

UJI AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM ALFA- GLUKOSIDASE PADA BEBERAPA TANAMAN SUKU EUPHORBIACEAE

Berna Elya, Katrin, Anastasia Bangun
Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia
Kampus Baru UI, Depok, 16424

ABSTRACT

*Diabetes mellitus (types 1 and 2) is recognized as a serious global health problem that characterized by hyperglycemia. Type 2 diabetes is more common in diabetic populations. In type 2 diabetes mellitus, inhibition of α -glucosidase is a useful treatment to delay the absorption of glucose after meals. Avoiding the adverse effects of current agents, it is still necessary to search alternative for better options. Plants have been a rich source of α -glucosidase inhibitors. In this research, screenings based on chemotaxonomic approach to determine the class of chemical constituents and to know α -glucosidase inhibiting activity of some plants from Euphorbiaceae. The simplisia powder was extracted using ethanol 80% by reflux. Measurement of inhibitory activity of α -glucosidase performed using a spectrophotometer UV-VIS. In vitro assays of α -glucosidase activity showed 14 extracts had IC50 values of between 2.34 μ g/mL and 64.78 μ g/mL, which were lower than that of acarbose (117.20 μ g/mL). Leaves extract from *Antidesma celebicum* had the highest α -glucosidase inhibiting activity with an IC50 of 2.34 μ g/mL. The results of phytochemical screening in 15 extracts generally contain glycosides, terpenoids/ sterols, tannins, saponins and alkaloids.*

Keywords: *Antidesma, Diabetes Mellitus, Euphorbiaceae, α -glucosidase inhibitors*

ABSTRAK

Diabetes melitus (tipe 1 dan 2) merupakan penyakit hiperglikemia yang jumlah penderitanya di dunia terus meningkat setiap tahun. Diabetes tipe 2 lebih umum terjadi pada populasi penderita diabetes. Pada diabetes melitus tipe 2, penghambatan enzim α -glukosidase merupakan terapi yang bermanfaat untuk menunda absorpsi glukosa setelah makan. Namun obat sintetik yang beredar di pasaran menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan sehingga perlu pilihan alternatif yang lebih baik. Salah satu sumber penghambat enzim α -glukosidase berasal dari tanaman. Pada penelitian ini dilakukan skrining berdasarkan pendekatan kemotaksonomi untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dan mengetahui golongan kandungan kimia pada beberapa tanaman famili Euphorbiaceae. Serbuk simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 80% dengan cara refluks. Pengukuran aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan meng-

Corresponding author: elya64@yahoo.com

gunakan spektrofotometer UV-VIS. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase menunjukkan 14 ekstrak memiliki daya hambat terhadap enzim α -glukosidase yang lebih rendah dari akarbose (IC_{50} 117,20 $\mu\text{g/mL}$) dengan nilai IC_{50} antara 2,34 $\mu\text{g/mL}$ hingga 64,78 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak daun *Antidesma celebicum* memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar 2,34 $\mu\text{g/mL}$. Hasil uji penapisan fitokimia diketahui golongan senyawa kimia pada 15 ekstrak umumnya mengandung golongan senyawa glikosida, terpenoid/sterol, tanin, saponin dan alkaloid.

Kata kunci: *Antidesma*, *Diabetes Melitus*, *Euphorbiaceae*, Penghambat α -glukosidase

PENDAHULUAN

Hutan tropis memiliki jumlah spesies tanaman yang luar biasa besar. Kebanyakan masih belum dieksplorasi dan potensial untuk sumber obat. Di hutan tropis Indonesia terdapat 30.000 spesies tumbuhan. Dari jumlah tersebut sekitar 9.600 spesies diketahui berkhasiat obat, tetapi baru 20-22% yang dibudidayakan. Sebagai negara megabiodiversitas, masih banyak potensi hutan Indonesia yang belum digali untuk dikembangkan sebagai sumber fitofarmaka atau obat modern (Wahyuningsih et al., 2008). Peluang eksplorasi tanaman obat-obatan masih sangat terbuka luas sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu, obat herbal, dan fitofarmaka. Dengan melihat kenyataan tersebut maka usaha-usaha untuk menggali informasi kandungan senyawa kimia dan bioaktivitas tumbuhan obat melalui penelitian ilmiah menjadi sangat penting.

Euphorbiaceae merupakan salah satu famili tumbuhan yang memiliki jumlah genus dan spesies yang cukup banyak tumbuh di Indonesia. Beberapa tumbuhan yang berkhasiat dari tumbuhan famili Euphorbiaceae ini telah diteliti secara ilmiah memiliki efek menurunkan glukosa darah (Ali, Houghton & Soumyanath, 2006). Beberapa tanaman dari famili Euphorbiaceae yang memiliki aktivitas an-

tidiabetes antara lain *Phyllanthus emblica* Linn (Krishnaveni et al., 2010), *Phyllanthus sellowianus* (Hnatyszyn, 2002), *Euphorbia hirta* Linn (Kumar, 2010), *Croton cajucara* dan *Ricinus communis* (Ali, Houghton & Soumyanath, 2006). Diantara 250.000 spesies tumbuhan obat di seluruh dunia diperkirakan masih banyak yang mengandung senyawa antidiabetes melitus yang belum ditemukan (Suharmiati, 2003).

