

**AKTIVITAS DAN ISOLASI SENYAWA BIOAKTIF DARI EKSTRAK ETIL ASETAT
DAUN TEH (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) SEBAGAI PENGHAMBATAN
ENZIM α -GLUKOSIDASE**

***ACTIVITY AND ISOLATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM THE ETHYL
ACETATE EXTRACT OF TEA LEAF (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) AS
 α -GLUCOSIDASE ENZYME INHIBITION***

Nuraini Saadah^{*1}, Lilik Sulastri^{1,2}, Syamsuedin Abdilah², Partomuan Simanjuntak^{2,3}

¹Sekolah Tinggi Teknologi Industri Dan Farmasi Bogor

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila Jakarta

³Balai Besar Penelitian dan Pusat Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPOOT), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Cibinong

*E-mail : nurainisaadah.99@gmail.com

Diterbitkan: 01 Maret 2023

ABSTRACT

Tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) is one of the plants that has compounds that have the potential as inhibitors of the α -glucosidase enzyme. The purpose of this study was to know the activity of chemical compounds in the ethyl acetate extract of tea leaves as an inhibitor of the α -glucosidase enzyme. Extraction tea leaf was carried out by maceration tea leaf powder in ethanol 96% 3 times, then partitioned with ethyl acetate and water. The ethyl acetate extract obtained was determined by the inhibitory activity of the α -glucosidase enzyme, then fractionated by column chromatography (SiO₂; n-hexane: ethyl acetate 10:1 ~ 1:1) yielding 10 fractions (CSEA-1 ~ CSEA-10). The CSEA-2 fraction was further fractionated by column chromatography (SiO₂; n-hexane: ethyl acetate 20:1 ~ 1:1) yielding 9 fractions (CSEA-2.1~ CSEA-2.9). The results showed that the ethyl acetate extract had activity with an IC₅₀ value of 45.04 ppm, the fractionated CSEA-2.1 subfraction had an IC₅₀ value of 41.51 ppm with acarbose as a comparison of 19.24 ppm. The conclusion is that the CSEA-2.1 subfraction has better activity than the extract in inhibiting the α -glucosidase enzyme and can be used as an alternative candidate for diabetes drugs.

Keywords: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, tea, α -glucosidase enzyme inhibitor, Indonesian medicinal plant, IC₅₀

ABSTRAK

Teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) merupakan salah satu tanaman yang memiliki senyawa yang berpotensi sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etil asetat daun teh sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Ekstraksi daun teh dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 3 kali, kemudian dipartisi dengan etil asetat dan air. Ekstrak etil asetat yang diperoleh ditentukan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase, kemudian dilakukan fraksinasi dengan kromatografi kolom (SiO₂ ; n-heksan : etil asetat 10:1 ~ 1:1) menghasilkan 10 fraksi (CSEA-1 ~ CSEA-10). Fraksi CSEA-2 difraksinasi kembali dengan kromatografi kolom (SiO₂ ; n-heksan : etil asetat 20:1 ~ 1:1) menghasilkan 9 fraksi (CSEA-2.1~ CSEA-2.9). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas dengan nilai IC₅₀ sebesar 45,04 ppm, subfraksi CSEA-2.1 hasil fraksinasi memiliki nilai IC₅₀ sebesar 41,87 ppm dengan akarbose sebagai pembanding sebesar 19,24 ppm. Kesimpulan bahwa subfraksi CSEA-2.1 memiliki aktivitas lebih baik dengan ekstrak dalam menghambat enzim α -glukosidase dan dapat dijadikan kandidat alternatif untuk obat diabetes.

