

AKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF DARI EKSTRAK ETIL ASETAT DAUN YAKON (*Smallanthus sonchifolius*) SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM α -GLUKOSIDASE

Riska Diana^{*1}, Lilik Sulastri^{1,2}, Partomuan Simanjuntak^{2,3}

¹Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta

³Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional (BBO OT), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong

*E-mail: riskadna01@gmail.com

Diterbitkan: 01 Maret 2023

ABSTRACT

Yakon (*Smallanthus Sonchifolius*) leaves in Indonesia, better known as insulin leaves, scientifically have various properties and one of them is antidiabetic. This study aims to determine the activity of secondary metabolites contained in the ethyl acetate extract of yakon (*Smallanthus Sonchifolius*) leaf as an inhibitor of the α -glucosidase enzyme. Yacon leaf ethyl acetate extract using eluent from TLC results. Until several sub-fractions are obtained. These sub-fractions were combined in TLC and tested for activity. The sub-fraction with the best activity in Back column chromatography and TLC and tested until the IC_{50} value is obtained. The results showed that the ethyl acetate extract of yakon leaves had inhibitory activity of the α -glucosidase enzyme with an IC_{50} of 45,67 ppm. The results of column chromatography separation showed that sub-fraction 6.5 was a sub-fraction with an IC_{50} value of 42,23 ppm. Conclusion: Yacon leaf ethyl acetate extract had better activity than purified F6.5 and acarbose as a positive control with an IC_{50} value of 21,36 ppm.

Keywords : *Smallanthus sonchifolius*, α -glucosidase inhibitory enzyme, IC_{50} , Indonesian medicinal plant

ABSTRAK

Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) di Indonesia lebih dikenal sebagai daun insulin, secara ilmiah memiliki berbagai khasiat dan salah satunya sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etil asetat daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Ekstrak etil asetat daun yakon menggunakan eluen dari hasil KLT. Hingga diperoleh beberapa sub fraksi. Sub fraksi tersebut, di KLT dan dilakukan penggabungan serta di uji aktivitas. Sub fraksi dengan aktivitas terbaik di kromatografi kolom Kembali dan KLT serta uji hingga diperoleh nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun yakon memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dengan IC_{50} sebesar 45,67 ppm. Hasil pemisahan kromatografi kolom menunjukkan bahwa sub fraksi 6.5 merupakan sub fraksi dengan nilai IC_{50} sebesar 42,23 ppm. Kesimpulan ekstrak etil asetat daun yakon memiliki aktivitas lebih baik dari F6.5 hasil pemurnian dan akarbose sebagai kontrol positif dengan nilai IC_{50} sebesar 21,36 ppm.

Kata kunci: *Smallanthus Sonchifolius*, enzim penghambat α -glukosidase, IC_{50} , tumbuhan obat Indonesia.

PENDAHULUAN

Menurut organisasi kesehatan dunia mendefinisikan penyakit diabetes melitus dengan etiologi yang beragam, ditandai dengan perubahan metabolisme karbohidrat, yang mengakibatkan hiperglikemia tanpa adanya pengobatan (WHO, 2019). Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) memperkirakan adanya kenaikan jumlah penderita DM di Indonesia dari 9,1 juta jiwa pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta jiwa pada tahun 2030. Menurut

(WHO) juga memperkirakan jumlah penderita DM di Indonesia akan terus meningkat dari 8,4 juta jiwa di tahun 2000 menjadi 21,3 juta jiwa di tahun 2030. Saat ini Indonesia menempati posisi ke tujuh di dunia dengan jumlah angka kejadian 8,5 juta penduduk. salah satu mekanisme obat antidiabetik yang umum adalah dengan mencegah atau menunda pencernaan karbohidrat kompleks menjadi sakarida sederhana (glukosa). Bisa dilakukan dengan mengganggu aktivitas enzim yang penting untuk pencernaan