Survey tentang jumlah penderita diabetes di Indonesia oleh International Diabetes Federation pada tahun 2007 menunjukkan Indonesia menduduki peringkat keempat di dunia dengan jumlah 14,1 juta jiwa. Sedangkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat diabetes melitus pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki peringkat ke-2 yaitu 14,7%. Hampir 90% penderita diabetes di dunia merupakan penderita diabetes tipe 2. Hiperglikemia postprandial berperan penting dalam perkembangan diabetes mellitus tipe 2 dan komplikasi yang ditimbulkan menyebabkan berbagai penyakit, seperti penyakit pembuluh darah (Kim, 2008).

Diabetes melitus merupakan penyakit hiperglikemia yang dapat terjadi karena

pankreas tidak dapat memproduksi cukup insulin ataupun karena insensitivitas sel terhadap insulin. Hiperglikemia atau peningkatan glukosa darah adalah efek yang paling umum dari diabetes yang tidak terkontrol dan sering kali menyebabkan kerusakan serius pada berbagai sistem tubuh, khususnya sistem saraf dan pembuluh darah.

Salah satu pendekatan terapeutik untuk menurunkan hiperglikemia postprandial adalah dengan menunda absorpsi glukosa dengan menghambat enzim hidrolisis karbohidrat, seperti α -glukosidase pada organ pencernaan. Pada diabetes melitus tipe 2, penghambatan enzim α -glukosidase merupakan terapi yang bermanfaat untuk menunda absorpsi glukosa setelah makan (Kim, 2008).

Akarbose, voglibose dan miglitol merupakan penghambat enzim α -glukosidase yang telah digunakan secara klinis. Walaupun pengobatan dengan antidiabetik oral relatif efektif dalam mengobati diabetes melitus tipe 2, obat-obat tersebut memiliki efek samping yang perlu diperhatikan, seperti gangguan gastrointestinal. Pengobatan yang dilakukan tidak murah karena penderita diabetes melitus harus mengkonsumsi obat dalam jangka waktu yang cukup lama. Padahal obat sintetik yang dikonsumsi dan beredar di pasaran cukup mahal. Dengan demikian, perlu pilihan alternatif yang memiliki aktivitas pengobatan lebih baik dan efek samping yang rendah.

Pada penelitian ini akan dilakukan penapisan senyawa kimia yang terkandung dalam beberapa tanaman famili Euphorbiaceae. Berdasarkan teori kekerabatan melalui pendekatan sistematika

tumbuhan (Chemotaxonomy) menunjukkan kandungan kimia yang terdapat pada tumbuhan dalam famili yang sama, akan mempunyai senyawa yang mirip atau saling berhubungan (De Padua, Bunyapraphatsara, & Lemmens, 1999), yang membedakan antara satu dengan yang lainnya adalah kuantitas kandungan kimianya (Wahyuono, 2004).

Pengukuran aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan menggunakan alat spektrofotometer. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase tersebut kemudian akan dibandingkan dengan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang telah dikenal yaitu akarbose. Berdasarkan hal tersebut akan dilakukan penelitian tentang uji aktivitas enzim α -glukosidase dan penapisan fitokimia agar dapat memberikan informasi dengan dasar bukti yang dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan diabetes.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan kimia yang terkandung pada ekstrak etanol 80% dari beberapa tanaman famili Euphorbiaceae serta aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada masing-masing ekstrak tersebut.

METODE

Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-265, Jepang), shakingbath incubator (Lab-Line Instruments), lemari pendingin (Panasonic), penguap vakum putar (Janke & Kunkel IKA, Jerman), oven (Hotpack vacuum oven), alat penggiling (Phillips), timbangan analitik (Acculab), pHmeter (Eutech pH-510), alat refluks, kondensor,

penangas air, vortex mixer (VM-2000), pipet volume, pipet mikro 10-100 μ l dan 100-1000 μ l (Eppendorf dan Socorex), kuvet kuarsa (Merck, Jerman), dan alat gelas.

Bahan

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini berupa daun dan ranting dari tanaman famili Euphorbiaceae seperti yang tertera dalam Tabel 1. Simplisia uji berasal dari Kebun Raya Bogor dan telah diidentifikasi oleh Pusat Konservasi Tumbuhan-Kebun Raya Bogor, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.

Enzim α -glukosidase (*Saccharomyces cerevisiae*, Sigma-Aldrich, USA), bovine serum albumin (Merck, Jerman), paranitrofenil α -D-glukopiranosida (Sigma-Aldrich, Swiss), akarbose, serta pereaksi lain.

