

UJI AKTIVITAS INHIBISI ENZIM α -Glukosidase TERHADAP EKSTRAK ASETON, ETANOL, DAN METANOL DAUN MANGROVE (*Rhizophora mucronata*) SEBAGAI ANTIDIABETES

INHIBITION ACTIVITY OF α -Glucosidase ENZYME OF EXTRACTS ACETONE, ETHANOL, AND METANOL MANGROVE (*Rhizophora mucronata*) LEAF AS ANTIDIABETIC

Like Efriani^{1*}, Ismanurrahman Hadi¹, Ade Irawan¹, Mariam Ulfah¹, Teguh Adiyas Putra¹

¹ Program Studi Farmasi STIKes Muhammadiyah Cirebon

*Email Corresponding : apt.likeefriani@gmail.com

Submitted: 30 November 2022 Revised: 12 September 2023 Accepted: 18 October 2023

ABSTRAK

Diabetes mellitus tipe II merupakan kelainan metabolik yang disebabkan karena ketidakmampuan pankreas untuk memproduksi insulin sehingga menyebabkan hiperglikemia. Akarbose menjadi salah satu obat dalam pengobatan dari diabetes mellitus dengan cara menghambat inhibisi enzim α -glukosidase. Tanaman mangrove (*Rhizophora mucronata*) diketahui mempunyai senyawa fitokimia dengan berbagai aktivitas farmakologis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak metanol, etanol, dan aseton daun mangrove. Penelitian ini dilakukan dengan memaserasi simplisia daun mangrove pada pelarut metanol, etanol, dan aseton. Maserat yang didapatkan, diujikan secara kualitatif untuk mengidentifikasi kandungan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid, lalu dilanjutkan dengan mengujikan inhibisi aktivitas dari enzim α -glukosidase dengan konsentrasi ekstrak 0,5; 1; 1,5; 2; dan 3 mg/mL menggunakan Microplate Elisa Reader dan dilanjutkan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 405 nm. Hasil yang didapatkan menunjukkan maserat dari ketiga jenis pelarut tersebut terbukti memiliki kandungan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Uji aktivitas inhibisi menunjukkan aktivitas inhibisi dari ekstrak metanol (3,5 mg/mL), etanol (2,6 mg/mL), dan aseton (2,1 mg/mL). Ekstrak aseton memiliki aktivitas inhibisi paling baik karena semakin kecil nilai IC₅₀ maka semakin baik aktivitas inhibisi pada enzim α -glukosidase. Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton mangrove memiliki aktivitas inhibisi paling baik dibandingkan kedua ekstrak lainnya.

Kata kunci: *Rhizophora mucronata*; α -glukosidase; Diabetes Mellitus; Antidiabetes

ABSTRACT

Type II diabetes mellitus is a metabolic disorder caused by the inability of the pancreas to produce insulin, causing hyperglycemia. Acarbose could be used to treat diabetes mellitus by the inhibition mechanism of the α -glucosidase enzyme. Mangrove plants (*Rhizophora mucronata*) are known to have phytochemical compounds with various pharmacological activities. The purpose of this study was to obtain information on the inhibitory activity of the α -glucosidase enzyme from metanol, ethanol, and acetone extracts of mangrove leaves. This research was conducted by macerating mangrove leaves in methanol, ethanol, and acetone. The macerate was tested qualitatively to identify the content of alkaloids, flavonoids, saponins, and terpenoids, then continued by testing the inhibition of the activity of the α -glucosidase enzyme with an extract concentration of 0.5; 1; 1.5; 2; and 3 mg/mL.

using a microplate elisa reader and followed by absorbance measurements with a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 405 nm. The results showed that macerate from the three types of solvents contains alkaloids, flavonoids, saponins, and terpenoids. The inhibition activity showed promising inhibition activity of metanol extract (3.5 mg/mL), ethanol (2.6 mg/mL), and acetone (2.1 mg/mL). These results showed the acetone extract has a better inhibitory effect than ethanol and metanol. Based on this, it can be concluded that mangrove acetone extract has the best inhibitory activity compared to the other two extracts.

