

Fraksi Alkaloid Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) Sebagai Inhibitor α -Glukosidase

Alkaloid Fraction of Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) as α -Glucosidase Inhibitor

ABSTRAK

**Diah Daru Asih
Pamungkas¹, Irmanida
Batubara², Irma
Herawati Suparto¹.**

1) Departemen Kimia
Fakultas Matematika
dan Ilmu Pengetahuan
Alam IPB
2) Pusat Studi
Biofarmaka LPPM IPB
Jl Taman Kencana
No.3 Bogor, 16151
email :
ime@apps.ipb.ac.id

Kata kunci:

Inhibitor α -glukosidase,
ubi jalar ungu
(*Ipomoea batatas* var
Ayumurasaki), alkaloid

Keywords:

Inhibitor α -glukosidase,
purple sweet potato
(*Ipomoea batatas* var
Ayumurasaki), alkaloid

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) dilaporkan dapat membantu diet harian bagi penderita diabetes melitus tipe 2 karena memiliki kadar glikemik yang rendah. Salah satu mekanisme menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes adalah dengan menghambat enzim α -glukosidase. Potensi fraksi alkaloid dari daun dan fraksi antosianin dari umbi ubi jalar ungu dievaluasi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Ubi jalar ungu yang digunakan dari Ciampea, Bogor, Jawa Barat. Fraksi alkaloid daun ubi jalar ungu pada konsentrasi 2,00% aktif menghambat kerja enzim sebesar 61,88%, sedangkan fraksi antosianin umbi ubi jalar ungu tidak aktif (0,25%). Fraksi alkaloid daun ubi jalar ungu dipisahkan lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan kloroform sebagai eluen. Fraksi yang mengandung alkaloid dengan semprotan Dragendorf, yakni F10, kemudian dipisahkan kembali dengan kromatografi lapis tipis preparatif. Fraksi F10.15 positif mengandung alkaloid dan dapat menghambat enzim α -glukosidase sebesar 18,07% pada konsentrasi 1,25%, yang berarti pemisahan menyebabkan penurunan aktivitas. Spektrum inframerah transformasi Fourier fraksi memperlihatkan gugus fungsi –NH–, –OH, dan –CH₂– dan diduga mengandung alkaloid.

Purple sweet potato (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) has been reported as a component of daily diet for type 2 diabetes mellitus patient because of it has low glycemic index. A mechanism for decreasing blood's sugar content in diabetic patients is by inhibiting α -glucosidase. In this study, the potencies of alkaloid fraction from leaves and anthocyanin fraction from tuberosus of purple sweet potato were investigated as an inhibitor of α -glucosidase. The sample used was purple sweet potato from Ciampea, Bogor, West Java. The 2.0% alkaloid fraction could inhibit α -glucosidase activity (61.88%), whereas anthocyanin fraction was inactive (only inhibited 0.25%). The alkaloid fraction from purple sweet potato leaves was then fractionated by column chromatography with silica gel as stationary phase and chloroform as eluent. Fraction containing alkaloid with Dragendorf spraying was F10, which was further separated by preparative thin layers chromatography. F10.15 fraction contained alkaloid and had inhibition activity of 18.07% at concentration of 1.25%, which means separation decrease the activity of fraction. Fourier transform infrared spectrum of this fraction showed –NH–, –OH, and –CH₂– functional groups and was predicted as containing alkaloid.

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) tipe 2 dapat diobati dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase. Enzim ini berada di permukaan membran sel usus dan merupakan enzim kunci

dalam metabolisme karbohidrat. Inhibitor α -glukosidase akan menghalangi aktivitas enzim tersebut sehingga membatasi perubahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida, terutama untuk serapan gastrointestinal (Malathi *et al.* 2010).