Cara Kerja

Persiapan Bahan

Secara umum tahapan penelitian ter-

diri dari penyiapan bahan, ekstraksi, penapisan fitikomia, dan uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang terdiri dari uji pendahuluan penentuan konsentrasi enzim α -glukosidase, penentuan konsentrasi optimum substrat p-Nitrofenil- α -D-glukopiranosida, penentuan persen inhibisi, IC50 serta kinetika penghambatan enzim.

Simplisia disiapkan dengan mengumpulkan bagian tanaman berupa daun dan ranting diambil dari Kebun Raya Bogor. Daun dan ranting yang diperoleh kemudian disortasi, dicuci, dirajang, dikeringkan pada suhu 40oC, lalu digiling. Serbuk simplisia seberat 20 gr di ekstraksi menggunakan 150 ml etanol 80% dengan cara direfluks selama 1 jam, dilakukan sebanyak 3 kali. Ekstrak yang didapat kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan penangas air pada suhu 50oC hingga menjadi ekstrak kental.

Tabel 1. Daftar sampel tanaman untuk simplisia uji

No	Spesies Tanaman	Bagian tanaman yang digunakan
1.	<i>Antidesma bunius</i> (L.) Spreng	Ranting dan daun
2.	<i>Antidesma montanum</i> (Blume)	Daun
3.	<i>Antidesma celebicum</i>	Ranting dan daun
4.	<i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.	Daun
5.	<i>Blumeodendron toksbrai</i> (Blume.) Kurz.	Ranting dan daun
6.	<i>Croton argyratus</i> Blume.	Daun
7.	<i>Cephalomappa mallotica</i> J.J.Sm.	Ranting dan daun
8.	<i>Galearia filiformis</i> Blume.	Daun
9.	<i>Sumbaviopsis albicans</i> (Blume) J.J.Sm.	Ranting dan daun
10.	<i>Suregada glomerulata</i> (Blume) Baill.	Daun

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Secara umum uji aktivitas penghambatan enzim α -Glukosidase terdiri dari uji pendahuluan penentuan konsentrasi enzim α -glukosidase, penentuan konsentrasi optimum substrat p-Nitrofenil- α -D-glukopiranosida, penentuan persen inhibisi, IC50 serta kinetika penghambatan enzim.

Enzim α -glukosidase disiapkan dengan melarutkannya dalam dapar fosfat pH 6,8 yang mengandung 200 mg bovine serum albumin hingga didapatkan 0,15 U/mL. Penyiapan Substrat p-Nitrofenil α -D-glukopiranosida (PNPG) dibuat dengan melarutkan 60,25 mg p-Nitrofenil α -D-glukopiranosida dalam 10 ml dapar fosfat pH 6,8 hingga didapatkan 20 mM. Larutan substrat 20 mM dipipet 5 ml lalu diencerkan ke dalam labu ukur 10ml hingga didapatkan larutan substrat 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, 1,25 mM, dan 0,625 mM.

Penentuan konsentrasi enzim α -glukosidase dilakukan dengan mereaksikan 250 μ L substrat masing-masing 10 dan 20 mM p-Nitrofenil α -D-glukopiranosida (PNPG) dalam larutan 10 μ l DMSO dan 490 μ L dapar fosfat pH 6,8, kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37oC. Kedalam sampel ditambahkan 250 μ L enzim α -glukosidase dengan variasi konsentrasi 0,3 U/mL; 0,15 U/mL; 0,075 U/mL dan 0,0375 U/mL yang berasal dari pengenceran larutan enzim yang mengandung 1 U/mL dengan dapar fosfat pH 6,8. Selanjutnya diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37oC. Setelah masa inkubasi selesai ditambahkan 2000 μ L Natrium karbonat 200 mM. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Perhitungan Aktivitas Enzim (Sigma Aldrich, 1996)

$$\text{Volume Activity (U/ml)} = \frac{(A_s - A_0) \times V_{\text{tot}} \times df}{18,3 \times V_e \times t}$$

$$\text{Weight activity (U/mg)} = (\text{U/ml}) \times \frac{1}{C}$$

Keterangan:

18,3 = koefisien ekstingsi milimolar PNP pada kondisi uji ($\text{cm}^2/\mu\text{mol}$)

Keterangan:

18,3 = koefisien ekstingsi milimolar PNP pada kondisi uji ($\text{cm}^2/\mu\text{mol}$)

As = absorbansi sample

A₀ = absorbansi blanko (penambahan enzim setelah natrium karbonat)

df = faktor pengenceran

V_{tot} = volume larutan uji

V_e = volume larutan enzim

t = waktu inkubasi enzim (menit)

C = konsentrasi α -glukosidase dalam sampel (mg/ml)

Satu unit α -glucosidase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepas 1 μ mol D-glukosa dari p-Nitrofenol per menit pada pH 6,8 dan suhu 37°C.

