

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DARI EKSTRAK ETANOL 70% BUAH KIWI (*Actinidia deliciosa*) MELALUI PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α - GLUKOSIDASE

TEST OF ANTIDIABETES ACTIVITIES FROM 70% ETHANOL EXTRACT OF KIWI FRUIT (*Actinidia deliciosa*) THROUGH ENZYMES α - GLUKOSIDASE INHIBITION ACTIVITY

Okpri Meila^{1*}, Deviya Purwandarie²

^{1,2}Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945

*Corresponding Author Email: okprimeila@gmail.com

ABSTRAK

Prevalensi penyakit diabetes terus meningkat di seluruh dunia. WHO memprediksikan peningkatan jumlah penyandang diabetes yang cukup besar untuk tahun-tahun mendatang. Buah kiwi memiliki banyak kandungan nutrisi, bahkan jumlahnya tersimpan lebih banyak dibanding buah-buahan lain. Penelitian yang mendukung buah kiwi sebagai antidiabetes yaitu dari Buku Health Secret of Kiwi Fruits tahun 2010 yang menyatakan bahwa buah kiwi bagus untuk dikonsumsi bagi penderita diabetes. Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) mengandung senyawa flavanoid, alkaloid, dan saponin, yang berarti senyawa tersebut dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui penghambatan α -glukosidase pada ekstrak etanol 70% buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) sebagai pengobatan diabetes melitus. Siplisia di maserasi dengan etanol 70% sebanyak 3.500 ml pekatkan dengan rotary evaporator suhu 40°C. Berdasarkan hasil uji tersebut maka didapatkan IC₅₀ 4,251 ppm dan akarbose 13,672 ppm.

Kata kunci: Prevalensi penyakit diabetes, buah kiwi (*Actinidia deliciosa*), enzim α -glukosidase, etanol 70%.

ABSTRACT

The prevalence of diabetes continues to increase throughout the world. WHO predicts a considerable increase in the number of people with diabetes for the upcoming years. Kiwi fruit has many nutritional content, even more than the amount of other fruits. Research supporting kiwi fruit as an antidiabetic is Health Secret of Kiwi Fruits book in 2010 which states that kiwi is good to consume for diabetic patients. Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) contains flavonoid, alkaloid and saponin compounds, for which the compounds can inhibit the activity of α -glucosidase. This study aims to determine the inhibition of α -glucosidase in 70% ethanol extract of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) for the treatment of diabetes mellitus in vitro. Siplisia in maceration with 70% ethanol and 3,500 ml concentrated by rotary evaporator temperature 40°C. Based on these test results, IC₅₀ 4.251 ppm and 13,672 ppm acarbose are obtained.

Keywords: prevalence of diabetes, kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*), α -glucosidase enzyme, 70% ethanol.

PENDAHULUAN

Prevalensi penyakit diabetes terus meningkat di seluruh dunia. WHO memprediksikan peningkatan jumlah penyandang diabetes yang cukup besar untuk tahun-tahun mendatang. Untuk Indonesia, WHO memprediksi kenaikan jumlah pasien dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Indonesia (2003) diperkirakan penduduk Indonesia yang berusia di atas 20 tahun adalah sebesar 133 juta jiwa. Dengan prevalensi DM pada daerah urban sebesar 14,7% dan daerah rural sebesar 7,2%, maka diperkirakan pada tahun 2003 terdapat penyandang diabetes sejumlah 8,2 juta di daerah urban dan 5,5 juta di daerah rural. Selanjutnya, berdasarkan pola penambahan penduduk, diperkirakan pada tahun 2030 nanti akan ada 194 juta penduduk yang berusia di atas 20 tahun dan dengan asumsi prevalensi DM pada urban (14,7%) dan rural (7,2%) maka diperkirakan terdapat 12 juta penyandang diabetes di daerah urban dan 8,1 juta di daerah rural.

METODE PENELITIAN

Bahan

Tanaman yang akan diteliti adalah Buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) yang diperoleh dari pasar bambu kuning, Jakarta Utara.