Keyword: *Rhizophora mucronata*; α -glukosidase; Diabetes Mellitus; Antidiabetic

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang menyebabkan tingginya kadar gula dalam darah sehingga memicu munculnya berbagai macam gejala klinis. Pada tahun 2017, penyakit ini menyebabkan empat juta kematian dan merupakan satu dari sepuluh penyebab kematian pada orang dewasa. Terdapat 537 juta orang di dunia menderita diabetes dan diprediksi akan meningkat mencapai 643 juta di tahun 2030 dan 783 juta di tahun 2045 (*International Diabetes Federation, 2021*), dari data tersebut menunjukkan peningkatan prevalensi diabetes mellitus yang menyebabkan peningkatan penggunaan obat antidiabetes di masyarakat (*Baynest, 2015*). Akarbose merupakan salah satu pengobatan oral diabetes mellitus tipe II. Obat ini bekerja dengan menghambat enzim α -glukosidase yang berfungsi menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa sehingga terjadi penundaan penyerapan glukosa (*Khatri & Juvekar, 2014*). Namun, penggunaan akarbose pada sebagian orang menyebabkan munculnya gangguan pada sistem saluran pencernaan seperti mual, muntah, nyeri perut, dan kembung (*Dinicolantonio et al., 2015*).

Berbagai penelitian terkait pemanfaatan bahan alam sebagai pengganti obat konvensional sudah banyak dilakukan. Tumbuhan *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki senyawa fitokimia yang berpotensi dimanfaatkan sebagai kandidat alternatif beberapa obat konvensional. Tumbuhan ini memiliki habitat di muara atau pesisir pantai. Pemanfaatan empiris tumbuhan *mangrove* di antaranya adalah pada obat tradisional untuk pengobatan diare, asma, demam, bengkak, rematik, dan penyakit kulit (*Arbiastutie et al., 2021*). Tumbuhan ini mengandung beberapa senyawa fitokimia yang diketahui memiliki aktivitas farmakologis seperti *betulinic acid* (antikanker), triterpenoid botulin, dan avicenol (antibakteri), golongan *phenolic taraxerol*, rhizophorin A-C (antioksidan) (*Das et al., 2015; Hadi et al., 2022*).

Senyawa metabolik sekunder yang terkandung di dalam daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) di antaranya alkaloid, flavonoid, tanin, fenolik, saponin, dan steroid/triterpenoid yang berpotensi sebagai pengobatan diabetes mellitus (*Sain et al., 2020*). Senyawa metabolit sekunder polifenol (flavonoid) dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase sehingga terjadi penurunan hiperglikemia postprandia. Dari pemaparan di atas bagian daun tumbuhan *mangrove* mengandung banyak senyawa metabolit terutama senyawa polifenol sehingga perlu adanya pengujian lebih lanjut mengenai daun *Rhizophora mucronata* sebagai antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu rotary evaporator Buchi, waterbath, Microplate Elisa Reader, Spektrofotometri UV-Vis. Bahan yang digunakan yaitu simplisia daun *mangrove*. Pelarut yang digunakan yaitu aseton (Merck), etanol 96% (Merck), metanol (Merck). Media yang digunakan yaitu *p-nitrofenil- α -D-glukopiranosid* (pNPG) sebagai substrat, enzim yang digunakan yaitu α -glukosidase (Sigma-aldrich).

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Daun Mangrove

Daun *mangrove* diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut aseton, etanol, dan metanol secara berulang selama 3×24 jam pada suhu ruang dan dilakukan

remaserasi setiap 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya maserat masing-masing pelarut dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*.