Uji Penentuan Persen Penghambatan dan IC50 (Dewi et al., 2007; Sugiwati, Setiasi, & Afifah, 2009)

Ekstrak ditimbang seberat 100 mg dan ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) hingga larut kemudian dicukupkan dengan dapar fosfat pH 6,8 ke dalam labu ukur 10,0 ml hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 1%. Larutan ekstrak 1% dipipet 1,0 ml dan ditambahkan dengan 1,0 ml dimetil sulfoksida hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,5% demikian selanjutnya hingga diperoleh konsentrasi ekstrak 0,25% dan 0,125%.

Sampel 10 μ L larutan ekstrak/standard akarbose ditambah dengan 490 μ L dapar fosfat pH 6,8 dan 250 μ L p-Nitrofenil α -D-glukopiranosida (PNPG), diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kedalam sampel ditambahkan 2000 μ L natrium karbonat 200 mM, sampel diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai ditambahkan 250 μ L larutan enzim yang mengandung 0,15 U/mL. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pengujian dilakukan sebanyak 2 kali.

Daya penghambatan yang diperoleh dibandingkan dengan blanko positif, yaitu Akarbose. IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % penghambatan sebagai sumbu y. Dari persamaan: $y = a + bx$ dapat dihitung nilai

IC₅₀ dengan menggunakan rumus

$$IC_{50} = \frac{50 \cdot a}{b}$$

Penentuan kinetika penghambatan enzim dilakukan pada ekstrak tanaman yang memiliki IC₅₀ terbaik. Penentuan kinetika penghambatan enzim diukur dengan meningkatkan konsentrasi p-nitrofenil α -D-glukopiranosida sebagai substrat dengan lima konsentrasi berbeda yaitu 20 mM, 10 mM, 5 mM, 2,5 mM, dan 1,25 mM. Selain itu, digunakan ekstrak pada empat konsentrasi berbeda dan satu larutan blanko. Jenis penghambatan ditentukan dengan analisis data menggunakan metode Lineweaver-Burk plot untuk memperoleh tetapan kinetika Michaelis-Menten (Dewi et al., 2007). Tetapan kinetika Michaelis-Menten (K_m) dihitung berdasarkan persamaan regresi $y = a + bx$, dimana x adalah jumlah substrat [S] dan y adalah absorbansi sampel.

$$\begin{aligned} \frac{1}{V_o} &= \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}} \\ y = 0 &\rightarrow x = -1/K_M \\ y = a + b(-1/K_M) &\rightarrow K_M = b/a \end{aligned}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan cara refluks menggunakan pelarut etanol 80%. Penggunaan serbuk simplisia bertujuan untuk memperluas permukaan pada sampel yang akan diekstraksi sehingga memungkinkan untuk menyari komponen kimia yang ada pada sampel dalam jumlah yang lebih banyak. Metode refluks dipilih karena pertimbangan skrining dengan jumlah simpisia yang banyak dibutuhkan metode ekstraksi yang relatif cepat dan dapat menghasilkan rendemen ekstrak yang cukup. Pada

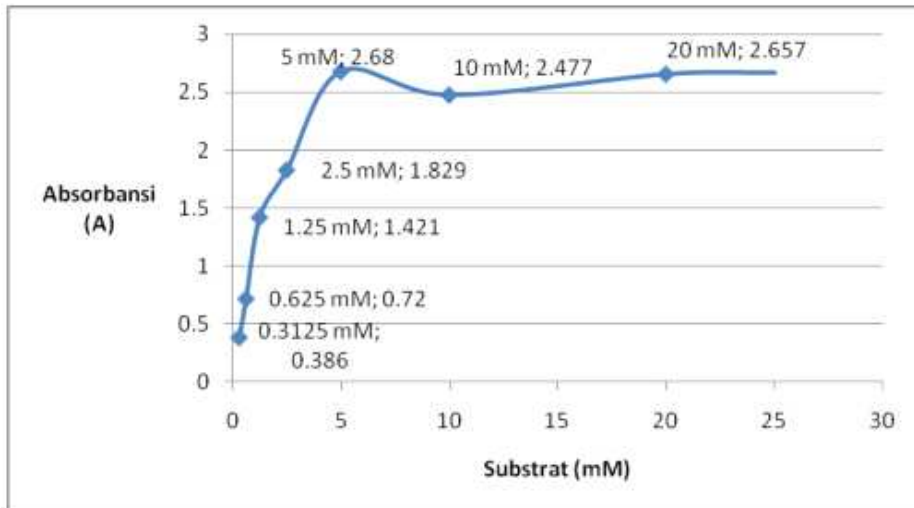
ekstraksi cara refluks, pelarut dipanaskan hingga titik didihnya. Faktor temperatur tersebut kemungkinan mempercepat pelarut berdifusi melalui dinding sel menarik senyawa kimia yang terdapat di dalam sel keluar dari sel (Samuelsson, 1999; Gaedcke, Steinhoff & Blasius, 2003). Pencampuran etanol dengan air dapat meningkatkan porositas pada dinding sel sehingga memfasilitasi difusi bahan terekstraksi keluar sel (Harborne, 1987; Samuelsson, 1999). Selain itu, kadar air yang rendah juga bertujuan untuk mempercepat proses penguapan filtrat.

