

# PENGARUH KONDISI PROSES EKSTRAKSI BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa* (L) Hook.f & Thomson) TERHADAP AKTIVITAS HAMBATAN ENZIM ALFA GLUKOSIDASE

## *INFLUENCE OF EXTRACTION PROCESS OF TINOSPORA CRISPA (L) HOOK.F & THOMSON ON ALPHA-GLUCOSIDASE INHIBITORY ACTIVITY*

**Idah Rosidah\*, Hismiatty Bahua, Rima Mufidah dan Olivia Bunga Pongtuluran**

Pusat Teknologi Farmasi dan Medika-Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi, Gedung 611 LAPTIAB, Kawasan PUSPIPTEK, Serpong, Banten 15314, Indonesia

\*Korespondensi Penulis : idah.rosidahmahdi@gmail.com

Submitted: 17-03-2015, Revised: 30-08-2015, Accepted: 30-09-2015

### **Abstrak**

*Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson) merupakan salah satu tanaman obat yang telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional dan memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi proses ekstraksi batang brotowali terhadap aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase, kadar total fenol dan Total Dissolved Solids (TDS). Siplisia batang brotowali yang digunakan memiliki kadar susut pengeringan sebesar 11,59%; kadar air 9,11%; kadar abu total 7,62%; kadar abu tidak larut asam 5,00%; kadar sari larut air 2,24%; kadar sari larut etanol 0,53% dan kadar total fenol 2,90 mg Ekvivalen Asam Galat (EAG)/g simplisia. Penelitian ini menggunakan variabel tetap yaitu metode ekstraksi perkolasi, konsentrasi etanol kualitas pangan 70% dan laju alir pelarut 250 mL/menit. Sedangkan variabel peubahnya adalah delapan waktu ekstraksi (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 dan 240 menit) dan tiga perbandingan simplisia-pelarut (1:10, 1:15 dan 1:20). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase dan TDS tertinggi diperoleh pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10 dan berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan perbandingan simplisia-pelarut 1:15 dan 1:20. Kadar total fenol berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) antara ketiga perbandingan simplisia-pelarut 1:10, 1:15 dan 1:20. Proses waktu ekstraksi menunjukkan perbandingan nisbah simplisia-pelarut 1:10 memiliki aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase tertinggi 81,31%, kadar total fenol 40,52 mg EAG/g ekstrak pada 180 menit. Perbandingan simplisia-pelarut 1:15 diperoleh hambatan enzim alfa glukosidase tertinggi 74,79%, kadar total fenol 22,74 mg EAG/g ekstrak pada 30 menit. Sedangkan perbandingan simplisia-pelarut 1:20 diperoleh hambatan enzim alfa glukosidase tertinggi 65,00%, kadar total fenol 30,69 mg EAG/g ekstrak pada 210 menit.*

*Kata kunci : Ekstraksi, *Tinospora crispa*, alfa glukosidase*

### **Abstract**

*Brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson) is one of medicinal plants, which is widely used as traditional medicine and has been using as an antidiabetic activity. The aims of study were to investigate the influence of extraction process of *T.crispa* on alpha-glucosidase inhibitory activity, total phenols content and Total Dissolved Solids (TDS) content. *T.crispa* used content of loss on drying, water content, total ash, acid insoluble ash, compound soluble in water, soluble in ethanol and total phenols were found to be 11.59%, 9.11%, 7.62%, 5.00%, 2.24%, 0.53% and 2.90 mg Gallic Acide Equivalent (GAE)/g respectively. This study used dependent variables those were method of extraction using percolation, 70% ethanol food grade as solvent and 250 mL/min flow rate of extraction. There were eight extraction times (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 and 240 minutes) and three ratios of *T.crispa*-solvent (1:10, 1:15 and 1:20) as nondependent variable. The results of extraction process showed that alpha-glucosidase inhibition activity and TDS content of the highest in ratio *T.crispa*-solvent of 1:10 and significantly difference ( $P < 0.05$ ) than 1:15 and 1:20. The total phenols content of all ratios of *T.crispa*-solvents 1:10, 1:15 and 1:20 having a significantly difference ( $P < 0.05$ ). The process of extraction time in ratio *T.crispa*-solven 1:10 with the best alpha-glucosidase inhibitory activity 8.13%, phenol total content 40.52 mg GAE/g was on 180 minutes. Extraction time in ratio *T.crispa*-solven 1:15 with alpha-glucosidase inhibitory activity 74.79% and phenol total content 22.74 mg GAE/g was on 30 minutes. Extraction time in ratio *T.crispa*-solven 1:20 with alpha-glucosidase inhibitory activity 65.00%, phenol total content 30.69 mg GAE/g was on 210 minutes.*