Kata kunci: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, teh, penghambat enzim α -glukosidase, tumbuhan obat indonesia, IC₅₀

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan suatu kelompok gangguan metabolisme yang ditandai dengan adanya hiperglikemia yang terjadi karena adanya sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya, dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein [1]. Berdasarkan data International Diabetes Federation pada tahun 2021, penderita diabetes melitus di dunia pada usia 20-79 tahun sebanyak 10,5 % atau 536,6 juta orang dan diperkirakan akan terus meningkat pada tahun 2045 sebanyak 12,2 % atau 783,2 juta orang. Indonesia menempati urutan ke-5 tertinggi di dunia dengan jumlah penderita sebanyak 19,5 juta orang [2]. Prevalensi penderita diabetes melitus di Indonesia terus terjadinya peningkatan. Hasil Riskesdas menunjukkan pada tahun 2007 terdapat 5,7% penderita diabetes lalu pada tahun 2013 terjadi peningkatan menjadi 6,9% kemudian pada tahun 2018 meningkat lagi menjadi 8,5 % [3].

Diabetes melitus dapat ditangani dengan terapi non farmakologi dan terapi farmakologi [4]. Terapi farmakologi dapat menggunakan obat antidiabetes oral salah satunya akarbosa yang termasuk golongan penghambat enzim α -glukosidase [5]. Tetapi dengan penggunaan obat akarbosa dalam jangka panjang berbagai efek samping dapat terjadi. Dengan adanya efek samping yang ditimbulkan, muncul berbagai penelitian dalam upaya mencari alternatif untuk diabetes mellitus tipe 2, khususnya yaitu melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase.

Teh (*Camellia sinensis* (L.)) merupakan salah satu tanaman yang memiliki berbagai efek farmakologis dan salah satunya dapat digunakan sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Menurut penelitian [6], melaporkan bahwa ekstrak air daun teh dengan menggunakan metode infusa memiliki aktivitas penghambat enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar 54,86 μ g/ml untuk teh hitam dan 44,79 μ g/ml untuk teh hijau. Manfaat teh sebagai kesehatan diyakini karena adanya kandungan polifenol yang tinggi didalam teh terutama flavonoid. Baik teh hijau maupun teh hitam kaya akan flavonoid [7]. Hasil studi secara *in vitro* menyatakan beberapa jenis teh mempunyai efek yang baik terhadap resiko penyakit hiperglikemia. Hal ini berkaitan dengan adanya komponen fenolik utama dari teh yang memiliki aktivitas penghambatan tinggi terhadap salah satu enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat yaitu enzim α -glukosidase [8].

Menurut [9], fraksi etil asetat daun teh memberikan nilai IC_{50} sebesar 4,52 ppm dengan senyawa campuran yang terdapat didalam fraksi yaitu kafein, epikatekin 3-O-galat, epigalloktekin 3-O-galat dan dichrostachine F yang mempunyai bobot molekul (BM) secara berturut-turut yaitu m/z 194; m/z 442; m/z 458 dan m/z 620. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun teh sebagai penghambat enzim α -glukosidase.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah ekstrak etil asetat daun teh (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), diklorometan, metanol, kloroform, akuades, $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$, NaH_2PO_4 , etil asetat, *n*-heksana, silica gel 60 (70-230 mesh), celite 545 (0,02-0,1 mm), akarbosa (tablet 100 mg generik Dexa Medica), *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (*p*NPG) (Sigma-Aldrich N 1337-1G), enzim α -glukosidase (Sigma), Natrium karbonat, dapar fosfat pH 6,8, dimetilsulfoksida (DMSO), kapas dan aluminium foil.

Alat yang digunakan adalah mikropipet (Thermo Scientifie), oven (Memmert), timbangan analitik (Precisa 240 A), pH meter, mikroplate (Thermo Scientifie NUNC), hotplate (Maspion), perangkat gelas, termometer, set KLT lempeng silika gel GF254, set kolom kromatografi, inkubator (Firlabo), ELISA *reader* (Thermo Electron Corporation).

