

AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus Indica Linn*) TERHADAP ENZIM ALFA GLUKOSIDASE

Hasmalina Nasution, Musyirna Rahmah Nst, Reza Abdifi

Universitas Muhamadiyah, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau, Pekanbaru, Riau, Indonesia

ABSTRAK

Secara empiris tanaman obat tradisional terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah. Salah satunya daun asam jawa (*Tamarindus Indica Linn*). Telah dilakukan pengujian penentuan aktivitas antidiabetes daun asam jawa terhadap enzim α -glukosidase. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun asam jawa mengandung senyawa metabolit sekunder flavonoid, fenolik dan saponin. Pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun asam jawa terhadap enzim alfa glukosidase dilakukan dengan menggunakan metoda spektrofotometri. Pada konsentrasi 1000 ppm ekstrak etanol memiliki efek antidiabetes melalui penghambatan enzim α -glukosidase sebesar 20,8%. Efek antidiabetes daun asam jawa lebih kecil dibanding glukobay.

Kata kunci: antidiabetes, asam jawa, α -glukosidase

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah salah satu penyakit atau kelainan metabolisme yang paling sering dijumpai dalam masyarakat. Diabetes melitus ini merupakan penyakit degeneratif yaitu penyakit akibat fungsi atau struktur dari jaringan atau organ tubuh yang secara progresif menurun karena usia atau pengaruh gaya hidup. Penderita diabetes pada umumnya menjalani hiperglikemia.

Aktivitas antidiabetes dapat terjadi berdasarkan beberapa mekanisme yaitu dengan menstimulasi sel β -Langerhans untuk menghasilkan insulin dan penghambatan aktivitas enzim (Matsumoto, et al, 2002). α -glukosidase bertanggungjawab dalam memecah karbohidrat menjadi glukosa pada usus halus manusia. Dengan penghambatan aktivitas enzim tersebut, dapat menunda pemecahan karbohidrat di usus dan menurunkan absorpsi gula darah. Oleh karena obat antidiabetes oral kebanyakan memberikan efek samping yang tidak diinginkan seperti kembung, diare, dan kejang perut, maka

para ahli mengembangkan sistem pengobatan tradisional untuk diabetes melitus yang relatif aman (Lee, 2007: Modak, et al, 2007).

Makin populernya perilaku back to nature, pengobatan alternatif merupakan salah satu sumber pelayanan kesehatan yang mudah diperoleh dan terjangkau oleh masyarakat luas dan memiliki efek samping yang relatif kecil. Salah satu cara untuk mengatasi diabetes adalah dengan memanfaatkan potensi tanaman obat.

Salah satunya tanaman obat tradisional adalah daun asam jawa (*Tamarindus Indica Linn*). Secara empiris, menurut Soedibjo (1998), tumbuhan ini dimanfaatkan sebagai penurun gula darah dengan cara meminum air rebusan daun asam jawa. Secara invivo, ekstrak metanol biji asam jawa berkhasiat menurunkan gula darah tikus yang diinduksi streptozotisin (Diabetes melitus tipe 1) (Rachmander, et all, 2010). Akan tetapi belum ada penelitian yang melaporkan efek antidiabetes daun asam jawa melalui mekanisme penghambatan enzim alfa

glukosidase. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan data ilmiah aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun asam jawa terhadap enzim α -glukosidase secara invitro.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan: alat destilasi, rotary evaporator, pH meter, microplate reader 96 wells, inkubator, timbangan analitik (Acculab), sentrifuse, vortex mixer (VM-2000), pipet mikro 10-100 μ l dan 100-1000 μ l (Eppendorf), eppendorf tube dan peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan yang digunakan adalah aquadest, etanol, etil asetat, n-heksan, larutan buffer fosfat pH 7 (Sigma-aldrich, USA), Bovin serum albumin (BSA) (Merck, Jerman), enzim α -glukosidase (Sigma-aldrich, USA), substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Sigma-aldrich, USA), acarbose (Glucobay®), dimetilsulfoksida (Sigma-aldrich, USA), larutan Na₂CO₃ (Sigma-aldrich, USA).

Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun asam jawa yang diambil di daerah Pekanbaru.