Bahan kimia yang akan digunakan adalah enzim α -glukosidase yang berasal dari rekombinan *Saccharomyces*

cerevisiae (Sigma Aldrich, USA), akarbose, *bovine serum albumin* (Merck, Jerman), etanol, dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman), p-nitrophenil- α -glukopiranosidasi (pNPG) (Wako Pure Chemical Industries L.td., Jepang), dan aqua destilasi.

Prosedur kerja

1. Pengumpulan bahan uji

Pengumpulan buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) yang diperoleh dari pasar bambu kuning Jakarta utara akan di determinasi buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) di LIPI (Lembaga ilmu pengetahuan Indonesia) Bogor untuk memastikan kebenaran simplisia dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian, dan selanjutnya akan di maserasi di Balitro Bogor.

2. Pencucian

Bagian tanaman dipilih sesuai yang digunakan dalam penelitian ini kemudian dibersihkan dari kotoran dengan dicuci air mengalir.

3. Perajangan

Bagian tanaman yang telah bersih dirajang atau diperkecil ukurannya untuk mempermudah proses pengeringan dengan oven pada suhu 40°C. Setelah buah kiwi kering, dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender.

4. Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

Pemeriksaan karakteristik ekstrak buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) meliputi ;

a. Organoleptis

Ekstrak diamati meliputi bau, rasa, warna, bentuk.

b. Perhitungan Rendemen

Nilai rendemen diperoleh dengan cara membagi bobot ekstrak kental dengan bobot awal simplisia. Dari perhitungan rendemen ini dapat diketahui nilai kesetaraan tiap gram ekstrak simplisia.

Rendemen ekstrak (%) =

$$= \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot awal simplisia}} \times 100\%$$

c. Perhitungan susut pengering

Uji susut pengering yaitu uji yang dilaksanakan untuk penetapan jumlah zat yang mudah hilang dan menguap pada situasi dan kondisi tertentu. Berikut merupakan cara kerja uji ini ; botol timbang dikeringkan dalam oven pada temperatur 105°C selama 30 menit, lalu masukkan botol timbang dalam desikator selama 10 menit sampai dingin dan ditimbang. Botol yang berisi ekstrak setelah ditimbang dimasukkan ke dalam oven selama 5 jam pada temperatur 105°C. Dinginkan dalam desikator,

timbang ketika sudah dingin botol timbang yang berisi ekstrak. Lakukan penimbangan secara berulang-ulang hingga bobot konstan. (DepKes RI, 1995)

Susut pengering (%) =

$$\frac{\text{berat awal simplisia} - \text{berat akhir}}{\text{berat awal}} \times 100\%$$

d. Persiapan Bahan Uji

1) Persiapan Larutan Enzim

Pembuatan larutan enzim dengan cara timbang 2,9 mg α -glukosidase dan dilarutkan dalam 100 ml larutan dapar fosfat pH 7,0 yang mengandung 200 mg Bovine Serum Albumin (BSA) dalam kondisi dingin sehingga diperoleh larutan induk 0,8 μ /ml. Selanjutnya di pipet 5 ml dari larutan induk enzim, diencerkan dengan dapar fosfat pH 7,0 yang mengandung Bovine Serum Albumin (BSA) 200 mg hingga 10 ml, kemudian dipipet kembali 1 ml dari pengenceran kemudian diencerkan dengan buffer fosfat pH 7,0 hingga 10 ml. Hingga diperoleh larutan enzim 0,01 μ /ml. Larutan enzim dapat disimpan dalam freezer dengan temperatur -20°C dan tetap stabil hingga 1 bulan.

