

***In Vitro* α -Glucosidase Inhibitory Activity of Ethanol Extract of Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn)**

Inhibasi α -Glukosidase Ekstrak Etanol Buas-buas (*Premna Serratifolia* Linn) secara *In Vitro*

Dini Hadiarti*

* Department of Chemistry Education, Universitas Muhammadiyah Pontianak, Jln. Ahmad Yani No 111, Pontianak, Indonesia

ABSTRACT

*In 2008, diabetics in Indonesia has reached 8,5 million of 11,1 % prevalence in West Kalimantan. It was estimated to reach 14,1 million in 2035. The treatment of diabetes may occur adverse reactions such as hypoglycemia, lipoatrophy, lipohypertrophy, lactic acidosis, gastrointestinal disturbances, allergic reactions, and obesity. Therefore, it is necessary to find an alternative medicine to overcome this problem. Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn) could supposedly be an anti diabetic by inhibiting the α -glucosidase enzyme, due to the compositions of secondary metabolites, cardioprotective activity and it has a similar genus with *Premna serratifolia* Linn. The soxhlet extraction result from *Premna serratifolia* Linn leaf powders produced of 34,1 % yield. Meanwhile, the activity of α -glucosidase in vitro inhibition test with microplate reader in various concentrations of samples of 0,125, 0,5, 1, 1,5, 2, dan 2,5 2% (b/v) were obtained the absorptions of 37,95, 74,77, 86,15, 91,03 and 91,69 %, respectively. The extraction of *Premna serratifolia* Linn leaf revealed that the concentration of 2 % of sample inhibited in vitro α -glucosidase with a percentage of 91,03 %. The extraction of *Premna serratifolia* Linn leaf inhibited α -glucosidase of 97 % from the percentage of Acarbose inhibition.*

Key words : *Inhibition of α -glukosidase, in vitro, *Premna serratifolia* Linn*

ABSTRAK

*Penderita diabetes di Indonesia mencapai 8,5 juta jiwa pada tahun 2008 dengan prevalensi di Kalimantan Barat sebesar 11,1% dan diperkirakan tahun 2035 menjadi 14,1 juta jiwa. Pengobatan diabetes menimbulkan efek samping seperti hipoglikemia, lipoatrofi, lipohipertrofi, asidosis laktat, gangguan gastrointestinal, alergi, dan obesitas sehingga perlu ditemukan obat baru mengatasi permasalahan ini. Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn) diduga dapat berperan sebagai antidiabetes dengan menghambat enzim α -glukosidase. Kandungan metabolit sekunder, aktivitas kardiprotektif, dan tanaman yang memiliki genus yang sama dengan *Premna serratifolia* Linn semakin menguatkan dugaan tersebut. Hasil ekstraksi dengan soxhletasi serbuk daun *Premna serratifolia* Linn diperoleh randemen 34,1%. Uji aktivitas inhibisi α -glukosidase secara in vitro dengan microplate reader dengan variasi konsentrasi 0,125, 0,5, 1, 1,5, 2, dan 2,5% (b/v) diperoleh absorpsi secara berturut-turut 37,95, 74,77, 86,15, 91,03, dan 91,69%. Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dapat menghambat α -glukosidase secara in vitro pada konsentrasi 2% dengan persentase sebesar 91,03%. Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dapat menghambat α -glukosidase 97% dari persentase inhibisi Acarbose.*

Kata kunci ; *Inhibisi α -glukosidase, in vitro, *Premna serratifolia* Linn*

PENDAHULUAN

Penderita diabetes di Indonesia mencapai 8,5 juta jiwa pada tahun 2008 dengan prevalensi di Kalimantan Barat sebesar 11,1%. (Depkes RI, 2008). Diabetes akut menyebabkan penyakit seperti hipertensi, stoke, gagal ginjal, disfungsi mata dan syaraf (ADA, 2012). Pengobatan diabetes dengan inhibitor α -glukosidase menimbulkan efek samping hipoglikemia,

lipoatrofi, lipohipertrofi, asidosis laktat, gangguan gastrointestinal, reaksi alergi, dan obesitas (BPOM, 2009). Efek samping yang ditimbulkan menyebabkan penderita diabetes harus berkonsultasi dengan dokter (Kavishankar *et al.*, 2011).