*Keywords : Extraction, *Tinospora crispa*, alpha-glucosidase*

## Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolit yang prevalensinya meningkat dari tahun ke tahun. Berdasarkan data Badan Kesehatan Dunia, DM merupakan salah satu dari 20 penyakit penyebab kematian terbesar di dunia. Data tahun 2004, DM menduduki peringkat kedubelas dengan kematian 1,9% dan diperkirakan terus meningkat menjadi 3,3% atau peringkat ketujuh pada tahun 2030.<sup>1</sup> Berdasarkan data Federasi Diabetes Internasional, jumlah penderita diabetes di Indonesia pada tahun 2010 sekitar 8,5 juta dan pada tahun 2035 diperkirakan mencapai 14,1 juta jiwa, menduduki peringkat keenam terbesar setelah China, India, Amerika, Brazil dan Meksiko.<sup>2</sup> Data hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2013, proporsi DM di Indonesia sebesar 6,9%, Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) sebesar 29,9% dan Glukosa Darah Puasa (GDP) terganggu sebesar 36,6%. Jika diperkirakan dalam jumlah absolut penderita DM adalah sekitar 12 juta, TGT sekitar 52 juta dan GDP terganggu sekitar 64 juta, estimasi data diukur pada penduduk usia  $\geq 15$  tahun ke atas sejumlah 176.689.336.<sup>3</sup>

Brotowali, bratawali, akar aliali atau yang dikenal dengan nama latin *Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson merupakan tanaman perdu, merambat dan telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional di Amerika, India, Vietnam, Thailand, Malaysia dan Indonesia. Secara etnobotani bagian tanaman yang dapat digunakan yaitu daun untuk mengobati rematik; batang digunakan untuk menstimulasi sekresi empedu, diuretik, penyakit kulit, antidiabetes, antipiretik, antimalaria, diare, memperbaiki sistem pencernaan; kombinasi batang dan akar digunakan untuk penawar racun; buah untuk mengobati penyakit kuning dan rematik; dan kulit batangnya digunakan untuk antialergi, antispasmodik dan antilepra.<sup>4</sup> Brotowali memiliki berbagai aktivitas dan salah satunya adalah sebagai antidiabetes.<sup>5-7</sup> Secara kimia tanaman brotowali mengandung alkaloid, diterpenoid, flavonoid, fenol, laktone dan lignin. Komponen utama yang telah diidentifikasi aktif adalah terpenoid dan terpenoid glikosida. Senyawa terpenoid glikosida yang berperan menurunkan serum gula darah pada diabetes tipe kedua adalah borapetoside C dan borapentol B.<sup>6,7</sup> Brotowali merupakan tanaman yang kaya akan antioksidan.<sup>8</sup> Berdasarkan aktivitas sebagai antidiabetes, brotowali sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat atau bahan baku obat tradisional.

Stres oksidatif merupakan hasil ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Stres oksidatif dapat juga didefinisikan keadaan dimana radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) mencapai tingkat berlebih. Adanya stres oksidatif akan menyebabkan kerusakan protein, lipid dan DNA. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan disfungsi fisiologi, kematian sel, patologi seperti diabetes, kanker dan penuaan.<sup>9</sup> Komponen polifenol telah terbukti memiliki efek antioksidan secara *in vivo* dan *in vitro*. Aktivitas antioksidan pada komponen polifenol berperan penting dalam mencegah berbagai masalah penyakit seperti jantung, diabetes, kanker dan obesitas.<sup>10</sup> Komponen fenolik pada tanaman diketahui memiliki sifat multifungsi seperti pereduksi, penyumbang atom hidrogen sebagai antioksidan dan peredam terbentuknya singlet oksigen.<sup>11</sup>

Salah satu cara pengobatan oral untuk penderita DM yaitu dengan penghambatan kerja enzim alfa glukosidase yang berperan dalam konversi karbohidrat menjadi glukosa. Senyawa-senyawa penghambatan alfa glukosidase bekerja menghambat enzim alfa glukosidase yang terdapat pada usus halus. Penghambatan kerja enzim alfa glukosidase secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial pada penderita DM. Dengan demikian penghambatan kerja enzim alfa glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal.<sup>12,13</sup>