Fraksinasi dan Isolasi Dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak etil asetat daun teh yang akan difraksinasi, dilakukan uji KLT terlebih dahulu untuk mengetahui eluen yang sesuai untuk proses pemisahan. Ekstrak di kromatografi kolom menggunakan fase diam silika gel 60 (70-230 mesh) dan fase gerak menggunakan eluen yang sesuai dari hasil KLT. Eluen dimasukkan ke dalam kolom kemudian masukkan silica yang telah dilarutkan dengan eluen sedikit demi sedikit dan dipadatkan dengan cara digetarkan. Ekstrak etil asetat 15 g dimasukkan kedalam kolom yang sudah dihomogenkan menggunakan celite. Lalu eluen dimasukkan secara perlahan melalui dinding kolom. Eluat yang diperoleh ditampung pada botol \pm 50 ml dan dianalisis dengan KLT untuk penggabungan fraksi yang mempunyai pola kromatogram yang sama.

Kolom kedua dilakukan terhadap fraksi yang memiliki uji aktivitas tertinggi dengan menggunakan fase gerak metode gradient. Eluat ditampung pada botol vial ± 30 ml dan dianalisis kembali dengan KLT dan dilakukan pengujian inhibisi enzim α-glukosidase.

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α-Glukosidase

Uji aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase berdasarkan [10], yang telah dimodifikasi. Skema uji aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Skema uji aktivitas penghambatan enzim α-glukosidase

No.	Bahan	Blanko	K(-) (µl)	K(+) (µl)	Sampel (µl)
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 enzim dan sampel
- Kontrol (-) = Campuran tanpa sampel dengan penambahan enzim
- Kontrol (+) = Pembanding sampel (akarbosa)
- Sampel = Campuran fraksi etil asetat dengan penambahan enzim

Hasil yang diperoleh yaitu absorbansi, lalu dapat dihitung dengan menggunakan rumus, sebagai berikut:

$$\%inhibisi = \frac{Abs\ K(-) - Abs\ sampel}{Abs\ K(-)} \times 100\%$$

Dari hasil data diatas digunakan untuk menghitung IC₅₀

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

Keterangan:

nilai a dan b diperoleh dari persamaan regresi linear $y = a + bx$ antara sumbu x sebagai konsentrasi dan sumbu y sebagai %inhibisi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi dan Isolasi Dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak etil asetat daun teh dilakukan uji pendahuluan dengan kromatografi lapis tipis yang bertujuan untuk mengetahui fase gerak yang akan digunakan pada kromatografi kolom.

Kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak etil asetat daun teh dilakukan dengan berbagai perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (10:1; 5:1; dan 2:1). Hasil KLT dengan menggunakan

eluen n-heksan : etil asetat (5:1) menunjukkan pemisahan yang baik dibandingkan dengan perbandingan eluen lainnya yang masih menumpuk. Oleh karena itu, fase gerak tersebut digunakan untuk kromatografi kolom secara gradient dengan menggunakan eluen yang perbandingannya diubah-ubah.

Pemisahan pada kromatografi kolom pertama menggunakan sampel dari ekstrak etil asetat sebanyak 15 g dengan fase gerak yang digunakan n-heksan : etil asetat (10:1 ~ 1:1). Hasil pemisahan kromatografi kolom pertama diperoleh 51 fraksi yang kemudian dilakukan KLT. Dari hasil KLT, setiap fraksi digabungkan berdasarkan pola Rf yang sama dan diperoleh 10 fraksi gabungan.

Uji aktivitas penghambatan enzim α-Glukosidase

Fraksi gabungan dari pemisahan kromatografi kolom pertama dan fraksi etil asetat daun teh dilakukan uji aktivitas. Kontrol positif yang digunakan akarbosa yang digunakan sebagai pembanding dengan sampel yang diuji dan kontrol negatif yang digunakan DMSO yang juga sebagai pelarut. Pengujian dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui nilai %inhibisi terhadap fraksi yang digunakan dengan

konsentrasi larutan 100 ppm. Dalam pengukuran, digunakan instrumen ELISA Reader dan diukur pada panjang gelombang 405 nm.