Salah satu usaha untuk mengatasi DM adalah dengan menggunakan bahan alam seperti ubi jalar. Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) dilaporkan memiliki kadar glikemik yang rendah, yakni 40 per 100 g saji (Foster *et al.* 2002) sehingga digunakan sebagai diet harian bagi penderita DM tipe 2. Ubi jalar yang digunakan merupakan varietas *I. batatas* berwarna ungu, karena memiliki kandungan antosianin (turunan flavonoid) tertinggi (Fan *et al.* 2007) dan umbi ini telah dilaporkan memiliki aktivitas antihiperlipidemia (Suda *et al.* 2003). Selain itu, menurut Lien *et al.* (2010), fraksi fraksi etil asetat daun ubi jalar dapat mempercepat aktivitas heksokinase, merangsang sekresi insulin, dan menghambat glukoneogenesis sehingga dapat memberikan efek hipoglisemia. Pochapski *et al.* (2011) menyatakan bahwa fraksi kasar daun ubi jalar mengandung senyawa alkaloid. Fraksi alkaloid dalam fraksi etanol dan fraksi tak larut air pada *Acacia catechu* dapat bersifat antihiperlipidemia pada tikus (Jarald E *et al.* 2009).

Menurut Takikawa *et al.* (2010), pemberian asupan fraksi kasar antosianin dari buah *bilberry* pada tikus juga dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan sensitivitas insulin. Oleh karena itu, pada penelitian ini dapat diperoleh fraksi alkaloid daun dan fraksi antosianin umbi ubi jalar ungu sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Bagian daun dan umbi diteliti karena kedua bagian ini lazim dikonsumsi oleh masyarakat.

Bahan dan Metode

Bahan

Daun dan ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* var *Ayumurasaki*) diperoleh dari Ciampea, Bogor, Jawa Barat, sementara enzim α -glukosidase didapatkan dari Sigma-Aldrich.

Kadar Air (AOAC 2006)

Sebanyak 2 g sampel daun dan umbi dimasukkan masing-masing dalam cawan dan dipanaskan pada suhu 105 °C selama 5 jam hingga diperoleh bobot konstan. Selanjutnya ditentukan kadar air.

Kadar Abu (AOAC 2006)

Sebanyak 2 g sampel daun dan umbi dimasukkan masing-masing dalam cawan dan dipanaskan pada suhu 600°C selama 2 jam

hingga diperoleh bobot konstan. Selanjutnya ditentukan kadar abu.

Fraksi Alkaloid (Berkov *et al.* 2007)

Serbuk sampel dimaserasi dengan perbandingan 1:10 dengan pelarut etanol sampai tidak berwarna. Residu dibuang, fraksi etanol diuapkan pelarutnya di bawah kondisi vakum. Fraksi pekat etanol dilarutkan kembali dalam H₂SO₄ 2% kemudian ditambahkan dietil eter untuk menghilangkan lemak. Fraksi dietil eter dibuang, fraksi asam (air) dibasakan dengan NH₄OH 25% sampai pH 9–10 dan alkaloid difraksi si dengan kloroform sampai tidak berwarna. Rendemen fraksi dihitung.

Fraksinasi Antosianin (Fan *et al.* 2007)

Serbuk umbi dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian ditambahkan campuran pelarut etanol-asam (HCl 1.5 M) dengan nisbah 1:32. Suspensi dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 80 °C selama 1 jam, kemudian disentrifugasi selama 50 menit dengan kecepatan 2500 g. Rendemen supernatan antosianin dihitung.

Fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

Sebanyak 0.5 g fraksi pekat aktif dilarutkan dalam eluen terbaik kemudian dipisahkan komponen-komponennya dalam kolom dengan elusi gradien di antara kedua komponen eluen terbaik. Eluat ditampung setiap 3 mL dalam tabung reaksi. Eluat dengan warna dan pola KLT yang sama digabungkan menjadi satu fraksi dan diuji aktivitas α -glukosidase hingga diperoleh fraksi teraktif.