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair. Proses ekstraksi secara umum dapat dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi, refluks, ekstraksi dengan alat Soxhlet, digesti, infusa dan dekok.<sup>8</sup> Mutu ekstrak dalam proses ekstraksi dipengaruhi oleh teknik ekstraksi, waktu ekstraksi, temperatur, jenis pelarut, konsentrasi pelarut dan perbandingan bahan-pelarut. Perkolasi merupakan proses ekstraksi yang umum digunakan di industri dan dipengaruhi oleh waktu dan perbandingan bahan-pelarut.<sup>9</sup> Waktu atau lamanya proses ekstraksi menentukan kandungan senyawa yang keluar dari bahan. Begitu juga perbandingan bahan-pelarut, jumlah ekstrak yang terlibat dalam perpindahan menentukan tingkat perbedaan konsentrasi yang sangat penting dalam proses difusi yang akan mempengaruhi kandungan

senyawa. Pada penelitian ini, penentuan jumlah pelarut disesuaikan dengan proses dan alat yang akan diterapkan di skala pilot. Sebagai contoh dalam penentuan jumlah pelarut yang digunakan, ditentukan oleh kapasitas pompa dan alat ekstraksi di pilot plant agar sirkulasi berlangsung *steady state*, sehingga pada penelitian ini menggunakan perbandingan simplisia-pelarut 1:10, 1:15 dan 1:20.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh kondisi proses ekstraksi batang brotowali terhadap aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase, kadar total fenol dan nilai TDS dari ekstrak yang dihasilkan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan bagi industri dalam proses produksi ekstrak batang brotowali sebagai bahan baku obat antidiabetes.

### Metode

Bahan uji berupa batang brotowali diperoleh dari pegunungan Ambarawa, Jawa Tengah, Indonesia.

Bahan kimia berupa etanol kualitas pangan (Brataco, Indonesia), hidranal metanol kering (Fluka, Jerman), hidranal komposit-5 (Fluka, Jerman), kloroform p.a (Merck, Jerman), etanol p.a (Merck, Jerman), enzim alfa glukosidase dari *intestinal acetone powder from rat* (Sigma, Jerman), p-nitrofenil alfa-D-glukopiranosida (sigma, Jerman), Dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), natrium karbonat (Sigma, Jerman), kalium fosfat monobasa (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Merck, Jerman), asam galat (Sigma, Jerman).

Alat berupa neraca analitik (Radwag, Polandia), TDS meter (TDS HM Digital, USA), oven (Mermmet, Jerman), *moisture balance* (Precisa HA60, Swiss), *vortex* (heidolph, Jerman), spektrofotometer (Thermospectronic, USA), ELISA reader (Thermo Multiscan Ascent, Finland), mikropipet (Biorad, USA), tungku pembakaran (Thermolyne, USA), kuvet (Plastibaran, Jerman), inkubator shaker (Innova 43 incubator shaker, USA).

Desain penelitian dilakukan dengan menggunakan eksperimen deskriptif dengan menggunakan variabel tetap yaitu metode ekstraksi perkolasi, konsentrasi etanol kualitas pangan 70% dan laju alir pelarut 250 mL/menit. Variabel peubahnya yang digunakan delapan waktu ekstraksi (30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 dan 240 menit) dan tiga perbandingan simplisia-pelarut (1:10, 1:15 dan 1:20). Respon penelitian

diamati terhadap persen hambatan enzim alfa glukosidase, kadar total fenol dan nilai TDS.

Sebelum dilakukan proses ekstraksi, simplisia batang brotowali terlebih dahulu dideterminasi dan dikarakterisasi untuk melihat mutu simplisia yang akan digunakan. Determinasi dilakukan di Herbarium *Bogoriense*, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong, Jawa Barat. Parameter uji karakterisasi simplisia meliputi penentuan organoleptik, kadar susut pengeringan, kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut air dan etanol mengikuti prosedur Farmakope Herbal Indonesia.<sup>10</sup>

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan metode perkolasi menurut standar prosedur Departemen Kesehatan Republik Indonesia (2000). Timbang simplisia batang brotowali sebanyak 50 g, masukkan ke dalam perkolator, tambahkan etanol kualitas pangan 70% dengan jumlah perbandingan simplisia-pelarut (1:10, 1:15 dan 1:20). Rendam simplisia selama 30 menit dan lakukan sampling. Lakukan sirkulasi dengan melewati pelarut melalui tumpukan simplisia selama 210 menit. Selama proses sirkulasi dilakukan sampling setiap 30 menit sebanyak 15 mL. Ekstrak cair yang didapat selanjutnya diukur kadar TDS menggunakan alat TDS meter. Ekstrak-ekstrak tersebut kemudian secara bersamaan diuapkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam dan ekstrak diuji kadar total fenol dan aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase.