Alternatif pengobatan lain yang dapat dilakukan bagi penderita diabetes dengan penggunaan obat herbal. Tanaman dengan kandungan steroid, alkaloid, polifenol, saponin, triterpen dan flavanoid dapat berfungsi sebagai

Correspondence author: Dini Hadiarti
Email : dinihadiarti@yahoo.com

inhibitor enzim α -glukosidase pada penderita diabetes tipe 2 (Nagmoti *et al.*, 2013). Kandungan metabolit tersebut juga terdapat pada Buas-buas (*Premna serratifolia* Linn) seperti alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin, terpenoid, dan fenolik (Wahyuni *et al.*, 2014). Metabolit sekunder yang terdapat pada *Premna serratifolia* Linn dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat, yaitu : stimulus jantung (Rajendran R *et al.*, 2008), hepatoprotektif pada daun (Vadivu R *et al.*, 2009) dan ekstrak akarnya (Sigh CR *et al.*, 2011), ekstrak etanol kulit kayu dan kayu memiliki efek kardioprotektif (Rajendran R and Basha NS, 2008).

Tanaman dengan genus yang sama dengan *Premna serratifolia* Linn seperti *Premna oblongifolia* Merr telah terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang mengalami hiperglikemia (Rizki PR *et al.*, 2015). Selain itu Majumder R *et al.* (2014) membuktikan ekstrak metanol kulit batang *Premna integrifolia* berfungsi sebagai antidiabetes. Aktivitas *Premna oblongifolia* Merr dan *Premna integrifolia* sebagai antidiabetes diyakini dapat dimiliki oleh ekstrak etanol *Premna serratifolia* Linn. Ekstrak etanol kulit kayu dan kayu *Premna serratifolia* Linn yang memiliki efek kardioprotektif (Rajendran R and Basha NS, 2008) dan salah satu resiko pemicu kardio adalah hiperglikemia akut (Li *et al.*, 2012). Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan aktivitas inhibisi α -glukosidase *Premna serratifolia* Linn secara *in vitro* sebagai alternatif pengobatan lain bagi penderita diabetes.

METODELOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan berupa evaporator, desikator, sentrifugator, alat gelas, dan *microplate reader*. Bahan yang digunakan berupa Daun *Premna serratifolia* Linn, etanol, aluminium foil, aquadest, enzim α -glukosidase, p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG), larutan bufer fosfat pH 7, bovine serum albumin, akarbosa, dimetilsulfoksida (DMSO), HCl 2N, dan Na₂CO₃.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Daun Buas-buas (Rajendran, 2008; Wahyuni S *et al.*, 2014)

Daun *Premna serratifolia* Linn dicuci bersih dan dikeringkan. Setelah kering, dihaluskan menggunakan *dry blender* dan ditimbang. Kemudian diekstrak menggunakan soxhlet dengan pelarut etanol. Ekstrak yang diperoleh dievaporasi, ditimbang, selanjutnya disimpan dalam desikator silika gel (Elin *et al.*, 2006).

Uji Inhibisi α -Glukosidase (Sugiwati *et al.*, 2009; Purwatresna, 2012)

Larutan enzim dibuat dengan melarutkan 1.0 mg enzim α -glukosidase dalam larutan bufer fosfat (pH 7) yang mengandung 200 mg bovine serum albumin. Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dilarutkan dalam DMSO hingga konsentrasi 0,125, 0,5, 1, 1,5, 2, dan 2,5 % (b/v). Penghentian reaksi enzim substrat dilakukan dengan penambahan Na₂CO₃ 200 mM. Sistem reaksi seperti pada Tabel 1 disiapkan pada *microplate reader*. Larutan diukur absorbansinya pada λ 400 nm.

Tabel I. Sistem Reaksi Inhibisi α -glukosidase

	Blanko	C	S ₀	S ₁
Ekstrak (μ L)	-	-	1	1
DMSO (μ L)	1	1	-	-
Buffer (μ L)	49	49	49	49
Subtrat	25	25	25	25
Inkubasi 37 °C 5 menit				
Buffer (μ L)	25	-	25	--
Enzim (μ L)	-	25	-	25
Inkubasi 37 °C 15 menit				
Na ₂ CO ₃ (μ L)	100	100	100	100

Keterangan:

Blanko = sistem reaksi tanpa adanya ekstrak dan enzim; C= campuran tanpa ekstrak; S₀ = campuran tanpa enzim namun dengan ekstrak; S₁ = campuran dengan enzim dan ekstrak

Akarbosa (Glukobay®) sebagai kontrol positif dilarutkan dalam bufer dan HCl 2 N (1:1) dengan konsentrasi 1% (b/v) kemudian disentrifus. Supernatan diambil sebanyak 1 μ L dan dimasukkan dalam campuran reaksi seperti ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Daun *Premna serratifolia* Linn diekstrak dengan etanol p.a secara soxhletasi dengan nisbah ekstrak dan pelarut 1:3. Rendemen yang diperoleh 62% dengan berat ekstrak 620 gram dari 1 kg daun *Premna serratifolia* Linn basah.