Refluks dilakukan selama satu jam, kemudian ekstrak yang didapat dipisahkan dari ampas dengan cara penyaringan. Setelah disaring, ampas ditambahkan lagi pelarut, kemudian proses ekstraksi diulangi kembali hingga tiga kali agar jumlah senyawa yang tersari dapat lebih banyak. Ekstrak cair yang didapat diuapkan pelarutnya. Temperatur penguapan sebaiknya tidak lebih dari 55°C (Gaedcke, Steinhoff & Blasius, 2003). Pelarut yang masih tersisa pada ekstrak kemudian diuapkan diatas penangas air pada suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang untuk menghitung rendemennya.

Pada penelitian ini dilakukan penapisan senyawa kimia yang terkandung dalam tanaman. Penapisan fitokimia digunakan untuk mendeteksi senyawa dalam tumbuhan berdasarkan golongannya sebagai informasi awal dalam mengetahui senyawa kimia apa yang mempunyai aktivitas biologi dari suatu tanaman, sehingga dimungkinkan senyawa kimia yang berpotensi sebagai penghambat enzim α -glukosidase tersebut juga dapat tersari.

Golongan senyawa alkaloid, glikosida, diterpen, tanin, dan triterpen secara umum dapat mewakili pendekatan kandungan senyawa kimia menurut sisi sistematika tumbuhan (kemotaksonomi) pada famili Euphorbiaceae. Jika dibandingkan dengan hasil uji penapisan fitokimia, golongan senyawa yang umumnya positif adalah golongan senyawa glikosida (15 ekstrak), terpenoid/sterol (11 ekstrak), golongan senyawa tanin (9 ekstrak), saponin (9 ekstrak) dan golongan senyawa alkaloid (7 ekstrak).

Pada penetapan konsentrasi optimum substrat, p-Nitrofenil- α -D-glukopiranosida yang digunakan bervariasi yaitu 0,3125; 0,625; 1,25; 5; 10 dan 20 mM dengan konsentrasi enzim 0,15 U/mL. Hasil pengujian menunjukkan peningkatan absorbansi seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat tetapi mulai stabil saat konsentrasi substrat 5 mM. Absorbansi pada konsentrasi substrat 5 mM adalah 2,680. Kemudian mengalami penurunan absorbansi pada konsentrasi substrat 10 mM menjadi 2,477 tetapi absorbansi mengalami peningkatan kembali menjadi 2,657 pada saat konsentrasi substrat 20 mM. Peningkatan konsentrasi substrat akan meningkatkan jumlah kompleks Enzim-Substrat. Pada kondisi jenuh, tidak ada enzim bebas yang tersedia untuk membentuk kompleks Enzim-Substrat sehingga peningkatan lebih lanjut konsentrasi substrat tidak dapat meningkatkan laju reaksi (Murray, Graner, & Rodwell, 2006). Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan pada saat substrat 5 mM sudah optimum.



Gambar 1. Grafik optimasi substrat p-Nitrofenil- α -D-glukopiranosida 0,3125; 0,625; 1,25; 5; 10 dan 20 mM dengan konsentrasi enzim 0,15 U/mL

Berdasarkan rumus perhitungan aktivitas enzim, maka didapatkan aktivitas enzim pada saat konsentrasi substrat 5 mM sebesar 37,94 U/mg. Aktivitas enzim untuk konsentrasi substrat 10 mM sebesar 35,07 U/mg dan pada konsentrasi substrat 20 mM sebesar 37,61 U/mg. Berdasarkan perhitungan aktivitas enzim didapatkan aktivitas enzim pada konsentrasi substrat 5 mM hingga 20 mM cenderung stabil. Aktivitas enzim mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat hingga mencapai aktivitas maksimum enzim (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005). Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan pada saat substrat 5 mM sudah optimum.

Prinsip dasar pengujian aktivitas penghambatan α -glukosidase ini adalah mengukur absorbansi dari p-nitrofenol yang merupakan produk dari reaksi katalisis enzim α -glukosidase terhadap substratnya yaitu p-nitrofenil

α -D-glukopiranosida. Pengujian aktivitas penghambatan α -glukosidase ini dilakukan secara in vitro sebagai skrining awal aktivitas antidiabetik pada 15 simplisia yang berasal dari tanaman famili Euphorbiaceae. Model pengujian ini dipilih karena cepat, bahan yang digunakan mudah didapat, dan sederhana sehingga sesuai untuk pengujian dengan jumlah sampel ekstrak yang cukup banyak dan beragam (Ali, Houghton & Soumyanath, 2006).

Di dalam tubuh yang berfungsi sebagai substrat adalah karbohidrat dan sebagai enzim α -glukosidase adalah α -amilase, isomaltase, sukrase, dan maltase (Ali, Houghton & Soumyanath, 2006). Enzim-enzim ini berfungsi pada proses hidrolisis karbohidrat menjadi glukosa. Pada penderita diabetes penghambatan enzim tersebut menyebabkan terhambatnya absorpsi glukosa dan menurunkan hiperglikemia post prandial (Sugiwati, Setiawati & Afifah, 2009).