2. Skrining Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat di dalam daun *mangrove*. Pengujian ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* dilakukan secara terpisah. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji fenolik, flavonoid, terpenoid, dan alkaloid.

a. Uji Alkaloid

Ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) masing-masing sebanyak 0,5 g dilarutkan dengan 60 mL aseton, selanjutnya dibagi menjadi 6 bagian, masing-masing ditambahkan HCl, 3 bagian yang pertama diberi 3 tetes pereaksi Mayer, 3 bagian kedua diberi 3 tetes pereaksi Wagner. Perubahan yang terjadi diamati (Ikalinus *et al.*, 2015).

b. Uji Flavonoid

Ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) masing-masing sebanyak 0,5g dilarutkan dengan 30 mL aseton, lalu dibagi menjadi 3 bagian, 2 mL pereaksi NaOH 10% ditambahkan pada masing-masing ekstrak. Perubahan yang terjadi diamati (Ikalinus *et al.*, 2015).

c. Uji Saponin

Ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) masing-masing sebanyak 0,5g dilarutkan dengan 30 mL aseton, lalu dibagi menjadi 3 bagian. 5 mL akuades ditambahkan ke masing-masing ekstrak kemudian dikocok. Selanjutnya beberapa tetes HCl ditambahkan pada masing-masing ekstrak. Perubahan yang terjadi diamati (Meigaria *et al.*, 2016).

d. Uji Terpenoid

Ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora Mucronata*) masing-masing sebanyak 0,5g dilarutkan dengan 30 mL aseton, kemudian dibagi menjadi 3 bagian, setiap bagian ditambahkan 2 mL kloroform dan 1 mL anhidrida asam asetat. Setelah itu ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 1 mL melalui dinding tabung reaksi. Perubahan yang terjadi diamati (Sholikhah, 2016).

3. Uji Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase

Aktivitas inhibisi pada enzim α -glukosidase dilakukan berdasarkan metode uji (Kim *et al.*, 2005). Uji dilakukan dengan enzim α -glukosidase (berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*) dan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (pNPG) sebagai substrat. Sejumlah 100 μ L enzim α -glukosidase (1,0 unit/mL) di pre-inkubasi dengan 50 μ L dari konsentrasi ekstrak dengan konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; dan 3 mg/mL selama 10 menit dengan 3 kali pengulangan. Selanjutnya, 50 μ L pNPG (3,0 mM) dilarutkan ke dalam 20 mM larutan buffer fosfat (pH 6,9) ditambahkan ke dalam campuran untuk menginisiasi reaksi, lalu diinkubasi suhu 37°C selama 20 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 mL Na₂CO₃ (0,1 M). Aktivitas enzim α -glukosidase ditentukan dengan mengukur warna kuning dari para-nitrofenol yang dilepaskan oleh pNPG pada panjang gelombang 405 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Akarbose digunakan sebagai kontrol positif. Presentase aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dapat dihitung dengan persamaan :

$$(\text{Absorpsi kontrol} - \text{Absorpsi sampel} / \text{Absorpsi kontrol}) \times 100$$

Setelah dilakukan perhitungan IC₅₀ melalui persamaan regresi linear $y = a+bx$ dimana sumbu x adalah konsentrasi sampel dan sumbu y adalah inhibisi, maka nilai IC₅₀ dihitung menggunakan rumus berikut :

$$IC_{50} = (50-a) / b$$

Analisis Data

Data yang diperoleh dari uji aktivitas enzim α -glukosidase adalah presentasi aktivitas inhibisi dan dianalisis menggunakan metode uji *oneway* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tiga jenis ekstrak berbeda dari sampel daun *mangrove*. Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove*. Perbedaan pelarut yang digunakan bertujuan untuk melihat perbedaan senyawa metabolit yang terkandung dan perbedaan inhibisi enzim α -glukosidase dari ketiga pelarut tersebut. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) yaitu alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan tanin berpotensi sebagai antidiabetes ([Sain et al., 2020](#)).

Pengujian skrining fitokimia ekstrak daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) menunjukkan positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan terpenoid. Hasil uji fitokimia dapat terlihat pada [Tabel I](#).