Penentuan kadar total fenol dilakukan menurut Ghafar *et al* (2010) yang dimodifikasi. Pengukuran kadar total fenol ekstrak batang brotowali dilakukan dengan menggunakan alat ELISA reader. Ekstrak batang brotowali ditimbang secara seksama 5,0 mg dan dilarutkan dalam 1,0 mL metanol p.a kemudian disonikasi hingga larut dan disentrifugase. Ke dalam sumuran *micro plate* dimasukan 20 µL larutan ekstrak dan 75 µL reagen Folin Ciocalteu, goyangkan hingga homogen dan didiamkan pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 75 µL larutan natrium karbonat 6% dan didiamkan pada suhu kamar selama 90 menit. Selanjutnya larutan campuran reaksi diukur absorbansi dengan ELISA reader pada panjang gelombang 725 nm. Absorbansi yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung kadar total fenol dalam ekstrak menggunakan persamaan linier yang diperoleh dari kurva kalibrasi. Kurva kalibrasi dibuat dengan cara ditimbang sejumlah tertentu

asam galat standar kemudian dilarutkan dalam metanol p.a hingga diperoleh konsentrasi 25, 50, 100, 150 dan 200 ppm. Total fenol yang diperoleh dinyatakan sebagai Ekvivalen Asam Galat dalam mg per g ekstrak batang brotowali (mg EAG/g ekstrak).<sup>11</sup>

Penentuan uji aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase dilakukan menurut Rammohan *et al* (2008) dan Dewi *et al* (2012). Timbang 0,5 g enzim alfa glukosidase, masukan dalam tabung falcon dan suspensikan dalam 60 mL dapar fosfat 0,1 M (pH 7,0), sonikasi selama 30 menit. Selanjutnya enzim disentrifugase selama 15 menit dan bagian supernatan digunakan untuk pengujian. Larutan ekstrak batang brotowali dibuat dengan melarutkan 10,0 mg ekstrak dalam 1,0 mL DMSO kemudian disonikasi hingga larut dan disentrifugase. Ke dalam kuvet dimasukan 200 µL larutan ekstrak, 50 µL dapar fosfat 0,1 M (pH 7,0) dan 250 µL 4-nitrofenil α-D-glukopiranosida 0,5 mM. Campuran reaksi ini diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 250 µl enzim alfa glukosidase (8,33 mg/mL) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 1,0 mL larutan natrium karbonat 0,2 N. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Blangko individu dipersiapkan untuk mengoreksi absorbansi *background* dimana enzim digantikan dengan dengan dapar. Kontrol menggunakan pelarut DMSO menggantikan sampel. Presentasi hambatan dari enzim alfa glukosidase didapat dengan rumus berikut.

$$\% \text{ hambatan} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Data hasil pengujian proses ekstraksi batang brotowali dengan parameter TDS, kadar total fenol dan aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase kemudian dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan bantuan program SPSS versi 17.

## Hasil

Identifikasi/determinasi simplisia menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan adalah brotowali, *Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson, suku Menispermaceae, hasil determinasi ditunjukkan pada Gambar 1.

Simplisia brotowali secara makroskopis berupa potongan batang, warna coklat,



**Gambar 1. Hasil Determinasi Simplisia Brotowali**

permukaan tidak rata, bertonjolan, beralur-alur membujur dan lapisan luar mudah terkelupas. Hasil pengujian simplisia batang brotowali yang digunakan memiliki kadar susut pengeringan 11,59%, kadar air 9,11%, kadar abu total 7,62%, kadar abu tidak larut asam 5,00%, kadar sari larut air 2,24%, kadar sari larut etanol 0,53% dan kadar total fenol 2,90 mg EAG/g simplisia. Hasil pengujian simplisia batang brotowali dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil proses ekstraksi batang brotowali dengan parameter pengujian TDS, kadar total fenol dan aktivitas hambatan alfa glukosidase dapat dilihat pada Tabel 2 dan jika dibuat dalam grafik dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Tabel 1, menunjukkan bahwa nilai TDS dan aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase tertinggi diperoleh pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10. Hasil uji ANOVA dengan menggunakan bantuan program SPSS versi 17 menunjukkan bahwa, nilai TDS dan aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10 berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dengan perbandingan simplisia-pelarut 1:15 dan 1:20. Sedangkan kadar total fenol berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) antara ketiga perbandingan simplisia-pelarut 1:10, 1:15 dan 1:20.

## Pembahasan

Hasil determinasi dan pengujian simplisia batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.) Hook.f. & Thomson) ditunjukkan pada Gambar 1 dan Tabel 1. Susut pengeringan simplisia bertujuan untuk mengetahui batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Susut pengeringan simplisia batang brotowali sebesar 11,59%.