- 2) Persiapan Larutan Substrat P-Nitrofenil- α -Glukosidase
Persiapan larutan Substrat P-Nitrofenil- α -glukosidase telah dilakukan di Biofarmaka Institut Pertanian Bogor dengan konsentrasi yang telah ditentukan yaitu 10 mM.
diperoleh konsentrasi larutan 0,25 ppm, 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, 7 ppm, dan 10 ppm.
- 3) Persiapan Larutan Dapar Fosfat
Berikut adalah cara pembuatan larutan dapar fosfat pH 7,0 :
Larutan dapar fosfat pH 7,0 dibuat dengan mencampurkan 50ml Kalium dihidrogenfosfat 0,1 M dengan sedikit demi sedikit (hinggakurang lebih 29,1 ml) natrium hidroksida 0,1 N. Disertai pengecekan menggunakan pH meter setiap kali penambahan natrium hidroksida 0,1 N. Campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan air bebas CO₂ secukupnya hingga 200,0 ml.
- 4) Persiapan Larutan Standart Akarbose
Timbang 100 mg akarbose kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat 10ml. Hingga di dapatkan konsentrasi 10 ppm. Kemudian dilakukan pengenceransampai
5) Persiapan Ekstrak
Ekstrak sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 100 μ l dimetil sulfoksidakemudian dicukupkan volumenya dengan dapar fosfat pH 7,0 pada labu ukur 10 ml sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm, selanjutnya dilakukan pengenceran menjadi 125 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm dan 2000 ppm.
- 6) Optimasi Konsentrasi Substrat PNPG
Optimasi konsentrasi substrat PNPG telah dilakukan di Biofarmaka Institut Pertanian Bogor dengan konsentrasi yang didapat yaitu 10mM.
- 7) Penentuan pH Optimum
Penentuan pH optimum di Biofarmaka Institut Pertanian Bogor, juga telah dilakukan dan penentuan pHnya yaitu 7,0.
- 8) Penentuan Optimasi Suhu Inkubasi
Penentuan optimasi suhu inkubasi di Biofarmaka Institute Pertanian Bogor telah ditentukan yaitu pada suhu 37°C. Inkubasi

dilakukan agar reaksi berjalan optimal, karena suhu optimal 37°C untuk kerja enzim. Jika terlalu panas atau dingin bisa membuat enzim tidak aktif.

9) Pembuatan Larutan Bovine Serum Albumin (BSA)

Sebanyak 200mg Bovine Serum Albumin dilarutkan dalam 100 ml daparfosfat pH 7,0.

10) Pembuatan Larutan Na_2CO_3

Sebanyak 1,0599 g natrium karbonat lalu dilarutkan dalam dapar fosfat pH 7,0 sebanyak 50ml.

11) Uji Efek Inhibisi α -Glukosidase

Pada ekstrak 70% dilakukan uji efek inhibisi α -glukosidase.

12) Pengujian Blanko

Larutan dapar fosfat pH 7,0 sebanyak 50 μL ditambahkan dengan 10 μL larutan dimetil sulfoksida (DMSO), tambahkan 25 μL p-nitrofenil α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM, kemudian tambah enzim α -glukosidase 0,01 U/L sebanyak 25 μL . kemudian campuran diinkubasi selama 30menit pada suhu

37°C. Setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM. Larutan diukur adsorbansinya dengan microplate reader padapanjang gelombang 410 nm.

13) Pengujian Sample

Larutan dapar fosfat 7,0 sebanyak 50 μL ditambahkan dengan 10 μL larutan sampel (ekstrak) yang konsentrasinya 125 ppm, 250 ppm, 500 pm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm. Dan juga tambahkan 25 μL p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM. Campuran di inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Ditambahkan 25 μL larutan enzim dengan konsentrasi 0,01 U/mL. Setelah masa inkubasi selesai, kemudian ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM kemudian larutan sampel diukur absorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm.

14) Pengujian Larutan Standart Akarbose

Larutan dapar fosfat 7,0 sebanyak 50 μL ditambahkan dengan 10 mL larutan sampel yang konsentrasinya 0,25 ppm, 1 ppm, 2 ppm,

5ppm, 7ppm, 10 ppm. Dan juga tambahkan 25 μ L p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida dengan konsentrasi 10 mM tambahkan enzim α -glukosidase 25 μ L, campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah masainkubasi selesai, tambahkan 100 μ L Na₂CO₃ 200 nm. Larutan sampel diukur absorbansinya dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm.