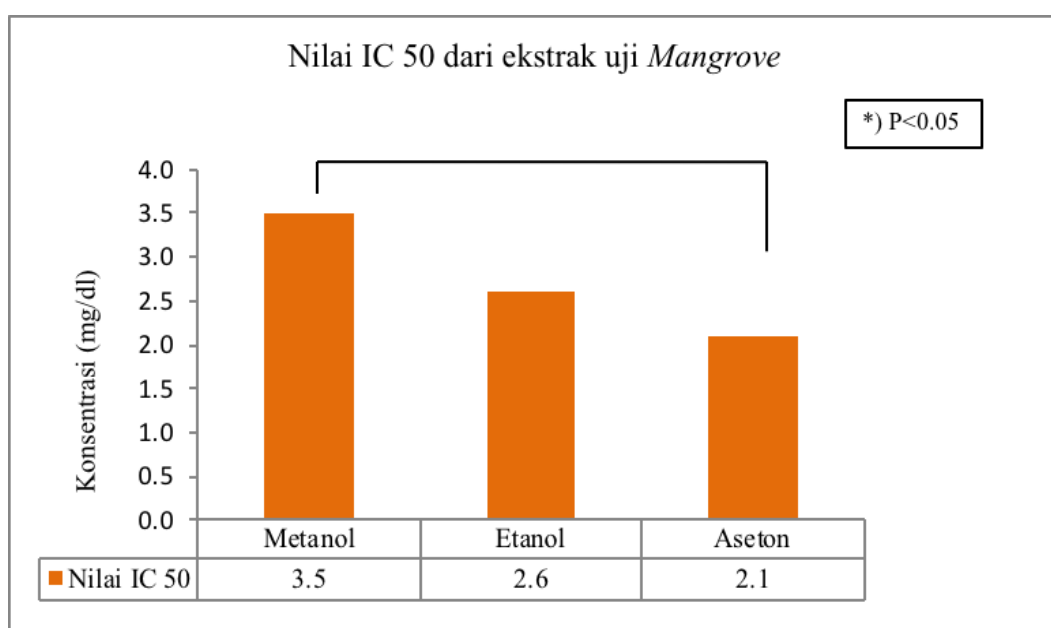
Tabel I. Hasil Uji Fitokimia Pada Ekstrak Etanol, Metanol dan Aseton

Golongan	Pereaksi	Ekstrak	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Metanol	Positif	Terdapat endapan putih
		Etanol	Positif	Terdapat endapan putih
		Aseton	Positif	Terdapat endapan putih
	Wagner	Metanol	Positif	Terdapat endapan coklat
		Etanol	Positif	Terdapat endapan coklat
		Aseton	Positif	Terdapat endapan coklat
Flavonoid	NaOH	Metanol	Positif	Terdapat warna merah kecoklatan
		Etanol	Positif	Terdapat warna merah kecoklatan
		Aseton	Positif	Terdapat warna merah kecoklatan
Saponin	HCl	Metanol	Positif	Terdapat busa
		Etanol	Positif	Terdapat busa
		Aseton	Positif	Terdapat busa
Terpenoid	H ₂ SO ₄	Metanol	Positif	Perubahan warna menjadi merah
		Etanol	Positif	Perubahan warna menjadi merah
		Aseton	Positif	Perubahan warna menjadi merah

Pengujian alkaloid menggunakan pereaksi *Mayer* dan *Wagner* menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya endapan putih (*Mayer*) dan endapan coklat (*Wagner*). Endapan putih tersebut merupakan hasil dari nitrogen yang ada pada alkaloid bereaksi dengan ion logam K⁺ dari kalium tetraiodomerkurat (II), reaksi ini kemudian membentuk kompleks antara kalium dengan alkaloid, sedangkan pereaksi *Wagner* menunjukkan hasil positif ditandai dengan endapan berwarna coklat. Endapan coklat merupakan ion I₃⁻ terbentuk dari reaksi iodin dengan ion I⁻ dari kalium iodin ([Sholikhah, 2016](#)). Pada uji hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah, perubahan warna ini merupakan hasil dari reaksi sampel yang ditambahkan dengan NaOH membentuk asetofenon. Warna merah yang ditunjukkan pada pengujian flavonoid ini merupakan flavonoid golongan fenol ([Sholikhah, 2016](#)).