Pembuatan Ekstrak, Fraksinasi sampel dan Uji Fitokimia

Daun asam jawa segar dikumpulkan dan dicuci bersih, kemudian dikering anginkan, dirajang dan ditimbang. Lalu dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol hingga terendam dengan sempurna. Wadah ditutup rapat dan campuran disimpan di tempat yang terlindung dari cahaya selama 3-5 hari sambil diaduk berulang. Selanjutnya filtrat diambil melalui penyaringan dan ditambah kembali dengan pengestrak ke dalam wadah sampel, maserasi dilakukan sebanyak tiga kali. Maserat yang didapat kemudian

dikentalkan dengan rotary evaporator sampai didapat ekstrak kental. Kemudian ekstrak kental etanol tersebut di fraksinasi menggunakan pelarut n-heksan dan residunya difraksi dengan etil asetat. Hasil dari fraksinasi dipekatkan dengan rotary evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan dan etil asetat. Hasil dari masing-masing ekstrak ditimbang dan dilakukan uji fitokimia diantaranya uji senyawa saponin, fenolik, flavonoid, terpenoid, steroid dan alkaloid.

Uji inhibisi enzim α -glukosidase secara in vitro (Sancheti et al, 2009)

Pada microplat 96 well, 10 μ L ekstrak 1000 ppm ditambah dengan 50 μ l buffer fosfat (pH 7), 25 μ l 20 mM PNPG, 25 μ l α -glukosidase (0,2 U/ml) lalu inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah 30 menit reaksi dihentikan dengan penambahan 100 μ l larutan 0,1 M Na₂CO₃, lalu absorbansi dari p-nitrofenol diukur pada panjang gelombang 410 nm dengan spektrofotometer. Dengan prosedur yang sama dilakukan untuk 10 ppm glukobay sebagai kontrol.

Tabel 1.

Kondisi reaksi uji inhibisi α -glukosidase

Reagen	Volume (μ l)					
	Bo	B1	So	S1	Ao	A1
Sampel	-	-	10	10	10	10
DMSO	10	10	-	-	-	-
Bufer fosfat	50	50	50	50	50	50
PNPG	25	25	25	25	25	25
Enzim	-	25	-	25	-	25
Inkubasi	37°C, 30 menit					
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100	100	100

Keterangan: Bo= kontrol blanko, B1= blanko, So= kontrol sampel, S1= sampel, Ao= kontrol glukobay, A1= glukobay
Persen inhibisi(% I) dihitung dengan rumus:

$$\%I = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi sampel yang dilakukan di laboratorium biologi Universitas Riau menunjukkan bahwa sampel merupakan tumbuhan asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) dengan famili Fabaceae (Gambar 1).



Gambar 1. Tumbuhan Asam Jawa

Sampel kemudian diekstraksi dan difraksinasi dan diperoleh data persen rendemen. Rendemen merupakan presentasi untuk bagian yang dapat diekstrak dari bahan mentah. Besar rendemen hasil ekstraksi 250 g daun asam jawa dihitung dalam persen rendemen yang dapat dilihat pada tabel 1. Hasil menunjukkan bahwa sebagai berikut fraksi etil asetat memiliki % rendemen tertinggi yaitu 3,733%. Perbedaan rendemen yang diperoleh dapat disebabkan karena perbedaan kandungan metabolit sekunder pada daun asam jawa dan jenis pelarut yang berbeda juga dapat mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan.

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun asam jawa

Jenis sampel	Rendemen %
Ekstrak <i>n</i> -heksan	1,446
Ekstrak etil asetat	3,733
Esktraketanol	1,781

Daun asam jawa yang telah diekstraksi dan difraksinasi kemudian diperiksa

kandungan metabolit sekundernya. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Keberadaan senyawa flavonoid, fenolik dan terpenoid pada daun keji beling diduga berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Berdasarkan phrmacognosy review yang ditulis Kumar et al (2011), flavonoid dan fenolik berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Tabel 2.