Persen hambatan dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{c-s}{c} \times 100\%$$

Keterangan :

S =absorbansi sampel

C = absorbansi kontrol
(Blanko DMSO)

IC₅₀ Di Dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Dari persamaan: $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC₅₀ dengan menggunakan rumus:

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

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Penapisan kimia ekstrak etanol 70%

No	Golongan senyawa	Ekstrak etanol
1	Flavanoid	+
2	Alkaloid	+ wagner
3	Tanin	-
4	Saponin	+
5	Triterpenoid	-

Ket : (+) Ada terdeteksi

(-) Tidak terdeteksi

Dari tabel diatas menunjukkan bahwa senyawa flavanoid, alkaloid, dan saponin menunjukkan hasil positif. Menurut literatur menyebutkan, bahwa tanaman atau tumbuhan yang mengandung senyawa bioaktif seperti alkaloid, triterpenoid, flavonoid dan glikosida mempunyai aktivitas sebagai antioksidan dan antidiabetes (Suarsana, et al.2008). Penelitian lain yang telah dilakukan bahwa senyawa fitokimia memiliki kemampuan untuk menghambat kerja enzim α -glukosidase seperti senyawa golongan alkaloid (Patel, et al, 2012), (yuliyanti,2014), triterpenoid (Lai et al, 2012), dan flavonoid (Wang et al, 2010).

Penghambatan alfa glukosidase oleh berbagai senyawa fenolik juga telah banyak dijelaskan dalam literatur, dimana antara lain

disebutkan bahwa alfa glukosidase secara efektif dihambat oleh flavonol (Lee et al, 2008), luteolin, myricetin, dan quercetin (Tadera et al,2006).

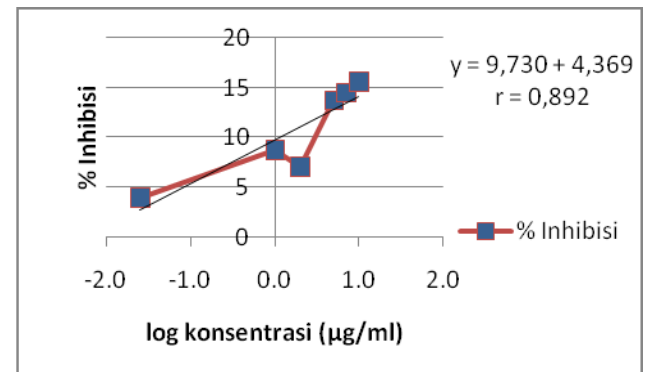
Hasil Uji Pendahuluan Aktivitas Akarbose (pembanding)

Sebelum melakukan uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase pada ekstrak buah kiwi, dilakukan terlebih dahulu uji aktivitas akarbose sebagai pembanding dengan konsentrasi berbeda dan akarbose saat pengujian menggunakan konsentrasi rendah, karena akarbose dijadikan standar sebagai penghambat enzim.

Akarbose merupakan salah satu obat penurun gula darah yang bekerja menghambat kerja dari enzim dimana akarbose berperan sebagai inhibitor terhadap enzim sukrase, maka kerja dari enzim ini akan dihambat secara reversibel kompetitif, sehingga tidak semua sukrosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan fruktosa dan terjadi penurunan absorpsi glukosa (Ary Rizki Darmawi dkk,2015). Hasil pengujian diperoleh bahwa akarbose memiliki efek penghambatan aktivitas α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 13,672 ppm. Dari hasil persamaan regresi linier yang diperoleh Berdasarkan hasil uji% inhibisi α -glukosidase pada akarbose yang diperoleh, maka dapat dibuat kurva. Dalam hubungan berdasarkan persamaan regresi linier antara log konsentrasi dan persentase inhibisi. Persamaan regresi linier yang diperoleh adalah $y = 9,730 + 4,369 X$. Dari persamaan regresi linier tersebut

diperoleh yaitu IC_{50} pada akarbose sebagai pembanding sebesar 13,672 ppm dan didapat nilai koefisien korelasi sebesar 0,892.