**Tabel 1. Hasil Pengujian Simplisia Batang Brotowali**

Parameter	Hasil pengujian	Pustaka*
Nama Simplisia	Brotowali	Brotowali
Nama Latin	<i>Tinospora crispa</i> (L.) Hook.f. &Thomson	<i>Tinospora crispa</i> (L.) Hook.f. &Thomson
Bagian Tanaman	Batang	Batang
Pemerian	Potongan batang, warna coklat, permukaan tidak rata, bertonjolan, beralur-alur membujur, lapisan luar mudah terkelupas	Potongan batang berwarna hijau kecoklatan, permukaan tidak rata, bertonjolan, beralur-alur membujur, lapisan luar mudah terkelupas
Susut Pengeringan	11,59 %	-
Kadar Air	9,11 %	Tidak lebih dari 10%
Kadar Abu Total	7,62 %	Tidak lebih dari 7,2%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	5,00 %	Tidak lebih dari 0,9%
Kadar Sari Larut Air	2,24 %	Tidak lebih dari 15,4%
Kadar Sari Larut Etanol	0,53 %	Tidak lebih dari 4,4%
Kadar Total Fenol	2,90 mg EAG/g simplisia	-

**Keterangan:**

**Pustaka\*** =Materia Medika Indonesia (MMI), Jilid II, 1978.

**Tabel 2. Hasil Pengujian TDS, Kadar Total Fenol dan Aktivitas Hambatan Enzim Alfa Glukosidase Ekstrak Batang Brotowali**

Waktu Sampling (menit ke-)	TDS (ppm)			Kadar Total Fenol (mg EAG/ g ekstrak)			Hambatan Enzim Alfa Glukosidase (%)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
30	280	134	87	37,33	22,73	30,76	59,04	74,79	55,74
60	312	130	106	36,48	31,74	26,14	62,45	57,45	55,96
90	320	137	115	37,27	35,38	31,58	60,85	52,02	59,89
120	324	140	165	34,60	36,40	25,09	68,09	65,00	46,06
150	328	144	175	39,19	35,83	27,64	62,66	43,30	55,11
180	344	144	174	40,52	37,88	31,76	81,31	47,02	55,32
210	341	149	181	40,74	33,86	30,69	81,31	53,94	65,00
240	356	151	178	43,50	33,05	28,06	67,87	51,60	59,79

**Keterangan :**

**A = perbandingan simplisia-pelarut 1:10**

**B = perbandingan simplisia-pelarut 1:15**

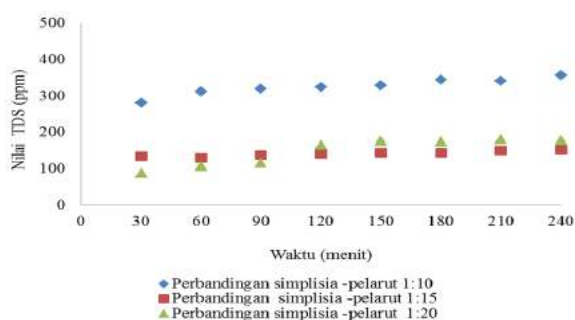
**C = perbandingan simplisia-pelarut 1:20**

**TDS = Total Dissolved Solides**

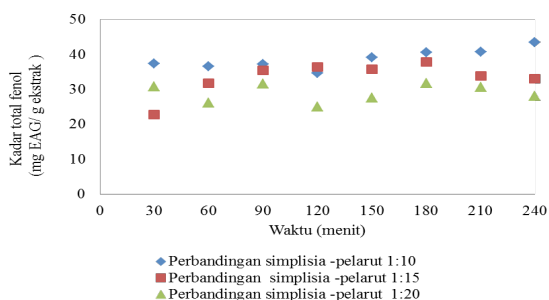
Kadar air simplisia batang brotowali sebesar 9,11%. Kadar air ditetapkan untuk menjaga kualitas simplisia, untuk menghindari terjadinya pertumbuhan mikroba (bakteri atau jamur), terjadinya reaksi hidrolisis/penguraian oleh enzim yang menyebabkan terjadinya perubahan spesifikasi bahan dan penurunan kualitas produk.

Kadar abu total dan kadar abu tidak larut asam diperoleh sebesar 7,62% menunjukkan sisa anorganik dan 5,00% menunjukkan sisa anorganik yang tidak larut asam dalam simplisia.