Uji Inhibisi α -Glukosidase (Sugiwati *et al.* 2009)

Sebanyak 1.0 mg α -glukosidase dilarutkan dalam 10 mL bufer fosfat 100 mM (pH 7.0) kemudian ditambahkan 200 mg BSA yang juga telah dilarutkan dalam bufer fosfat. Sebelum digunakan, 10 mL larutan enzim tersebut diencerkan 25 kali dengan bufer fosfat. Campuran reaksi terdiri atas 25 μ L pNG 20 mM sebagai substrat, 50 μ L bufer fosfat, dan 50 μ L larutan sampel dengan konsentrasi 2.00% dalam DMSO. Campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C, ditambahkan 25 μ L larutan α -glukosidase, kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 100 μ L Na₂CO₃ 200 mM. Hasil reaksi adalah senyawa *p*-nitrofenol yang kemudian dibaca absorbansnya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

gelombang 400 nm. Larutan blangko (tanpa sampel) dibuat dengan perlakuan sama seperti sampel. Tablet akarbosa (Glucobay) dilarutkan dalam bufer fosfat dan HCl 2N (1:1) dengan konsentrasi 1.00% (b/v) digunakan sebagai kontrol positif (larutan stok). Pengenceran dilakukan bila diperlukan. Endapan dikumpulkan dengan sentrifugasi dan supernatan sebanyak 50 µL dimasukkan ke dalam campuran reaksi seperti pada sampel. Hasil reaksi diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 400 nm. Data kontrol positif (akarbosa) digunakan sebagai pembandingan sampel yang diuji.

$$\text{Inhibisi } \alpha\text{-glukosidase (\%)} = \frac{K-S}{K} \times 100\%$$

Keterangan:

K : absorbans blangko (enzim+substrat)

S : absorbans sampel

(sampel+substrat+enzim)

Identifikasi Senyawa dengan FTIR

Sebanyak 0.8 mg sampel (fraksi teraktif yang telah dikeringkan) dihaluskan bersama 0.2004 g KBr dalam mortar agate. Setelah halus dan bercampur, dimasukkan ke dalam alat pencetak pelat KBr dan ditekan hingga diperoleh lempeng transparan. Lempeng dimasukkan ke dalam spektrofotometer FTIR Brucker, dan spektrum digambarkan dalam bentuk kurva transmitans pada bilangan gelombang 4000–400 cm⁻¹.

Hasil dan Pembahasan

Serbuk sampel hasil preparasi diperoleh data kadar air daun dan umbi masing-masing 10.95±0.28% dan 12.86±0.87% (b/b). Kadar abu sampel diperoleh sebesar 5.95±0.01 dan 2.33±0.05% (b/b) bobot basah masing-masing untuk daun dan umbi. Rendemen antosianin yang diperoleh lebih besar daripada alkaloid (Tabel 1). Kandungan fitokimia terdapat pada kedua fraksi alkaloid dan antosianin ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 1 Rendemen fraksi alkaloid dan antosianin yang diperoleh dari daun dan umbi ubi jalar ungu

Fraksi	Rendemen (%b/b)	
	Basah	Kering
Alkaloid (*)	0.15±0.03	0.16±0.03
Antosianin (**)	48.19±2.59	55.30±2.97

Ket : * = fraksi dari daun

** = fraksi dari umbi

Fraksi antosianin umbi yang diperoleh ternyata belum murni karena masih mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, dan antosianidin. Uji antosianidin tidak dilakukan pada fraksi alkaloid karena tidak memperlihatkan warna antosianin, yakni merah, ungu, dan biru. Antosianidin adalah aglikon antosianin yang terbentuk jika antosianin dihidrolisis dengan asam (Harborne 1987) dan antosianidin merupakan pemberi warna antosianin. Meskipun sedikit berbeda dengan Owusu (2008), kandungan fitokimia dalam daun ubi jalar yang diteliti mengandung beta karoten, polifenol flavonoid, antosianin, isoflavon, asam klorogenat, likopen, alfa karoten.

Aktivitas inhibisi α-glukosidase fraksi diperoleh hasil awal, yakni fraksi alkaloid menghambat aktivitas enzim α-glukosidase sebesar 61.88% sedangkan fraksi antosianin hanya menghambat 0.25% (tidak aktif) pada konsentrasi 2.00%. Reaksi pNG (Gambar 1) dapat dihambat oleh fraksi sehingga tidak terjadi perubahan bentuk pNG menjadi α-D- glukosa yang ditandai dengan pembentukan warna kuning p-nitrofenil. Semakin pudar warna kuning maka semakin tinggi daya inhibisi fraksi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi alkaloid aktif sebagai inhibitor α-glukosidase. Oleh karena itu, untuk tahap selanjutnya digunakan fraksi alkaloid dari daun ubi jalar ungu.