Hasil pemeriksaan kandungan metabolit sekunder Ekstrak etanol daun asam jawa

Kandungan Kimia	Pereaksi	Ekstrak Etanol
Alkaloid	Mayer	tidak terbentuk endapan putih (-)
Flavonoid	Logam Mg+ HClp	terbentuk larutan merah (+)
Terpenoid	LB	Tidak terbentuk larutan merah(-)
Steroid	LB	Tidak terbentuk larutan. Biru (-)
Fenolik	FeCl ₃	Terbentuk larutan biru (+)
Saponin	Air/busa	Terbentuk busa (+)

Ket: LB (Lieberman-Bouchard)

Untuk mengetahui aktivitas penghambatan senyawa fenolik, flavonoid dan saponin pada ekstrak etanol terhadap α -glukosidase pada daun asam jawa, maka dilakukan ekstraksi bertingkat untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Hasil uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol terhadap enzim α -glukosidase pada konsentrasi 250-1000 ppm menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi semakin tinggi pula % inhibisi. Berdasarkan data tabel 3 diketahui bahwa aktivitas penghambatan (% Inhibisi) tertinggi pada konsentrasi 1000 ppm kategori lemah yaitu sebesar 20%. Aktivitas ekstrak etanol pada konsentrasi tertinggi 1000 ppm belum dapat menghambat 50 %

aktivitas enzim sehingga tidak dapat diketahui nilai Inhibition concentration 50% atau IC50. Suatu ekstrak dikatakan berpotensi memiliki aktivitas biologis pada konsentrasi ≤ 1000 ppm.

Tabel 3.

Hasil inhibisi ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat terhadap enzim α -glukosidase

Konsentrasi (ppm)	Daya Inhibisi (%) Ekstrak Etanol
1000	20,8
500	5,06
250	2,67

Berdasarkan data tabel 4 menunjukkan bahwa aktivitas glukobay lebih besar dibandingkan aktivitas ekstrak etanol. Pada konsentrasi 10 ppm ppm, glukobay memiliki daya inhibisi sebesar 92,927%. Aktivitas inhibisi berkurang dengan semakin kecilnya konsentrasi. Glukobay adalah obat inhibitor α -glukosidase dan digunakan dalam pengobatan penyakit diabetes. Glukobay memiliki senyawa aktif akarbose. Satu tablet glukobay mengandung senyawa akarbose 100 mg. Efek inhibisi glukobay lebih besar dibanding ekstrak etanol daun asam jawa.

Tabel 4. Hasil inhibisi Glukobay terhadap α -glukosidase

Konsentrasi ppm	% inhibisi
10	92,927
5	78,894
1	60,384
0,1	41,384

Prinsip analisis pengujian ini adalah suatu zat yang bertindak sebagai inhibitor akan berikatan dengan enzim α -glukosidase sehingga aktivitas enzim dalam menghidrolisis substrat pNPG (p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida) menjadi p-nitrofenol yang berwarna kuning akan terhambat. Absorbansi yang diukur berdasarkan jumlah p-nitrofenol yang terbentuk. Pengukuran

dilakukan dengan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Semakin sedikit p-nitrofenol yang terbentuk maka semakin kecil nilai absorbansi dan semakin tinggi aktivitas penghambatannya.

4. KESIMPULAN

1. Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol adalah senyawa flavonoid, fenolik dan saponin
2. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun asam jawa terhadap penghambatan enzim α -glukosidase pada konsentrasi 1000 ppm adalah 20,8%

5. DAFTAR PUSTAKA

- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., and Prakash, O., 2010, α -Glucosidase Inhibitor from plants: A natural approach to treat diabetes, pharmacognosy review, vol 5
- Lee, 2007, Inhibitory activity of Euonymus alatus against α -glucosidase in vitro and invivo, J.Nutr Re Pract, 1-1. 84-188
- Matsumoto, K, et al, 2002, A novel method for the assay of α -glukosidase inhibitory activity using a multi-channel oxygen sensor, J anal Sci,18:1351-1319
- Modak, M, Dixn, P, Londir, J, Ghaskadai, S dan Devasagayam,TPA, 2007, Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes, Journal Clinical Biochemistry Nutrition,40:163-173
- Ramchander. T, Rajkumar. D, Ravanfasad. M, Venkateswarlu Goli, Dhanalakshmi.CH, Arjun, 2012, Antidibetic activity of Aqueous Methanolic Extracts o leaf of Tamarindus Indica, International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 4 (1): 5-7
- Soedibyo. M, 1998, Alam Sumber Kesehatan, Manfaat dan Kegunaan, Jakarta: Balai Pustaka

Sancheti, Sh., Sancheti, Sa., Yum Seo, S.,
2009., Chaenomeles Sinensis: A Potent
 α and β -Glucosidase Inhibitor.,

American Journal of Pharmacology and
Toxicology 4(1):8-11., ISSN1557-4962