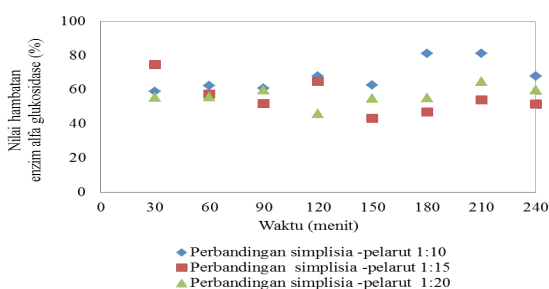
Kadar sari larut air simplisia batang brotowali sebesar 2,24% menunjukkan jumlah simplisia yang dapat tersari dalam air. Kadar sari larut etanol 0,53% menunjukkan jumlah simplisia yang dapat tersari dalam etanol. Kadar sari larut etanol yang diperoleh memberikan arti bahwa simplisia batang brotowali dapat tersari dalam etanol dengan jumlah 0,53%. Hal tersebut menunjukkan bahwa simplisia batang brotowali banyak tersari dalam pelarut air dibandingkan dengan etanol. Hasil penetapan kadar (abu total, abu tidak larut asam, sari larut air dan etanol)



Gambar 2. Nilai TDS Ekstrak Kental Batang Brotowali



Gambar 3. Kadar Total Fenol Ekstrak Kental Batang Brotowali



Gambar 4. Nilai Persen Hambatan Enzim Alfa Glukosidase Ekstrak Kental Batang Brotowali

memiliki nilai yang berbeda jika dibanding dengan persyaratan menurut MMI (1978). Hal ini mungkin disebabkan simplisia yang digunakan berasal dari tempat yang berbeda sehingga memberikan hasil yang berbeda.

TDS adalah ukuran zat terlarut (zat organik dan anorganik) yang terdapat pada suatu larutan.<sup>21</sup> TDS menggambarkan jumlah zat terlarut dalam *part per million* (ppm) atau sama dengan miligram per liter (mg/L). Pengukuran TDS pada ekstrak batang brotowali dilakukan dengan menggunakan alat TDS meter. Prinsip kerja TDS meter yaitu dengan mengukur konsentrasi ion di dalam larutan yang berbanding lurus dengan daya hantar listriknya. Semakin banyak ion mineral yang terlarut, maka akan semakin besar kemampuan larutan tersebut untuk menghantarkan listrik.<sup>22</sup> Hasil pengukuran TDS menunjukkan bahwa semakin tinggi perbandingan

simplisia-pelarut maka nilai TDS diperoleh semakin kecil selama 90 menit. Namun, pada menit ke-150, nilai TDS cenderung relatif stabil untuk ketiga perbandingan simplisia-pelarut. Hal ini menunjukkan bahwa 150 menit merupakan waktu *washed out* untuk transfer massa yang berada diluar sel tanaman ke pelarut, setelah itu yang terjadi adalah transfer massa secara difusi dari dalam sel tanaman ke pelarut. Berdasarkan hasil analisis statistik, perbandingan simplisia-pelarut 1:10 memberikan nilai TDS lebih tinggi dan berbeda signifikan dibandingkan dengan perbandingan simplisia-pelarut 1:15 dan 1:20 ( $P < 0,05$ ).

Senyawa fenolik adalah salah satu kelompok metabolit sekunder dalam tanaman. Senyawa fenolik memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel pada cincin aromatik. Pada senyawa polifenol terdapat lebih dari satu kelompok hidroksil fenol yang berikatan pada satu atau lebih cincin aromatik. Adanya cincin aromatik mempengaruhi kestabilan ikatan atom oksigen dan hidrogen pada kelompok hidroksil. Sifat ini yang menyebabkan senyawa fenolik diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Umumnya, aktivitas antioksidan tergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksil hidrogen yang menyumbangkan pada cincin aromatik dari senyawa fenolik.<sup>23</sup> Penentuan kandungan total fenol pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi Folin Ciocalteu. Metode ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi fenolik. Adanya inti aromatis pada senyawa fenol dapat beraksi dengan fosfomolibdat-fosfotungstat memberikan warna kuning dan dengan penambahan alkali membentuk molybdenum yang berwarna biru.<sup>17</sup>

Brotowali merupakan tanaman yang telah lama digunakan untuk pengobatan tradisional di dunia dan telah diketahui memiliki aktivitas antioksidan.<sup>8</sup> Hasil pengukuran total fenol dalam ekstrak batang brotowali ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 3. Hasil pengukuran total fenol cenderung meningkat dengan semakin menurun perbandingan simplisia-pelarut, seperti yang ditunjukkan pada pengukuran menit ke-150 hingga 240. Namun, jika dilihat dari setiap waktu pengukuran kadar total fenol tidak tergantung pada lama waktu proses ekstraksi, kecuali pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10 terjadi peningkatan kadar total fenol seiring dengan lama waktu proses ekstraksi, 120 hingga 240 menit. Nilai total fenol tertinggi pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10 diperoleh 43,50 mg

EAG/g ekstrak dengan lama waktu 240 menit. Sedangkan pada perbandingan simplisia-pelarut 1:15 diperoleh nilai total fenol tertinggi 37,88 mg EAG/g ekstrak dan perbandingan simplisia-pelarut 1:20 diperoleh 31,76 mg EAG/g ekstrak dengan lama waktu 180 menit. Secara statistik, kadar total fenol ketiga perbandingan simplisia-pelarut 1:10, 1:15 dan 1:20 berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ).