Tabel 2 Fitokimia Fraksi kasar

Senyawa	Fraksi alkaloid	Fraksi antosianin
Alkaloid	+++	+++
Flavonoid	+++	++++
Saponin	++++	+++
Terpenoid	–	–
Steroid	++++	–
Tanin	–	–
Antosianidin	Tidak diujikan	++

Keterangan :

++++ = intensitas warna tinggi

+++ = intensitas warna cukup tinggi

++ = intensitas warna sedang

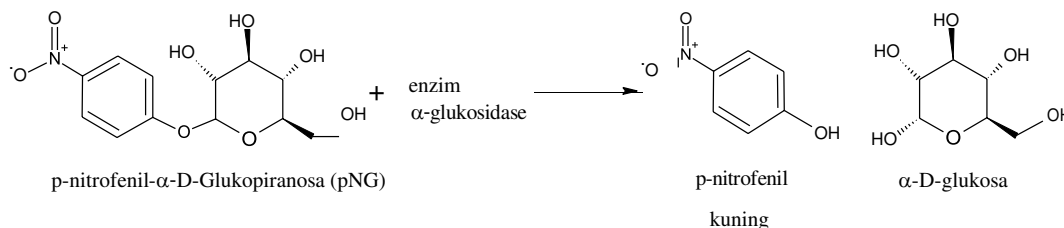
+ = intensitas warna rendah

– = tidak ada warna

Fraksinasi terhadap fraksi alkaloid lebih lanjut dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fase diam dan elusi gradien dilakukan dengan fase gerak berturut-turut kloroform 100%; (kloroform:metanol) 9:1;

8:2; 7:3; 6:4; 5:5; 4:6; 3:7; 2:8; 1:9; dan metanol 100%. Berdasarkan pola kromatografi lapis tipis (KLT) kesamaan warna, bentuk, jumlah dan nilai R_f digabung menjadi 12 fraksi. Penanda

fraksi alkaloid dilakukan dengan pewarnaan fraksi alkaloid (F1-F12) dengan pereaksi Dragendorf memperlihatkan noda yang positif mengandung alkaloid pada F10.



Gambar 1 Mekanisme reaksi penguraian pNG oleh enzim α -glukosidase.

Dilakukan pemisahan lebih lanjut pada F10 (fraksi positif alkaloid) menggunakan KLT preparatif dan menghasilkan 2 noda yang diberi nama F10.16 dan F10.15. Rendemen masing-masing sebesar 14.24% dan 7.75% terhadap fraksi yang dipisahkan dengan kolom. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase F10 pada konsentrasi 1.25% sebesar 48.64%. Fraksi F10.16 memberikan hasil negatif (tidak aktif), sedangkan fraksi F10.15 memiliki aktivitas inhibisi 18.07%. Aktivitas F10 yang lebih besar daripada F10.16 dan F10.15 diduga karena kandungan senyawa selain alkaloid pada F10 juga berperan dalam menghambat kerja enzim α -glukosidase.

Kemampuan inhibisi sampel sebelum dan setelah pemisahan lebih lanjut dengan KLT preparatif masih jauh lebih kecil dibandingkan dengan akarbosa yaitu hanya dengan konsentrasi 0.0383 ppm sudah mampu menghambat 50% populasi (IC_{50}). Akarbosa digunakan sebagai kontrol positif inhibitor enzim α -glukosidase. Fraksi yang memberikan potensi inhibisi positif (F10.15) selanjutnya diidentifikasi dengan FTIR. Identitas senyawa dilakukan uji spektrum FTIR fraksi F10.15 (Gambar 2) menunjukkan gugus $-NH_2^-$, $-OH^-$, dan $-CH_2^-$ berdasarkan perbandingan dengan rujukan (Tabel 3). Karena itu, F10.15 dapat diduga mengandung alkaloid.