karbohidrat, seperti α -glukosidase [1]. Enzim α -glukosidase adalah enzim yang berperan dalam pemecahan karbohidra menjadi glukosa pada saluran pencernaan, enzim ini dapat meningkatkan kadar gula darah. Sehingga untuk mencegah naiknya gula darah maka dibutuhkan suatu inhibitor enzim α -glukosidase. Penghambatan enzim α -glukosidase mengakibatkan enzim tidak mampu mengubah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana untuk diserap tubuh. Sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa pada penderita diabetes [2]. Pengobatan tradisional merupakan salah satu alternatif pengobatan yang umumnya tidak menimbulkan efek samping potensial akibat interaksi obat dalam penggunaan jangka panjang yang sering terjadi pada pengobatan kimiawi. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk menurunkan kadar glukosa darah adalah tanaman yakon (*smallanthus sonchifolius* (poepp.) H.rob) yang dimanfaatkan bagian daunnya. Daun yakon mengandung protein, lipid, serat, oligofruktose, katekol, terpen, dan flavonoid [3]. Pengujian penghambatan enzim α -glukosidase dapat dilakukan secara *in vivo* dalam mode tikus diabetes. Pada penelitian ekstrak etanol daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) dosis 40 mg/200 gramBB, 80 gram/200 gramBB, dan 120 gram/200 gramBB dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa tikus berturut-turut 53,40%; 39,43%; 71,09%. Sedangkan ekstrak daun yakon dosis 80 mg/200 gramBB dan 120 mg/200 gramBB memiliki efektifitas perbaikan kerusakan sel beta pankreas pada tikus wistar jantan yang diinduksi streptozotocin 50 mg/kgBB [4]. Sedangkan menurut penelitian yang dilakukan [5] Ekstrak etanol 96 % daun yakon dapat menghambat enzim α -glukosidase yang terlibat di dalam diabetes dengan (IC_{50} 33,62 ppm). Fraksi etanol 96% daun yakon dapat menghambat enzim α -glukosidase yang terlibat di dalam diabetes dengan % inhibisi 87,84 (IC_{50} 33,62 bpj) [6]. Oleh karena itu, yakon dianggap sebagai makanan dan obat dengan potensi tinggi untuk penderita diabetes.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etil asetat daun yakon (*Smallanthus Sonchifolia* (Poepp.) H. Rob) dari Pusris Bahan Baku Obat

Tradisional, BRIN cibinong, etanol 96%, metanol, akuades, etil asetat, serum sulfat, silica gel 60, cellite 545, dimetilsulfoksida (DMSO), dapar fosfat 0,1 M dan akarbosa (tablet 100 mg generik Dexa Medica), *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*NPG), (Sigma-Aldrich N 1337-1G), enzim α -glukosidase (Sigma), $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, dapar fosfat pH 6,8, Natrium karbonat, kertas saring, kapas dan aluminium foil.

Alat yang digunakan adalah *chamber*, set KLT lempeng silika gel GF₂₅₄, lampu UV 254 dan 366 nm, *hotplate* (Maspion), timbangan analitik (precisa 240 A), kolom kromatografi, inkubator (Firlabo), vial, mikropipet (ThermoScientific), oven (Mettler), pH meter, *rotary vacuum evaporator* (Stuart RE300DB), penangas air, *mikroplate* (Thermo Scientific NUNC), *thermometer*, set kolom kromatografi, inkubator (Firlabo), ELISA *reader* (Thermo Electron Corporation).

Isolasi dan Pemurnian Senyawa Penghambat Enzim α -Glukosidase dari ekstrak etil asetat daun yakon

Analisis KLT dilakukan untuk mengetahui eluen yang dapat memisahkan dengan baik. Cara menotolkan sampel uji ekstrak etil asetat daun yakon hasil dengan fase diam silika gel GF254. Proses elusi menggunakan berbagai perbandingan fase gerak yaitu berupa *n*-heksan : etil asetat (2:1) - (10:1) yang memiliki perbedaan kepolaran. Plat KLT yang telah dielusi diamati di bawah sinar UV 254 nm dan disemprotkan dengan reagen serum sulfat ($Ca(SO_4)_2$) 1% kemudian dipanaskan diatas penangas untuk menampakkan bercak noda.

