishi et al., 2007). Tanin juga dilaporkan sebagai antidiabetes dengan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase (Thinkratok et al., 2014) dan α -amilase melalui tipe campuran penghambatan enzim non kompetitif (Tong et al., 2014). Steroid dari *Anthocleista schweinfurthii* juga memiliki aktivitas menghambat kinerja enzim α -glukosidase melalui jalur interaksi hidrofobik dengan situs pelekatan enzim target (Mbougouere et al., 2007).

Triterpenoid dari *Cichorium intybus* dilaporkan mempunyai aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang baik (Rahman, et al., 2008).

4. KESIMPULAN

Ekstrak etanol kulit batang dan daun bintangur (*Calophyllum rigidum*) mempunyai aktivitas antidiabetes berdasarkan pengujian secara in vitro.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminudin, N. I., Ahmad, F., Taher, M., & Zulkifli, R. M. (2016). Incrassamarin A-D: four new 4-substituted coumarins from *Calophyllum incrassatum* and their biological activities. *Phytochemistry Letters*, 16, 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2016.05.008>
- 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. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011, 810207, 1-6. <https://dx.doi.org/10.1093/ecam/nen040>
- Carvalho, H. O., Souza, B. S. F., Santos, I. V. F., Resque, R. L., Keita, H., Fernandes, C. P., & Carvalho, J. C. T. (2016). Hypoglycemic effect of a formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(5), 634-639. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.04.004>
- Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliasuti, W., Bangun, A., & Septiana, E. K. (2012). Screening of α -glucosidase inhibitory activity from some plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012(1), 281078, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2012/281078>
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55: 225-276.
- Gao, H., Huang, Y. N., Gao, B., Li, P., Inagaki, C., & Kawabata, J. (2008). An Inhibitory effect on α -glucosidase by *Adhatoda vasica* Nees. *Food Chemistry*, 108(3), 965-972. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.002>
- Hardoko, Siratantri, T., Eveline, Yogabuana, M., & Olivia, S. (2014). An in vitro study of antidiabetic activity of *Sargassum Duplicatum* and *Turbinaria Decurens* seaweed. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 3(2), 13-18.
- Kang, W. Y., Song, Y. L., & Zhang, L. (2011). α -glucosidase inhibitory and antioxidant properties and antidiabetic activity of *Hypericum ascyron* L. *Medicinal Chemistry Research*, 20(7), 809-816. <https://doi.org/10.1007/s00044-010-9391-5>