Pengujian aktivitas penghambatan ekstrak terhadap enzim α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan konsentrasi yang bervariasi. Pengujian pada konsentrasi bervariasi ini ditujukan untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak terhadap peningkatan daya hambat. Selain itu juga dilakukan pengamatan aktivitas enzim tanpa penambahan ekstrak (blanko) untuk melihat pengaruh penghambatan ekstrak tersebut terhadap aktivitas enzim dan kontrol blanko (tanpa ekstrak dan penambahan enzim setelah natrium karbonat) sebagai koreksi dari blanko (B).

Pada sistem reaksi enzim yang diujikan, substrat dan ekstrak terlebih dahulu diinkubasi dalam pelarut dapar pH 6,8 pada suhu 37°C selama lima menit, hal ini dilakukan untuk menyamakan suhu substrat dengan suhu optimum en-

zim α -glukosidase sehingga ketika enzim ditambahkan ke dalam sistem dan diinkubasi kembali maka reaksi enzimatik akan segera terjadi. Penghentian reaksi dilakukan dengan membasakan larutan uji menggunakan natrium karbonat (Dewi et al., 2007). Pada pH ekstrim basa akan menyebabkan denaturasi enzim sehingga aktivitas enzim dapat berhenti (Champe, Harvey, & Ferrier, 2005).

Pada pengujian ini digunakan akarbosa sebagai standar. Dalam penelitian ini didapatkan konsentrasi akarbosa yang diperlukan untuk menghambat 50% aktivitas enzim α -glukosidase (IC₅₀) sebesar 117,20 μ g/mL. Berdasarkan uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang dilakukan pada 15 sampel ekstrak etanol 80% menunjukkan 14 ekstrak mempunyai nilai IC₅₀ yang lebih kecil dari akarbosa.

Tabel 2. Hasil uji penentuan aktivitas penghambatan α -glukosidase (IC₅₀)

No.	Larutan Uji	IC ₅₀ (μ g/mL)
1.	Akarbose	117,20
2.	Daun <i>Antidesma celebicum</i>	2,34
3.	Daun <i>Cephalomappa mallotica</i> J.J.Sm.	2,66
4.	Daun <i>Antidesma montanum</i> (Blume)	2,83
5.	Ranting <i>Antidesma bunius</i> (L.) Spreng	3,90
6.	Ranting <i>Antidesma celebicum</i>	3,93
7.	Daun <i>Antidesma neurocarpum</i> Miq.	4,22
8.	Daun <i>Antidesma bunius</i> (L.) Spreng	7,94
9.	Ranting <i>Cephalomappa mallotica</i> J.J.Sm.	12,22
10.	Daun <i>Galearia filiformis</i> Blume.	21,54
11.	Ranting <i>Blumeodendron toksbrai</i> (Blume.) Kurz.	22,82
12.	Ranting <i>Sumbaviopsis albicans</i> (Blume) J.J.Sm.	42,66
13.	Daun <i>Sumbaviopsis albicans</i> (Blume) J.J.Sm.	43,40
14.	Daun <i>Suregada glomerulata</i> (Blume) Baill.	57,46
15.	Daun <i>Blumeodendron toksbrai</i> (Blume.) Kurz.	64,78
16.	Daun <i>Croton argyratus</i> Blume	366,07

Berdasarkan Tabel 1, ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang potensial terdiri dari 14 ekstrak dengan nilai IC₅₀ antara 2,34 μ g/mL-64,78 μ g/mL. Dari keempat belas ekstrak tersebut, ekstrak yang berasal dari daun dan ranting tanaman genus *Antidesma* menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap enzim α -glukosidase yang signifikan, terutama ekstrak yang berasal dari daun *Antidesma celebicum* dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,34 μ g/mL. Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada 15 ekstrak tersebut mungkin disebabkan adanya kandungan glikosida dalam tiap ekstrak. Glikosida terdiri dari gula yang mungkin strukturnya mirip dengan karbohidrat yang merupakan substrat dari enzim α -glukosidase (Sugiwati, Setiasih, dan Afifah, 2009).

Nilai IC₅₀ akarbose yang lebih besar dari sampel ekstrak tanaman dimungkinkan karena konsentrasi senyawa aktif pada ekstrak kasar (*crude extract*) belum terfraksinasi serta banyaknya komponen kimia yang kemungkinan terdapat pada ekstrak memiliki efek sinergis dalam menghambat enzim α -glukosidase (Cetto, Jimenez, & Vazquez, 2008). Berdasarkan uji penapisan fitokimia, golongan senyawa seperti tanin, flavonoid dan glikosida terkandung dalam ekstrak daun

Antidesma celebicum. Beberapa golongan senyawa fenol, flavonoid dan glikosida disebutkan dalam jurnal Jung et al. (2006) merupakan penghambat enzim α -glukosidase. Selain itu, nilai IC₅₀ akarbose yang besar kemungkinan juga dapat disebabkan karena akarbose kurang sensitif terhadap enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Akarbose kurang sensitif terhadap enzim α -glukosidase yang berasal dari kapang dan bakteri tetapi lebih sensitif terhadap enzim α -glukosidase yang berasal dari mamalia (Kim, Nam, dan Kurihara, 2008).