Ekstrak etil asetat daun yakon di fraksinasi menggunakan kromatografi kolom menggunakan eluen yang diperoleh dari hasil analisis KLT secara gradien (10:1-1:1). Hasil fraksinasi kolom 1 di uji aktivitas hingga diperoleh sub fraksi terbaik dan dilakukan kromatografi kolom 2 di KLT secara isokratik (10:1) kemudian di uji aktivitas Kembali hingga diperoleh nilai IC_{50} dan akarbosa sebagai kontrol positif.

Uji penghambatan enzim α -glukosidase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan menggunakan metode yang telah dimodifikasi [6].

Tabel 1. Skema Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

No.	Bahan	Blanko	K(-) (μ l)	K(+) (μ l)	Sampel (μ l)
1.	Fraksi etil asetat	-	-	-	50
2.	Akarbosa	-	-	50	-
3.	DMSO	5	5	-	-
4.	Dapar fosfat pH 6,8	95	60	15	15
5.	Substart pNPG 5 mM	-	10	10	10
Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit					
6.	Enzim α -glukosidase 0,15 U/ml	-	25	25	25
Inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit					
7.	Na ₂ CO ₃ 200 mM	100	100	100	100

Keterangan :

Blanko = Campuran tanpa sampel dan enzim

Kontrol (-) = Campuran tanpa sampel dengan tambahan enzim.

Kontrol(+) = Pembanding sampel (akarbosa)

Sampel = Campuran fraksi etil asetat dengan penambahan enzim.

Analisis Data Aktivitas Antidiabetes

Hasil pengukuran absorbansi yang telah diperoleh kemudian dihitung menggunakan rumus persamaan regresi linear dari kurva *p*-nitrofenol, sebagai berikut [7]:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs blanko}) - \text{Abs sampel}}{\text{Abs kontrol negatif} - \text{Abs blanko}} \times 100\%$$

Data persen penghambatan yang telah didapatkan digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀. Dengan rumus persamaan regresi linear $y = a + bx$, sebagai berikut :

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

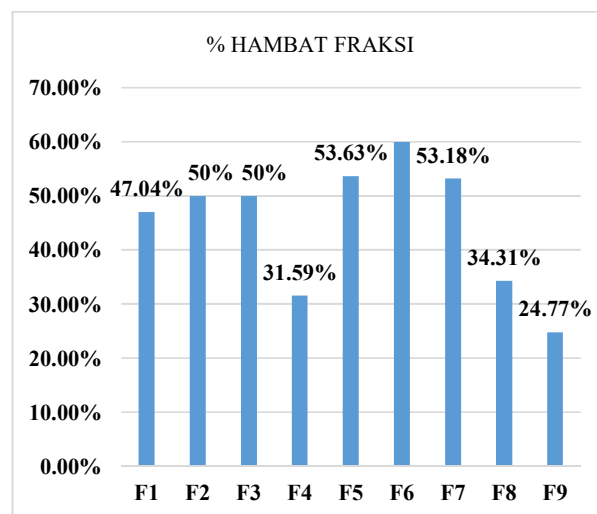
Keterangan:

persamaan regresi linear antara konsentrasi pada sumbu X dengan persen inhibisi pada sumbu Y.

HASIL DAN PEMBAHASAN

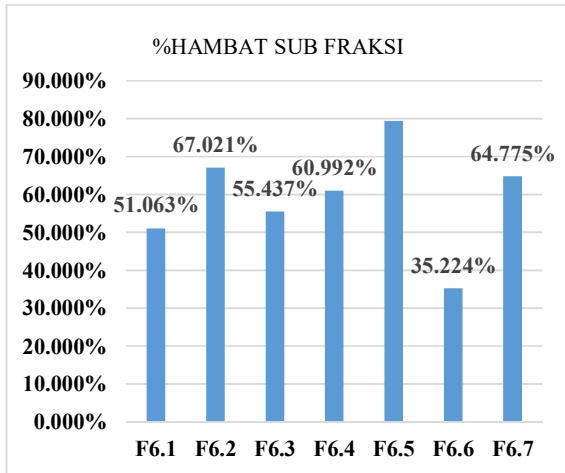
Hasil uji penghambatan enzim α -glukosidase