Pengukuran aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase dilakukan secara *in vitro*. Prinsip pengukuran yaitu sampel uji berupa ekstrak dan substrat p-nitrophenol alfa-D-glukopiranosida (a-PNP-G) diinkubasi, kemudian direaksikan dengan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Enzim bekerja dengan menghidrolisis  $\alpha$ -PNP-G dan melepaskan  $\alpha$ -nitrophenol, yang merupakan senyawa berwarna. Intensitas warna yang dihasilkan sebanding dengan kemampuan sampel uji dalam menginhibisi enzim. Semakin besar aktivitas sampel dalam menekan aktivitas enzim, ditunjukkan dengan semakin rendahnya nilai absorpsi.<sup>18,19</sup>

Gambar 4, menunjukkan bahwa aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase tidak tergantung oleh lama waktu ekstraksi. Berdasarkan perbandingan simplisia-pelarut, ekstrak brotowali dengan perbandingan 1:10 memiliki aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase relatif lebih besar dan berbeda signifikan ( $P < 0,05$ ) dibanding 1:15 dan 1:20. Ekstrak batang brotowali dengan perbandingan simplisia-pelarut 1:10 memiliki aktivitas hambatan tertinggi 81,31% (kadar total fenol 40,52 mg EAG/g ekstrak) dengan lama waktu 180 menit. Sedangkan perbandingan 1:15 diperoleh hambatan tertinggi 74,79% (kadar total fenol 22,74 mg EAG/g ekstrak) dengan lama waktu 30 menit. Untuk perbandingan simplisia-pelarut 1:20 hambatan tertinggi 65,00% (kadar total fenol 30,69 mg EAG/g ekstrak) diperoleh dengan lama waktu 210 menit. Nilai hambatan enzim alfa glukosidase tidak sejalan dengan tingginya kadar total fenol. Hal ini mungkin disebabkan aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase tidak sepenuhnya mengacu pada standar asam galat dan ada senyawa lain yang ikut berperan dalam penghambatan enzim alfa glukosidase. Banyak penelitian tentang kandungan total fenol dalam batang brotowali, seperti dalam ekstrak metanol sebesar 9,5 g/kg; ekstrak air 2,1 g/kg; ekstrak etanol 2,7 g/kg ekstrak (Joladarashi *et al*, 2014) dan ekstrak metanol 8,62 mg/g ekstrak Bhawya *et al* (2010). Penelitian Poongunran *et al* (2015) telah membuktikan bahwa ekstrak metanol dari

daun brotowali memiliki aktivitas hambatan enzim alfa glukosidase 41,5% dengan  $IC_{50}$  608  $\mu$ g/mL.

## Kesimpulan

Proses ekstraksi simplisia batang brotowali dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol kualitas pangan 70% dan laju alir 250 mL/menit menunjukkan nilai TDS, kadar total fenol dan aktivitas hambatan alfa glukosidase tertinggi diperoleh pada perbandingan simplisia-pelarut 1:10.

## Saran

Perlu dilakukan proses *up scaling* produksi ekstrak batang brotowali pada skala pilot untuk indikasi antidiabetes dengan menggunakan metode perkolasi, pelarut etanol kualitas pangan 70%, laju alir 250 mL/menit, perbandingan simplisia-pelarut 1:10 dan waktu ekstraksi 180-210 menit.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Kementerian Kesehatan Republik Indonesia atas dukungan dana melalui Program Fasilitas Pengembangan dan Peningkatan Kapasitas Produksi Bahan Baku Obat dan Bahan Baku Obat Tradisional.