Uji inhibisi α -glukosidase dilakukan pada kondisi optimum kinerja α -glukosidase, yaitu pada pH 7, suhu 37°C, dan waktu inkubasi selama 15 menit. Aktivitas inhibisi α -glukosidase dilakukan dengan *microplate reader* pada λ 400 nm. Ekstrak dibuat dalam lima variasi konsentrasi yaitu dari 0,125, 0,5, 1, 2, dan 2,5 % sehingga dapat melihat hubungan penambahan konsentrasi ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn terhadap daya inhibisi yang dicapai.

Glucobay® sebagai kontrol positif merupakan obat oral antidiabetes tipe 2, bekerja dengan menghambat α -glukosidase. Glucobay® mengandung Akarbosa yang merupakan senyawa oligosakarida dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis* dengan rumus molekul $C_{25}H_{43}NO_{18}$. Senyawa ini merupakan inhibitor kompetitif potensial dari enzim α -glukosidase yang bekerja *brush border* untuk memecah pati, dekstrin, maltose, dan sukrosa hingga menghasilkan monosakarida yang dapat dicerna. Efek samping yang dirasakan penderita diabetes mellitus tipe 2 berupa flatulensi, diare, dan sakit perut (Hollander *et al.*, 1997). Hasil uji inhibisi α -glukosidase dari ekstrak Daun *Premna serratifolia* Linn disajikan pada tabel 2.

Tabel 2. Persentase Inhibisi α -glukosidase oleh Ekstrak Daun *Premna serratifolia* Linn

Konsentrasi (%)	Inhibisi (%)
0.125	37,95 \pm 0.69
0.5	74,77 \pm 0.79
1	86,15 \pm 1.12
2	91,03 \pm 0.46
2.5	91,69 \pm 0.95

*Pengukuran inhibisi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi

Persentase inhibisi tertinggi pada konsentrasi ekstrak *Premna serratifolia* Linn 2.5%, yaitu sebesar 91,69%. Persentase inhibisi meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn. Signifikansi perbedaan inhibisi antar konsentrasi ekstrak diketahui dengan melakukan analisis ANOVA satu arah. Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa inhibisi antar konsentrasi berbeda signifikan dengan *value* sebesar 0.00007 ($\alpha=0.05$). Peningkatan daya inhibisi terjadi karena pada konsentrasi tinggi terdapat lebih banyak zat terlarut berupa metabolit sekunder dari daun *Premna serratifolia* Linn yang memiliki kemampuan menghambat aktivitas α -glukosidase. Peningkatan persentase inhibisi sangat memungkinkan metabolit sekunder saling memberikan pengaruh sinergis sebagai inhibitor α -glukosidase pada konsentrasi tertentu.

Metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak Daun *Premna serratifolia* Linn berupa flavanoid, tanin, saponin, dan polifenol. Flavanoid sangat efektif sebagai inhibitor α -glukosidase, Hartika (2009) menyatakan bahwa ekstrak flavonoid Buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 1% (b/v) mampu menghambat enzim α -glukosidase sebesar 23,06-40,26%. Gugus flavanoid yang berperan dalam menghambat

enzim α -glukosidase adalah 3', 4'-hidroksi pada cincin B berperan dalam interaksi dengan sisi aktif dari enzim. Sedangkan 3-OH pada cincin karbon berfungsi mempertahankan pengikatan yang tepat pada molekul flavanoid (Xu, 2010). Flavanoid dari ekstrak metanol Daun *Origanum majorana* Lamiaceae menunjukkan aktivitas inhibitor α -glukosidase pada usus tikus (Kawabata *et al.*, 2003). Penelitian yang dilakukan Pianto *et al.* (2010), tanin dapat menghambat α -glukosidase walaupun potensinya tidak sebesar dalam menghambat α -amilase.

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun *Premna serratifolia* Linn

Golongan Senyawa	Hasil
Saponin	+
Terpenoid	-
Flavanoid	+
Alkaloid	-
Polifenol dan Tanin	+

Nilai konsentrasi ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn pada daya inhibisi maksimum (Tabel 2) menunjukkan bahwa daya inhibisi yang paling tinggi 91,69% pada konsentrasi 2,5%. Namun berdasarkan IC50 sebesar 0,2, ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dinyatakan sudah dapat menghambat α -glukosidase pada konsentrasi 2% dengan persentase 91,03%. Persentase daya inhibisi tersebut lebih rendah daripada kontrol positif Acarbose yang mampu menghambat α -glukosidase sebesar 93,84% pada konsentrasi 1% (Purwatresna E., 2012). Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dapat menghambat α -glukosidase 97% dari persentase inhibisi Acarbose.