Hasil uji antidiabetes terhadap fraksi hasil kromatografi kolom pertama didapatkan 9 fraksi gabungan F6 merupakan fraksi yang paling aktif dalam menghambat enzim α -glukosidase secara in-vitro dengan persen inhibisi sebesar 60 %. Dilihat dari hasil KLT pada F6 masih belum menunjukkan keadaan murni, maka dilanjut menggunakan kromatografi kolom kedua. Disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik % hambatan fraksi kolom pertama

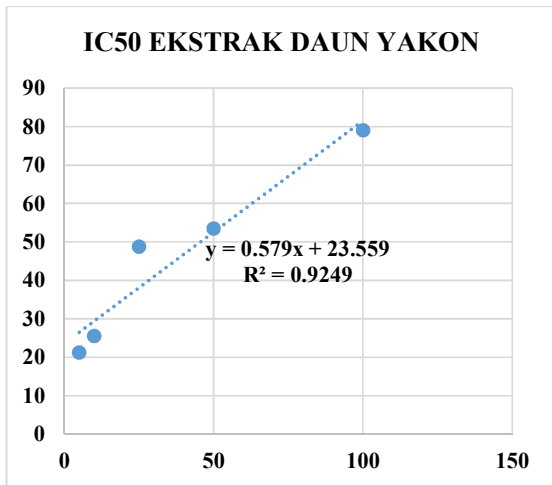
Pada kromatografi kolom kedua diperoleh 7 sub fraksi gabungan. Dilakukan metode penghambatan enzim α -glukosidase menunjukkan bahwa F6.5 merupakan fraksi yang paling aktif dalam menghambat enzim α -glukosidase secara in-vitro dengan persen inhibisi sebesar 79,32 %. Disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik % inhibisi fraksi kolom kedua

Nilai IC₅₀ Estrak etil asetat daun yakon

IC₅₀ dihitung dengan cara memasukkan persen hambatan sebesar 50 % pada persamaan regresi linear. Disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik nilai IC₅₀ Estrak etil asetat daun yakon

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} = \frac{50 - 23,559}{0,579} = 45,67 \text{ ppm}$$

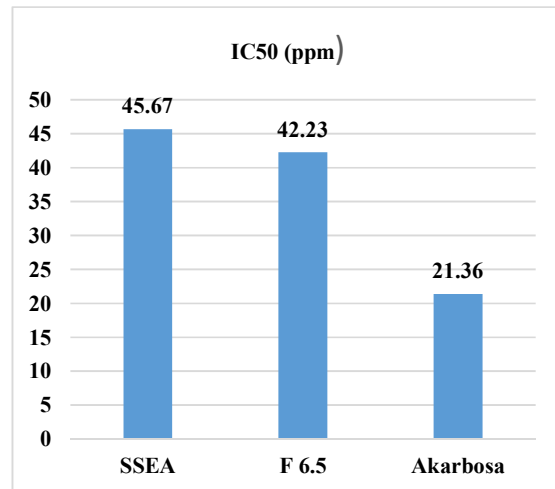
Nilai persen inhibisi yang didapatkan digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ (konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim) dari sampel maupun pembanding dan nilai IC₅₀ tersebut digunakan untuk mengetahui kekuatan penghambatan ekstrak terhadap enzim.

Semakin rendah nilai IC₅₀ maka kemampuan penghambatannya terhadap aktivitas

α-glukosidase semakin tinggi, begitupun sebaliknya [8]. Dari hasil IC₅₀ memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α-glukosidase didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 45,67 ppm.

Kontrol Positif dan Standar

Uji aktivitas enzim alfa-glukosidase Inhibitor enzim alfa-glukosidase seperti akarbosa bekerja dengan cara menunda absorpsi glukosa di dalam usus sehingga dapat mencegah kenaikan level gula darah post-prandial. Oleh karena itu, enzim alfa-glukosidase menjadi salah satu enzim target untuk pengobatan penyakit diabetes mellitus tipe II. Pada penelitian [6] obat standar yang digunakan sebagai kontrol positif adalah akarbosa. Nilai IC₅₀ dari akarbosa sebesar 21,36 ppm. Aktivitas SSEA memiliki aktivitas yang baik dibandingkan dengan F6.5. Nilai IC₅₀ disajikan pada Gambar 4. Klasifikasi kekuatan sampel uji dalam menginhibisi enzim α-glukosidase dibagi empat kriteria yaitu Sangat aktif ≤ 25 μg/mL, Aktif 25-50 μg/mL, Kurang aktif 50-100 μg/mL dan Tidak aktif > 100 μg/mL[8].