Pengukuran uji aktivitas dilakukan berdasarkan absorbansi *p*-nitrofenol yang dihasilkan dari hidrolisis substrat *p*-nitrofenil α -D-glukopiranosida (*p*NPG) menjadi *p*-nitrofenol (berwarna kuning) dan D-glukosa oleh enzim α -glukosidase. Intensitas warna kuning yang dihasilkan akan mempengaruhi nilai absorbansi yang diperoleh. Semakin besar nilai persen inhibisi maka jumlah *p*-nitrofenol yang dihasilkan semakin sedikit sehingga intensitas warna kuning yang dihasilkan akan berkurang [11]. Hasil uji aktivitas dapat dilihat pada Tabel 2. CSEA-2 memiliki daya hambat persen inhibisi terbesar dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase (konsentrasi 100 ppm)

No.	Sampel	Inhibisi (%)
1.	Ekstrak etil asetat	45,04
Hasil kromatografi kolom pertama		
1.	CSEA-1	47,04
2.	CSEA-2	62,04
3.	CSEA-3	58,18
4.	CSEA-4	48,40
5.	CSEA-5	43,86
6.	CSEA-6	52,04
7.	CSEA-7	47,5
8.	CSEA-8	54,09
9.	CSEA-9	53,63
10.	CSEA-10	53,63

Keterangan :

CSEA = *Camellia sinensis* (L.) Kuntze etil asetat

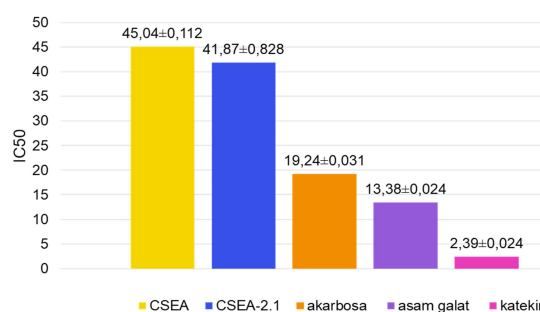
Fraksi yang mempunyai nilai penghambatan terbesar dilakukan isolasi dan pemurnian kembali dengan kromatografi kolom kedua. Fase gerak yang digunakan n-heksan : etil asetat (20:1 ~ 1:1) dan diperoleh 69 fraksi kemudian dianalisis kembali dengan KLT dan diperoleh 9 subfraksi gabungan. Analisis KLT gabungan pada kromatografi kolom kedua menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (10:1; 5:1; dan 2:1).

Fraksi gabungan dari kromatografi kolom kedua dilakukan uji aktivitas enzim α -glukosidase dan diperoleh pada subfraksi CSEA-2.1 memiliki nilai aktivitas terbesar dalam menghambat enzim α -glukosidase. Hasil uji aktivitas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas kromatografi kolom kedua (konsentrasi 100 ppm)

No.	Sampel	Inhibisi (%)
1.	CSEA-2.1	90,49
2.	CSEA-2.2	84,11
3.	CSEA-2.3	65,10
4.	CSEA-2.4	85,90
5.	CSEA-2.5	49,44
6.	CSEA-2.6	84,11
7.	CSEA-2.7	88,70
8.	CSEA-2.8	59,95
9.	CSEA-2.9	84,45

Subfraksi CSEA-2.1 dilakukan uji lanjut yaitu uji IC_{50} untuk memperoleh nilai IC_{50} , dimana nilai IC_{50} merupakan nilai yang menunjukkan suatu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% enzim α -glukosidase. Nilai IC_{50} pada ekstrak daun teh dan subfraksi CSEA-2.1 secara berturut-turut sebesar 45,04 dan 41,87 ppm menunjukkan sifat yang aktif dalam menghambat enzim α -glukosidase. Sedangkan nilai IC_{50} untuk kontrol positif yaitu akar bosa sebesar 19,24 ppm. Aktivitas CSEA-2.1 juga dibandingkan dengan katekin dan asam galat sebagai senyawa yang terkandung didalam daun teh yaitu sebesar 2,39 ppm dan 13,38 ppm. Klasifikasi kekuatan sampel dalam menghambat enzim α -glukosidase dibagi menjadi 4 klasifikasi yaitu ≤ 25 μ g/ml sangat aktif, 25-50 μ g/ml aktif, 50-100 μ g/ml kurang aktif dan > 100 μ g/ml tidak aktif [12]. Adapun grafik perbandingan nilai IC_{50} dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik perbandingan nilai IC_{50}