Tabel 2. Hasil kurva Aktivitas penghambatan Enzim α -Glukosidase Pada Akarbose



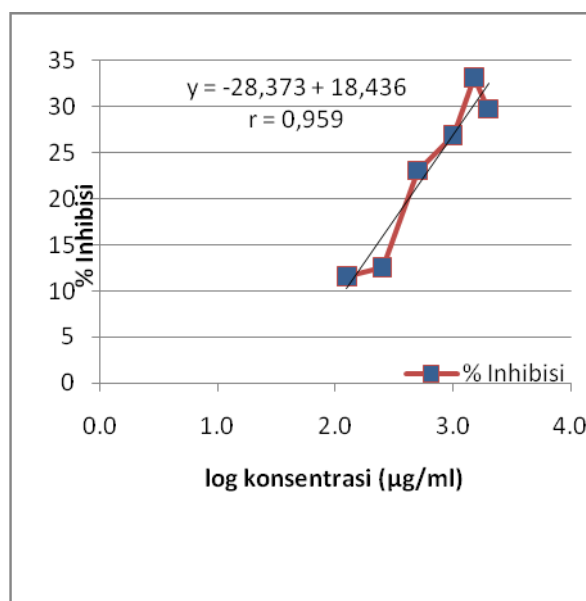
Hasil Penetapan Aktivitas Buah Kiwi (*Actinidia deliciosa*)

Uji aktivitas buah kiwi ini, dikerjakan dengan berbagai konsentrasi ekstrak buah kiwi agar mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap daya inhibisi dapat dinyatakan dalam persen inhibisi atau IC_{50} . Ekstrak buah kiwi saat pengujian menggunakan konsentrasi sampel yang tinggi dikarenakan belum diketahui aktivitasnya dibandingkan akarbose yang menggunakan konsentrasi yang kecil karena akarbose di jadikan standar sebagai penghambat enzim. Persen inhibisi menunjukkan jumlah persentase enzim yang terhambat oleh konsentrasi sampel, sehingga makin besar nilai persen menunjukkan makin besar inhibisinya terhadap enzim, dan sebaliknya (Hardoko dkk, 2015).

IC_{50} menunjukkan kemampuan dari sampel dalam menghambat aktivitas

enzim sebesar 50 persen, sehingga makin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas inhibisi makin tinggi, dan sebaliknya. Nilai IC_{50} yaitu konsentrasi ekstrak dari penghambat α -glukosidase yang dapat menghambat 50% dari aktivitas α -glukosidase.

Tabel 3. Hasil Kurva Aktivitas Penghambat Enzim α -Glukosidase Ekstrak Etanol 70%



KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Tanaman buah kiwi (*Actinidia Deliciosa*) memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim α -glukosidase ekstrak etanol 70% , dengan nilai IC_{50} 4,251 ppm. Inhibisi ekstrak lebih rendah jika dibandingkan dengan akarbose yang memiliki inhibisi hambat dengan nilai IC_{50} sebesar 13,672 ppm. Meskipun memiliki inhibisi hambat ekstrak rendah, buah kiwi dapat digunakan sebagai pengobatan antidiabetes, seperti

diabetes melitus dan dapat dikonsumsi dalam jumlah besar untuk mendapatkan efek terapi diabetes yang maksimal.

Saran

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan, yang dapat digunakan sebagai acuan penelitian selanjutnya seperti isolasi, uji *in vivo*, dan uji *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Betram G.Katzung, Susan B. Masters, Anthony J. Trevor, 2013. *Farmakologi Dasar & Klinik edisi 12*.
- Bio-tek Instrument. (2005). *Elx808™ Absorbance Microplate Reader Operator;s Manual*. Agustus 23, 2016. <http://www.biotek.com/>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. (edisiIV). Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Farmakologi dan Teraupetik Fakultas Kedokteran UniversitasIndonesia. 2007. *Farmakologi dan Terapi edisi V*. Jakarta : Gaya Baru, 485-494.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI.
- Dipiro, J.T., Talbert, RL., Yees, G. C., Matzke, G.R., Wells, B.G., &

Posey, L.M. 2008..
Pharmacotherapy sixth edition .
New York : McGraw-Hill.

Syamsudin, 2013. *Farmakologi
Molekuler Mekanisme Kerja Obat
Pada Tingkat Molekul.*