Gambar 4. Grafik pembanding nilai IC₅₀ terhadap enzim α-glukosidase

Tabel 2. Hasil uji % inhibisi ekstrak daun yakon terhadap penghambatan enzim α -glukosidase pada kromatografi kolom 1 dan 2

No.	Fraksi	% Inhibisi	HASIL KOLOM 1
1	F1	47,04%	
2	F2	50%	
3	F3	50%	
4	F4	31,59%	
5	F5	53,63%	
6	F6	60%	
7	F7	53,18%	
8	F8	34,31%	
9	F9	24,77%	
No.	Fraksi	% Inhibisi	HASIL KOLOM 2
1	F6.1	51,06%	
2	F6.2	67,02%	
3	F6.3	55,44%	
4	F6.4	60,99%	
5	F6.5	79,43%	
6	F6.6	35,22%	
7	F6.7	64,77%	

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat daun yakon (*Smallanthus sonchi folius*) memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase dengan nilai ekstrak IC_{50} 45,67ppm, F6.5 nilai IC_{50} 42,23 ppm dan nilai akarbosa IC_{50} sebesar 21,36 ppm.

SARAN

Dilakukan identifikasi senyawa untuk memastikan struktur kimia dari fraksi etil asetat daun yakon (*smallanthus sonchifolius*).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada dan staf peneliti BBO OT Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) yang telah memberikan fasilitas penelitian dan membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

[1] syabana, m.a., yuliana, n.d., batubara, i. and fardiaz, d. (2021) antidiabetic activity screening and nmr profile of vegetable and spices commonly consumed in indonesia. *food science and technology (brazil)*, **41**, 254–64. <https://doi.org/10.1590/fst.14120>

[2] apriliani, n.d. and saputri, f.a. (2017) review: potensi penghambatan enzim α -glukosidase pada tanaman obat tradisional indonesia. *farmaka*, **16**, 169–77.

[3] dwitiyanti, hikmawanti, n.p.e., putri, a.p. and chulsum, n. (2020) aktivitas ekstrak etanol daun yakon (*smallanthus sonchifolius* (poepp.) h.rob) terhadap kadar glikogen dan glukosa darah hamster hiperglikemia dengan diet tinggi lemak. *jurnal tumbuhan obat indonesia*, **13**, 78–85.

[4] sujono, j.c., t, h.a., hayati, f. and sidiq h, n.s. (2014) efek antidiabetik ekstrak etanol daun yakon (*smallanthus sonchifolius*) pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi streptozotocin. *prosiding simposium nasional peluang dan tantangan obat tradisional dalam pelayanan kesehatan formal*, 1–13.

[5] sulastri, l., alawiyah, t., isa, a.f. and rob, p.h. (2020) potensi kombinasi ekstrak daun stevia (*stevia rebaudiana bertonii*) dan daun yakon (*smallanthus sonchifolius* (poepp.) h. rob.) sebagai inhibitor enzim. 64–8.

[6] aziz, z., al qisthi, f.h., yuliana, n.d. and simanjuntak, p. (2019) identification of α -glucosidase enzyme inhibitor compound from ethanol 96% extract of yakon leaves (*smallanthus sonchifolius* [poepp.& endl.] h. robinson). *jurnal ilmu kefarmasian indonesia*, **17**, 21. <https://doi.org/10.35814/jifi.v17i1.652>

[7] elmaniar, r. and muhtadi. (2017) aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh ekstrak etanol umbi ubi jalar ungu (*ipomea batatas* l.). *the 5th urecol proceeding*, 1–5.

[8] maryam, s.m., suhaenah, a. and amrullah, n.f. (2020) uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak etanol biji buah alpukat sangrai (*persea americana* mill.) secara in vitro. *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, **12**, 51–6. <https://doi.org/10.33096/jifa.v12i1.619>.