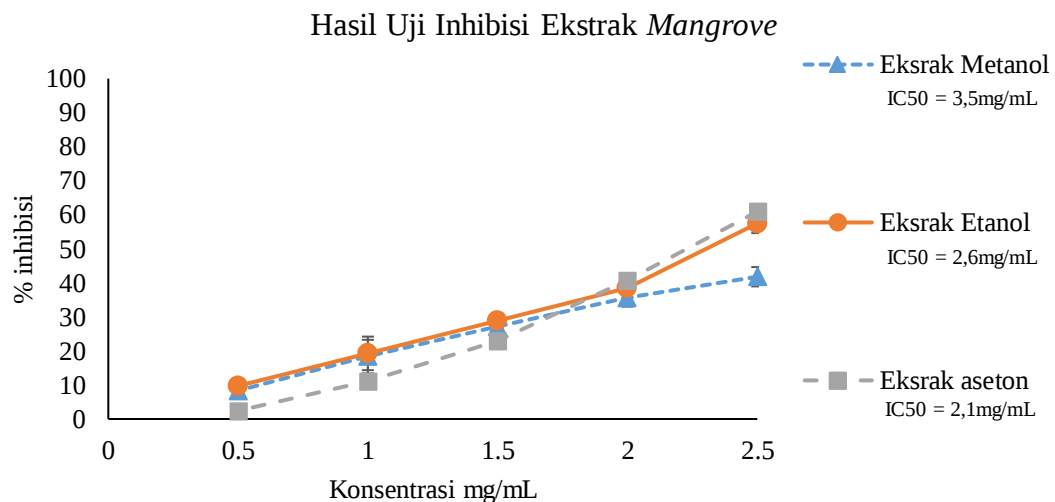
Hasil uji saponin menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa stabil akibat dari adanya glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain yang membentuk tegangan permukaan pada air. Pada uji fitokimia terpenoid didapatkan hasil positif dengan adanya perubahan warna menjadi merah. Perubahan tersebut merupakan reaksi esterifikasi pembentukan senyawa ester oleh senyawa terpenoid dari hasil reaksi dari anhidrida asetat dengan asam maka karbon C pada anhidrida terbentuk karbokation bereaksi dengan atom O pada gugus -OH pada senyawa terpenoid ([Sholikhah, 2016](#)).

Pengujian terhadap ekstrak *mangrove* dilanjutkan pada pengujian terhadap persentase aktivitas inhibisi pada enzim α -glukosidase. Uji dilakukan secara *in vitro* menggunakan ketiga sampel ekstrak aseton, etanol, dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*). Hasil pengujian menunjukkan adanya aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase yang beragam. Konsentrasi aktivitas inhibisi tertinggi berturut-turut adalah dari ekstrak metanol (3,5 mg/mL), etanol (2,6 mg/mL), dan aseton (2,1 mg/mL). Semakin kecil konsentrasi yang mampu memberikan efek farmakologis menunjukkan semakin poten efek dari ekstrak yang dipakai. Berdasarkan hal tersebut, maka ekstrak aseton memiliki kemampuan inhibisi paling baik diikuti dengan ekstrak etanol dan metanol. Hal ini terlihat dari nilai IC_{50} yaitu ekstrak aseton 2,1 mg/mL, ekstrak etanol 2,6 mg/mL dan ekstrak metanol 3,5 mg/mL. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase ekstrak aseton dan ekstrak metanol berbeda signifikan namun ekstrak aseton dengan ekstrak etanol tidak berbeda signifikan. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin baik atau aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase. Nilai IC_{50} dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Nilai IC_{50} ekstrak aseton, etanol, dan metanol