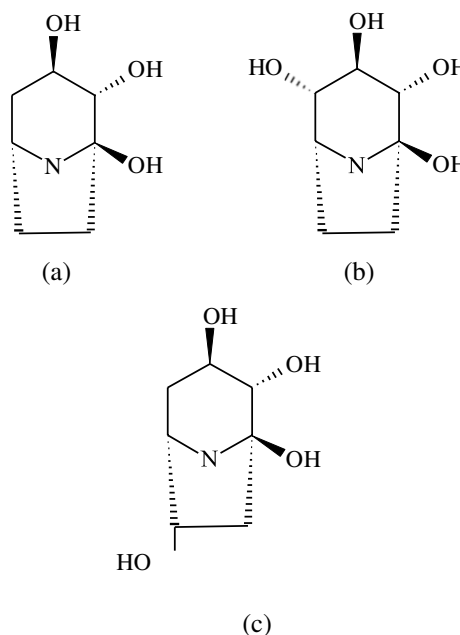
cincin heterosiklik (Harborne 1987). F10.15 diduga mengandung gugus amina ($-NH^-$) yang memberikan serapan bertumpang tindih dengan gugus $-OH$ pada bilangan gelombang 3433.44 cm^{-1} . Intensitas puncak yang kurang tajam diduga menggambarkan kandungan alkaloid yang sedikit pada fraksi F10.15. Cincin heterosiklik diduga ditunjukkan oleh serapan ulur kuat $-CH_2^-$ pada 2924.16 cm^{-1} , meskipun terdapat dugaan $-CH_2^-$ alifatik. Tidak adanya serapan aromatik $-CH^-$ pada 3100-3000 cm^{-1} dan $C=C$ pada 1650-1430 cm^{-1} menunjukkan bahwa F10.15 bukan jenis alkaloid aromatik, melainkan alkaloid alisiklik seperti cincin piperidina (C_4H_9N), piperidina ($C_5H_{11}N$), dan piperizidina ($C_7H_{13}N$) (Pavia *et al.* 2001). Alkaloid alisiklik polihidroksi Convolvuceae (famili *I. batatas*) seperti kalistegin telah dilaporkan dapat digunakan sebagai inhibitor α -glukosidase (Molyneux *et al.* 1993) (Gambar 3).

Tabel 3 Absorpsi inframerah fraksi 10.15 atau F10.15

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Literatur *	Gugus fungsi
3433.44	3500-3200	$-NH^-$
	3700-3000	$-OH^-$
2924.16	3000-2800	$-CH_2^-$

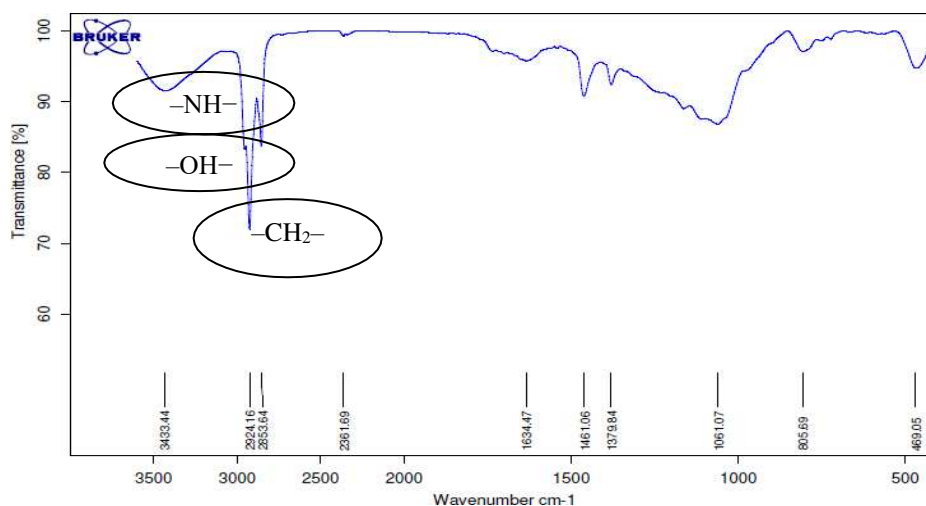
Sumber: Pavia *et al.* (2001)

Alkaloid secara umum mengandung sedikitnya 1 atom N yang bersifat basa dan merupakan bagian dari



Gambar 2 Struktur kalistegin A₃ (a), B₂ (b), dan B₁(c).