KESIMPULAN

Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dapat menghambat α -glukosidase secara *in vitro* pada konsentrasi 2% dengan persentase sebesar 91,03%. Ekstrak daun *Premna serratifolia* Linn dapat menghambat α -glukosidase 97% dari persentase inhibisi Acarbose.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Muhammadiyah Pontianak (UM Pontianak) yang telah membiayai penelitian ini pada semester ganjil Tahun Ajaran 2015/2016.

DAFTAR PUSTAKA

ADA (American Diabetes Association). 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 35: 64-71.

- BPOM (Badan Pengawas Obat dan Makanan). 2009. Diabetes mellitus. Informasi Produk Terapeutik. 19(1): 1-12.
- Depkes RI (Departemen Kesehatan Republik Indonesia). 2008. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar 2007. Jakarta: Depkes RI
- Elin, EY, Suwendar & Ernita Ekawati, 2006, Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens*) dan Daun Urang Aring (*Eclipta prostate L.*) Terhadap *Pityrosporum ovale*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17(3):1-7.
- Hartika R. 2009. Aktivitas Inhibisi α -glucosidase Ekstrak Senyawa Flavanoid Buah Mahkota Dewa. Skripsi. Bogor : Departemn Kimia FMIPA IPB.
- Hollander P, Pi-Sunyer X, Coniff RF. 1997. Acarbose in the treatment of type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 20 : 248-253.
- Kavishankar, GB., Lakshimidevi, N., Murthy, S.M., Prakash, H.S., Niranjana, S.R.. 2011. Diabetes and medical plants-A review. *Int J Pharm Biomed Sci*. 2: 65-80.
- Kawabata, J., Mizuhatta, K., Sato, E., Nishihoka, T., Aoyama, Y., & Kasai, T. 2003. 6-Hydroxyflavonoids as alpha-glucosidase inhibitors from marjoram (*Origanum majorana*) leaves. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 67(2): 445-447.
- Li, L., Wang, Z., Ying, X., Mao, J., Sun, T., Tian, J. H., & Yang, K. 2012. Garlic for diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. (7).
- Majumder R, Akter S, Naim Z, Al-Amin M and Alam MB. 2014. Antioxidant and Anti-Diabetic Activities of the Methanolic Extract of *Premna integrifolia* Bark. *Advances in Biological Research*. 8 (1): 29-36.
- Nagmoti, D dan Archana R. 2013. In Vitro Inhibitory Effects of *Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth. Seeds on Intestinal Alpha-glucosidase and Pancreatic Alpha-amylase. *Journal Biochemistry Technology*. 4 (3): 616-621.
- Pianto, M. S., de Carvalho, J.E., Lajolo, F. M., Genvese, M. I., and Shetty, K. 2012. Evaluation of antiproliferative, anti-type 2 diabetes, and antihypertension potentials of ellagitannins from strawberries (*Fragaria ananassa* Duch.) using in vitro models. *Journal of Medical Food*. 13(5): 27-35.
- Purwatresna E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air Dan Etanol Daun Sirsak Secara *In Vitro* Melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Rajendran R and Basha NS. 2008 Cardioprotective effect of ethanol extract of stem-bark and stem-wood of *Premna serratifolia* Lin., (Verbenaceae). *Research J. Pharm. and Tech*. 1(4):7-14.
- Rajendran R, Suseela L, Meenakshi Sundaram R and Saleem Basha N. 2008. Cardiac stimulant activity of bark and wood of *Premna serratifolia* L. *A. J. of the Bangladesh pharmacological society*. 3:107-113.
- Rizki PR, Jayanti RD, dan Widyaningsih TD. 2015. Pengaruh Teh Herbal Berbasis Daun Cincau Hijau (*Premna Oblongifolia* Merr.) Terhadap Glukosa Darah Dan Profil Lipid Tikus Hiperglikemia. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3): 803-814.
- Sigh CR, Nelson R, Krishnan PM, and Mahesh K and Pargavi B. 2011. Identification of Volatile Constituents from *Premna serratifolia* L. through GC-MS. *International Journal of PharmTech Research*. 3(2) :1050-1058.
- 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(2): 74-78.
- Vadivu R, Jerad suresh A, Girinath K, Boopathi kannan P, vimala R and Sathish Kumar NM. 2009. Evaluation of Hepatoprotective and in-vitro cytotoxic activity of leaves of *prema serratifolia* L. *J. of Scientific research*. 1(1): 145-152.
- Wahyuni S, Mukarlina, dan Yanti AP. 2014. Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia*) Terhadap Jamur *Diplodia* sp. Pada Jeruk Siam (*Citrus nobilis* var. *microcarpa*). *Jurnal Protabiont*. 3(2) : 274--279.
- Xu, H. 2010. Inhibition Kinetics of Flavanoids on Yeast α -glucosidase Merged with Docking Simulation. *Protein and Peptide Letters*. 17 (10): 1270-1279