Nilai IC₅₀ akarbose pada berbagai jurnal cukup beragam (0,03 μ g/mL - >1000 μ g/mL). Hal ini kemungkinan karena pengaruh perbedaan metode yang dipakai, contohnya seperti perbedaan sumber enzim yang dipakai (Tadera, Minami, Takamatsu, & Matsuoka, 2006; Shinde et al., 2008). Pada penelitian ini dipakai enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Pada penelitian yang dilakukan Cetto (2008), dengan sumber enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* diperoleh IC₅₀ akarbose sebesar 128 μ g/mL sedangkan pada penelitian ini didapatkan IC₅₀ akarbose sebesar 117, 20 μ g/mL.

Tabel 3. Data Lineweaver-Burk plot ekstrak daun *Antidesma celebicum*

Konsentrasi PNPG (mM) (S)	Absorbansi Sampel		1/S	1/V1	1/V2
	V1	V2			
20	2,3255	0,4300	0,05	0,4300	0,5234
10	2,3800	0,4202	0,1	0,4202	0,5498
5	2,3360	0,4281	0,2	0,4281	0,6125
2,5	1,8765	0,5329	0,4	0,5329	0,8414
1,25	1,4175	0,7055	0,8	0,7055	1,6849

Keterangan :

V1 = tanpa inhibitor (DMSO)

V2 = konsentrasi sampel 2,08 µg/mL

Tabel 4. Hasil perhitungan tetapan Michaelis-Menten

Sampel	V1	V2
a	0,3812	0,3570
b	0,3939	1,5656
r	0,9833	0,9797
Vmaks	2,6233	2,8011
Km	1,0333	4,3854

Keterangan :

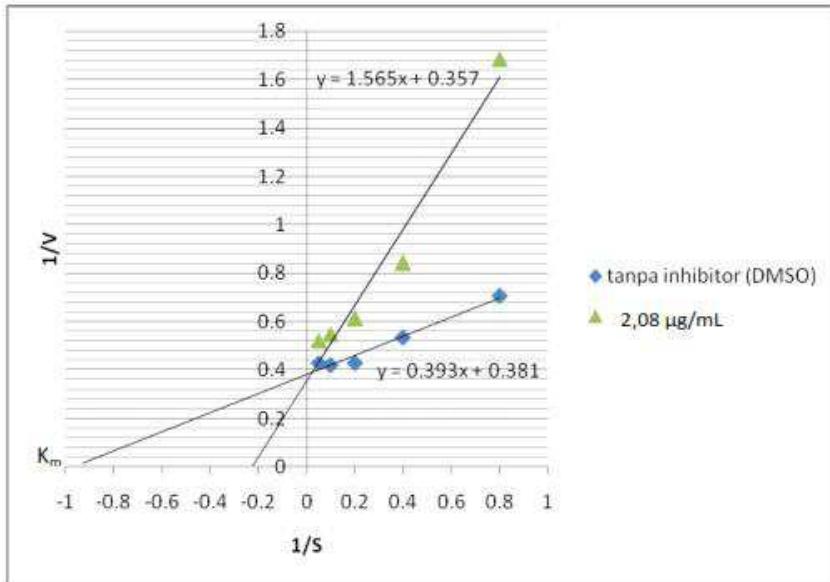
V1 = tanpa inhibitor (DMSO)

V2 = konsentrasi sampel 2,08 µg/mL

Berdasarkan analisis data menggunakan Lineweaver-Burk plot didapatkan jenis penghambatan enzim α -glukosidase. Sampel ekstrak yang digunakan berasal dari daun *Antidesma celebicum* karena memiliki nilai IC50 yang paling baik di antara sampel yang lainnya. Konsentrasi substrat yang digunakan adalah 1,25 mM; 2,5 mM; 5 mM; 10 mM; dan 20 mM.

Hasil plot menunjukkan bahwa ekstrak daun *Antidesma celebicum* memiliki mekanisme penghambatan enzim kompetitif. Hal ini dapat dilihat dari perpotongan garis linear konsentrasi inhibitor 2,08 µg/mL dengan garis linear tanpa penambahan inhibitor terletak pada sumbu y. Selain itu, dapat dilihat pula nilai Vmaks yang hampir sama antara garis

linear konsentrasi inhibitor 2,08 µg/mL dengan garis linear tanpa penambahan inhibitor dan terjadi perubahan tetapan Michaelis-Menten (Km) semakin meningkat dengan adanya penghambat (Tabel 3). Struktur penghambat kompetitif cenderung mirip dengan struktur substrat sehingga dinamai analog substrat. Efek penghambat kompetitif dapat diatasi dengan meningkatkan konsentrasi substrat. Penghambat kompetitif berikatan dengan sisi aktif yang mengikat substrat sehingga menghambat substrat berikatan dengan sisi aktif enzim (Champe, Harvey, dan Ferrier, 2005).