KESIMPULAN DAN SARAN

Subfraksi daun teh memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} sebesar 41,51 ppm, nilai IC_{50} ekstrak daun teh sebesar 45,04 ppm dan nilai IC_{50} pada akar bosa sebesar 19,24 ppm. Subfraksi CSEA-2.1 memiliki aktivitas lebih baik dengan ekstrak

dalam menghambat enzim α -glukosidase dan dapat dijadikan kandidat alternatif untuk obat antidiabetes.

Perlu dilakukan analisis lanjutan untuk menentukan struktur kimia dengan elusidasi struktur, serta potensi bioaktivitas lainnya selain penghambatan enzim α -glukosidase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada staf peneliti dari Balai Besar Penelitian dan Pusat Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (BBPPOOT) atas bantuannya dalam melaksanakan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. *Classification of diabetes mellitus*. Clin Laboratory Med. 2019;
- [2] International Diabetes Federation. The global picture IDF DIABETES ATLAS 10th edition 2021. In *The World's Wine Markets: Globalization at Work*. 2021.
- [3] Amalia D, Syari W, Angraini S. Gambaran Implementasi Penatalaksanaan Penyakit Diabetes Melitus Di Puskesmas Sindang Barang Kota Bogor Tahun 2019-2020. *Promotor*. 2021;4(2):97.
- [4] DEPKES RI. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Dep Kesehatan RI. 2005;1–89.
- [5] PERKENI. *Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia*. Perkumpulan Endokrinol Indones. 2011;
- [6] Holidah D, Yasmin Y, Christianty FM. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Teh Hitam dan Teh Hijau secara *In Vitro* Menggunakan Metode Inhibisi Enzim α -Glukosidase. *Pustaka Kesehatan*. 2018;6(2):235.
- [7] Hodgson JM. *Tea flavonoids and cardiovascular disease*. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2008;17(SUPPL. 1):288–90.
- [8] Julianti, E. D., Nurjanah, N., Yuniati, H., Ridwan, E. D, Sahara, E. Pengaruh Tapioka Termodifikasi Ekstrak Teh Hijau Terhadap Glukosa Darah Dan Histologi Pankreas Tikus Diabetes. 2015;38(1):51–60.
- [9] Sulastrri, L., Larasati, Y., Deamiaty, Y., Syamsudin., Simanjuntak P. Karakteristik Senyawa Kimia Penghambat Enzim α -Glukosidase dari Fraksi Etil Asetat Daun Teh (*Camellia sinensis* (L) Kuntze). *Pros Semin Nas Kim dan Terap*. 2021;63–9.
- [10] Alvionitasari, D. N, Sulastrri L, Desmiaty Y, Simanjuntak P. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Penghambatan Enzim α -Glukosidase dari Fraksi Air Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.). *Pros Semin Nas Kim dan Terap*. 2021;16–22.
- [11] Margono RS, Sumiati T. Potensi Tanaman Indonesia sebagai Antidiabetes melalui Mekanisme Penghambatan Enzim α -glukosidase. *J Farmamedika (Pharmamedica Journal)*. 2019;4(2):86–92.
- [12] Maryam S, Suhaenah, A., Amrullah NF. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat Sangrai (*Persea americana* Mill.) Secara *In Vitro*. *J Ilm As-Syifaa*. 2020;12(1):51–6.