## Daftar Pustaka

1. World Health Organization. World Health Statistics. Geneva; 2008.
2. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas; 6th Ed. 2013. Diperoleh melalui [http://www.idf.org/sites/default/files/EN\\_6E\\_Atlas\\_Full\\_0.pdf](http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf). (14 Maret 2015)
3. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Situasi dan Analisis Diabetes. InfoDATIN. Jakarta: Pusat Informasi dan Data Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014.
4. Choundary N, Siddique MB, Azmat S, Khatoon S. *Tinospora cordifolia*: Ethnobotany, Phytopharmacology and Phytochemistry Aspects. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013; 4 (3): 891-899.
5. Klangjareonchai T, Roongpisuthipong C. The Effect of *Tinospora crispera* on Serum Glucose and Insulin Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. Research Article. Journal of Biomedicine and Biotechnology. 2012; 1-5.
6. Ruana C, Lamb CSH, Chic TC, Leeb SS, Sua MJ. Borapetoside C from *Tinospora crispera* Improves Insulin Sensitivity in Diabetic Mice. Phytomedicine. 2012; 19: 719-24.
7. Lokman FE, Gu HF, Mohammad WNW, Yusoff MM, Chia KL, Östenson CG. Antidiabetic Effect

- of Oral Borapetol B Compound, Isolated from the Plant *Tinospora crispa*, by Stimulating Insulin Release. Research Article. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013; 1-7
8. Koay YC, Amir F. A Review of the Secondary Metabolites and Biological Activities of *Tinospora crispa* (Menispermaceae). Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2013; 12 (4): 641-649
  9. Monroy M, Mejia C. Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role of Vitamins with Antioxidant Actions. Intech. 2013; 9: 209-231. Diperoleh melalui <http://dx.doi.org/10.5772/51788>. (3 Agustus 2015)
  10. Hyuan TK, Kim HC, Ko YJ, Kim JS. Antioxidant,  $\alpha$ -glucosidase Inhibitory and Anti-Inflammatory Effects of Aerial Parts Extract from Korean Crowberry (*Empetrum nigrum* var. *japonicum*). Saudi Journal of Biological Sciences. 2015 ; xxx : xxx-xxx
  11. Aberoumand A, Deekul SS. Comparison of Phenolic Compounds of Some Edible Plants of Iran and India. Pakistan Journal of Nutrition. 2008; 7 (4) : 582-585
  12. Bösenberg LH, The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs: A Review of Recent Literature. JEMDSA. 2008; 13 (3): 80-88
  13. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus. Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta: 2005.
  14. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: 2000.
  15. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical Screening and Extraction : A Review. International Pharmaceutica Scientia. 2011; (1). 98-106
  16. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: 2008.
  17. Ghafar MFA, Prased KN, Weng KK, Ismail A. Flavonoid, Hesperidine, Total Phenolic Cotents and Antioxidant Activities from Citrus Species. African Journal of Biotechnology. 2010; 9 (3): 326-330.
  18. Rammohan S, Asmawi MZ, Sdaikun A. In vitro  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase Enzyme Inhibitory Effects of *Andrographis paniculata* Extract and *Andrographolide*. Acta Biochimica Polonica. 2008; 55 (2): 391-398.
  19. Dewi RT, Sanro T, Ahmad D. Antidiabetic and Antioxidative Activities of Butyrolactone I from *Aspergillus terreus* MC751. International Scholarly and Scientific Research & Innovation. 2012; 6(10): 822-827
  20. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Materia Medika Indonesia, Jilid II. Jakarta: 1978.
  21. Oram, B. Total Dissolved Solids and Water Quality. Water Research Waershed Center. 2014. Diakses melalui <http://www.water-research.net/index.php/water-treatment/tools/total-dissolved-solids>. (28 Agustus 2015)
  22. Anonim, Technoarticles. Prinsip Kerja Konduktiviti. Diakses melalui <http://artikel-teknologi.com/prinsip-kerja-conductivity-meter/>. (28 Agustus 2015)
  23. Michalak A. Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Plants Growing under Heavy Metal Stress. Polish J. of Environ. Stud. 2006; 15 (4): 523-530.
  24. Febrinda AE, Astawan M, Wresdiyati T, Yuliana ND. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. J. Teknol dan Industri Pangan. 2013; 24 (2) 161-167
  25. Joladarashi D, Chilkunda ND, Salimath PV. Glucose Uptake-Stimulatory Activity of *Tinospora cordifolia* Stem Extracts in Ehrlich Ascites Tumor Cell Model System. Food Sci Technol. 2014; 51(1):178-182.
  26. Bhawya D, Anilakumar KR. In Vitro Antioxidant Potency of *Tinospora cordifolia* (gulancha) in Sequential Extracts. International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives. 2010; 1(5): 448-456
  27. Poongunran J, Perera HKI, Fernando WIT, Jayasinghe L, Sivakanesan R.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Nine Sri Lankan Antidiabetic Plants. Journal of Pharmaceutical Research. 2015; 7(5): 365-374.