Gambar 2. Lineweaver-Burk plot ekstrak etanol 80% daun *Antidesma celebicum* konsentrasi 2,08 µg/mL dengan konsentrasi substrat PNPg 1,25; 2,5; 5; 10; dan 20 mM

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 80% yang berjumlah 15 ekstrak dari beberapa tanaman famili Euphorbiaceae hampir semua memiliki aktivitas penghambatan α -glukosidase. Sebanyak 14 ekstrak memiliki nilai IC50 lebih rendah dari akar-bose yaitu antara 2,34 µg/mL hingga 64,78 µg/mL. Ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase tertinggi adalah ekstrak yang berasal dari daun *Antidesma celebicum* dengan nilai IC50 sebesar 2,34 µg/mL. Lima belas ekstrak etanol 80% yang berasal dari tanaman suku Euphorbiaceae ini terbukti mengandung senyawa golongan glikosida, terpenoid, tanin, saponin dan alkaloid.

DAFTAR ACUAN

- Ali H, Houghton PJ, & Soumyanath A. 2006. A-amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of Ethnopharmacology* 107, 3, 449-455.
- Cetto AA, Jimenez JB, & Vaquez RC. 2008. Alfa-glucosidase inhibiting activity of some Mexican plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 27-32.
- Champe PC, Harvey RA, & Ferrier DR. 2005. *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins.
- Corwin, Elizabeth, J. 1996. *Handbook of Pathophysiology*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers.

- De Padua LS, Bunyaphatsara N, & Lemmens RHMJ. 1999. *Prosea: medicinal and poisonous plants 1*. Bogor: Prosea Foundation.
- Dewi RT, Iskandar YM, Hanafi M, Kardono LBS, Angelina M, Dewijanti ID, & Banjarnahor SDS. 2007. Inhibitory effect of *Koji Aspergillus terreus* on α -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Pakistan Journal of Biological Science*, 18, 3131-3135.
- Gaedcke F, Steinhoff B, & Blasius H. 2003. *Herbal Medicinal Product*. Stuttgart: CRC Press.
- Harborne JB. 1987. *Metode fitokimia, penuntun cara modern mengekstraksi tumbuhan*. Padmawinata K, penerj. Bandung: Penerbit ITB.
- Hnatyszyn O, Mino J, Ferraro G, & Acevedo C. 2002. The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions in streptozotocin-induced diabetic mice. *International Journal of Phytotherapy & Phytopharmacology*.
- Jung M, Park M, Chul HL, Kang Y, Seok-Kang E, Ki-Kim S. 2006. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current Medicinal Chemistry* 13, 1-16.
- Kim KY, Nam KA, Kurihara H, & Kim SM. 2008. Potent α -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Journal of Phytochemistry* 69, 2820-2825.
- Krishnaveni M, Mirunalini S, Karthiswaran K, & Dhamodharan G. 2010. Antidiabetic and antihyperlipidemic properties of *Phyllanthus emblica* Linn. (Euphorbiaceae) on streptozotocin induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Nutrition*, 9, 43-51.
- Kumar & Chaturvedi. 2010. Ethnobotanical observations of euphorbiaceae species from Vidarbha region, Maharashtra, India. *Ethnobotanical Leaflets*, 14, 674-80.
- Murray RK, Granner DK, & Rodwell VW. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry 27th Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Samuelsson G. 1999. *Drugs of Natural Origin*. Swedia: Swedish Pharmaceutical Press.
- Shinde J, et al. 2008. α -Glucosidase inhibitory activity of *Syzygium cumini* (Linn.) Skeels seed kernel in vitro and in Goto-Kakizaki (GK) rats. *Carbohydrate Research* 343, 1278-1281.
- Sigma-Aldrich. 1996. *Sigma Quality Control Test Procedure Enzymatic Assay of α -Glucosidase*. Januari 19, 2011. <http://www.sigma-aldrich.com>
- Sugiwati S, Setiasi S, Afifah E. 2009. Anti-hyperglycemic activity of the mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (scheff.) boerl.] leaf extracts as an α -glucosidase inhibitor. *Makara Kesehatan*, 13, 2, 74-78.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Cermin Dunia Kedokteran No. 140, 8-12.
- Tadera K, Minami Y, Takamatsu K, & Tomoko M. 2006. Inhibition of α -Glucosidase and α -Amylase by Flavonoid. *Journal of Nutrition Science and Vitaminol*, 149-153.
- Wahyuono S. 2004. Evaluasi bioaktivitas tanaman obat koleksi Kalimantan Tengah. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.