Enzim α -glukosidase merupakan enzim pengkatalis pemotong ikatan glikosidik pada oligosakarida yang bekerja spesifik memotong ikatan glikosidik di dalam molekul gula. Pada saat konsentrasi kadar gula dalam darah tinggi atau melebihi normal (hiperglikemia) maka penghambatan enzim α -glukosidase dapat membantu mengatasi kondisi hiperglikemia dengan mengurangi jumlah monosakarida yang diserap oleh usus (Early Febrinda *et al.*, 2013). Aktivitas inhibisi yang didapat menunjukkan pola peningkatan efek sesuai dengan menurunnya kepolaran sehingga menimbulkan perbedaan dari adanya efek farmakologis tersebut (Early Febrinda *et al.*, 2013). Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase terhadap ekstrak aseton, etanol, dan metanol ekstrak daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*) dapat terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase ekstrak aseton, etanol, dan metanol ekstrak daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*)

KESIMPULAN

Berdasarkan pengujian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dapat disimpulkan bahwa ekstrak aseton memiliki aktivitas inhibisi paling baik diikuti oleh ekstrak etanol dan metanol daun *mangrove* (*Rhizophora mucronata*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi, Riset dan teknologi dari Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi yang telah membiayai penelitian ini melalui program pendanaan penelitian program kompetitif nasional.

DAFTAR PUSTAKA

- Arbiastutie, Y., Diba, F., & Masriani. (2021). Ethnobotanical and Ecological Studies of Medicinal Plants in a Mangrove Forest in Mempawah District, West Kalimantan, Indonesia. *Biodiversitas*, 22(6), 3164–3170. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220619>
- Baynest, H. W. (2015). Classification, Pathophysiology, Diagnosis, and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 06(05). <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>
- Das, G., Gouda, S., Mohanta, Y.K., Patra, J.K., (2015). Mangrove Plants: A Potential Source for Anticancer Drugs. *IJMS*, 44(05).
- Dinicolantonio, J. J., Bhutani, J., & O'keefe, J. H. (2015). Acarbose: Safe and Effective for Lowering Postprandial Hyperglycaemia and Improving Cardiovascular Outcomes. *Open Heart*, 2, 327. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2015>
- Early Febrinda, A., Astawan, M., Wresdiyati, T., & Dewi Yuliana, N. (2013). Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2), 161–167.
- Hadi, I., Irawan, A., Ulfah, M., Adiyas Putra, T., Efriani, L., Ilal Haq, M., & Rifki Purnama, M. (2022). Potential of Several Phytochemicals of Mangrove Species (*Rhizophora stylosa*) as Inhibitor of Both Viral Gene Expression and Bacterial Nucleic Acid Synthesis. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 10(1).
- International Diabetes Federation. (2021). IDF Diabetes Atlas, 10th ed. Brussels, Belgium: *International Diabetes Federation*.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 77.
- Khatrri, D. K., & Juvekar, A. R. (2014). α -glucosidase and α -amylase Inhibitory Activity of

- Indigofera cordifolia* Seeds and Leaves Extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 152–155.
- Kim, Y. M., Jeong, Y. K., Wang, M. H., Lee, W. Y., & Rhee, H. I. (2005). Inhibitory Effect of Pine Extract on Alpha-Glucosidase Activity and Postprandial Hyperglycemia. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 21(6), 756–761. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2004.10.014>
- Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. (2016). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Aseton Daun Kelor (*Moringa oleifera*). *Wahana Matematika Dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, Dan Pembelajarannya*, 10(2), 1–11. <https://doi.org/10.23887/WMS.V10I2.12659>
- Sachithanandam, V., Lalitha, P., Parthiban, A., Mageswaran, T., Manmadhan, K., Sridhar, R., & Patra, J. K. (2019). A Review on Antidiabetic Properties of Indian Mangrove Plants with Reference to Island Ecosystem. <https://doi.org/10.1155/2019/4305148>
- Sholikhah, R. M. (2016). Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi N-Heksan Ekstrak Rumpun Bambu (*Lophantherum gracile* Brongn.) dengan Metode UPLC-MS. *Skripsi*, 61–62.
- Usman, U. (2018). Phytochemical Test and Antibacterial Test of *Rhizophora apiculata* Mangrove-Root against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Bacteria. *JKPK Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 2(3), 169.