Struktur alkaloid polihidroksi yang mirip dengan gula membuat mekanisme inhibisi yang terjadi adalah kompetitif. Fraksi alkaloid (F10.15) yang berwarna kuning pucat dapat berlomba dengan substrat (pNG) untuk berikatan dengan tapak aktif enzim α -glukosidase, namun setelah terikat F10.15 tidak dapat diubah oleh enzim tersebut untuk membentuk produk.



Gambar 3 Spektrum FTIR F10.15

Simpulan

Fraksi alkaloid kasar dari daun ubi jalar ungu pada konsentrasi 2,00% dapat menghambat enzim α -glukosidase sebesar 61,88%. Nilai aktivitas inhibisi ini jauh lebih besar dibandingkan hasil inhibisi pada fraksi alkaloid F10 dan F10.15 masing-masing sebesar 48,64% dan 18,07% pada konsentrasi 1,25%. Fraksi F10.15 diduga mengandung alkaloid mirip senyawaan gula dan berpotensi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

Pustaka

[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2006. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Ed ke-18. Washington DC: AOAC International.

Berkov S, Chilpa R, Codina C, Viladomat F, Bastida J. 2007. Revised NMR data for incartine: an alkaloid from *Galanthus elwesii*. *Molecules* 12:1430-1435.

Fan G, Han Y, Gu Z, Chen D. 2007. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from

purple sweet potato using response surface methodology (RSM). *Swiss Soc Food Sci Technol* 41:155-160.

Foster K, Powell, Holt SHA, Brand JC, Miller. 2002. Revised International Table of Glycemic Index (GI) and Glycemic Load (GL) Values-2002. *Am J Clin Nutr* 7:5-56.

Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Niksolihi S, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.

Jarald E, Joshi SB, Jain DC. 2009. Biochemical study on the hypolycaemic of extract and fraction of acacia catechu willd in alloxan-induced diabetic rats. *J Diabetes & Metabolism* 1:69.

Lien DN, Phuc DV, Lien PQ, Trang NT, Kien TT, Lien TTP, Tien KD. 2010. Effect of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) leaf extract on hypoglycemia, blood insulin secretion, and key carbohydrate metabolic enzymes in experimentally obese and STZ-inuced diabetic mice. *VNU J Sci, Nat Sci Technol* 27:118-124.

Malathi V, Devi SS, Revathi K. 2010. Anti diabetic activity by the *in vitro* alpha amylase and alpha-glucosydase inhibitory activity of *Catharanthus*

roseus. Int Quarterly J Life Sci The Bioscan
5(4):655-659.

Molyneux RJ, Pan YT, Goldmann A, Tepfer DA, Elbein AD. 1993. Calystegins, a novel class of alkaloid glycosidase inhibitors. *Arch Biochem Biophys* 304(1):81-88.

Owusu D. 2008. Nutritional Potential of two leafy vegetables: *Moringa oleifera* and *Ipomoea batatas* leaves. *Sci Res and Essay* 3(2):057-060.

Pavia, DL, Lampman GM, Kris GS, Vyvyan JR. 2001. *Introduction to Spectroscopy: A Guide for Student of Organic Chemistry*. Ed ke-3. Philadelphia: Saunders Coll.

Pochapski MT, Fosquiera EC, Esmerino LA, dos Santos EB, Farago PV, Santos FA, Groppo FC. 2011. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activities of the crude leaves extract from *Ipomoea batatas (L.) Lam.* *Pharmacognosy Magazine* 26:165-190.

Suda I, Oki T, Masuda M, Kobayashi M, Nishiba Y, Furuta S. 2003. Physiological functionality of purple-fleshed sweet potatoes containing anthocyanins and their utilization in foods [review]. *Japan Agric Res Quarterly* 37(3):167-173.

Sugiwati S, Setiasih S, Afifah E. 2009. Antihyperglycemic activity of the mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa (scheff.) Boerl.*] leaf extracts as an alpha-glucosidase inhibitor. *Makara Kesehatan* 13:74-78.

Takikawa M, Inoue S, Horio F, Tsuda T. 2010. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. *J Nutr Dis* 140:527-533.