

ISOLASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES KULIT BATANG TUMBUHAN JELUTUNG (*Dyera costulata*)

Arjinal Arjinal, Muhammad Almurdani, Rudi Hendra, Hilwan Yuda Teruna *

Program Studi Pasca Sarjana Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau,
Pekanbaru (28293), Riau, Indonesia

*email: hyteruna@lecturer.unri.ac.id

Received 6 December 2019

Accepted 22 January 2020

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes senyawa dari hasil isolasi ekstrak *n*-heksana dan diklorometana kulit batang jelutung (*Dyera costulata*). Teknik ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan tahap isolasi dilakukan dengan metode kromatografi vakum cair. Uji aktivitas antidiabetes dilakukan menggunakan metode penghambatan aktivitas enzim α -Glukosidase dengan substrat *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosida (*p*-NPG) dengan akarbose sebagai obat standar dan diukur pada panjang gelombang 415 nm. Hasil isolasi yang dilakukan pada ekstrak diklorometana diperoleh senyawa asam benzoat, sedangkan dari ekstrak *n*-heksana didapatkan senyawa lupeol. Hasil uji antidiabetes menunjukkan bahwa asam benzoat memiliki aktivitas sedang dengan nilai IC_{50} 143,259 μ g/mL, sedangkan lupeol memiliki aktivitas kuat dengan nilai IC_{50} 42,257 μ g/mL (akarbose IC_{50} 19,734 μ g/mL). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat antidiabetes.

Kata kunci: *Dyera costulata*, Asam Benzoat, Lupeol, Akarbose

Abstract

The purpose of this research was aimed to investigate the antidiabetic activity of the compound from the isolation dichloromethane extracts and *n*-hexane jelutung bark (*Dyera costulata*). Extraction technique is done by maceration method and isolation stage is done by liquid vacuum chromatography method. Antidiabetic activity test have been carried out used the α -glucosidase enzyme activity inhibition method with the substrate *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosida (*p*-NPG) with rootbose as a standard drug and measured at a wavelength of 415 nm. The results of isolation carried out on dichloromethane extracts obtained benzoic acid compounds, while from *n*-hexane extract obtained lupeol compounds. The results of antidiabetic test showed that benzoic acid had moderate activity with IC_{50} value 143,6173 μ g/mL, whereas lupeol had strong activity with IC_{50} value 43,0016 μ g/mL (acarbose IC_{50} 19,734 μ g/mL). Therefore, it can be concluded that this plant can be used as an antidiabetic drug.

Keywords: *Dyera costulata*, Asam Benzoat, Lupeol, Acarbose

Pendahuluan

Diabetes mellitus merupakan penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat Riau. Hal ini dibuktikan dari data Riskersdas tahun 2013 yang melaporkan provinsi Riau berada di urutan nomor tiga tertinggi di Indonesia penderita *diabetes mellitus* sebesar 1,0 %.

Peningkatan jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia dari tahun ke tahun mengalami kenaikan yang cukup signifikan dimana pada tahun 2007 dengan prevalensi 1,1 % menjadi 2,1 % pada tahun 2013.

Didalam penatalaksanaan penyakit diabetes, terdapat beberapa program yang dapat dilaksanakan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan adalah dengan memperbanyak temuan sumber obat baru dengan pendekatan etnomedisin terhadap tumbuhan obat tradisional yang digunakan oleh suku-suku pedalaman. Salah satu tumbuhan yang sangat bermanfaat bagi penduduk suku pedalaman sebagai tradisional adalah tumbuhan jelutung.

Jelutung merupakan tumbuhan yang berasal dari famili Apocynaceae yang berupa pohon dengan diameter batang kayu sekitar 100 cm dengan tinggi mencapai 25-45 meter (Martawijaya *et al.*, 2005).

Penelitian sebelumnya telah dilaporkan oleh Kouji *et al.* (1992), yang meneliti daun *D. costulata* sebagai penghambat alergi. Penelitian tersebut menggunakan metode *passive cutaneous anaphylaxis* untuk reaksi alergi tipe 1 yang diuji pada ekstrak dan senyawa murni yang diisolasi dari *D. costulata*. Hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak butanol dari daun *D. costulata* mampu menghambat alergi sebesar 55% dan senyawa murni yang didapatkan adalah dimetilinositol mampu menghambat alergi sebesar 34.2%.

Subhadhirasakul *et al.* (2003), yang meneliti ekstrak kloroform dan *n*-butanol dari daun *D. costulata*. Hasil penelitian ini diperoleh senyawa β -amirin dan rhamnazin yang diisolasi dari ekstrak kloroform dan kuersetin-3-O- α -L-rhamnopyranosida yang diisolasi dari ekstrak *n*-butanol.

Sejauh ini belum ada yang melaporkan tentang uji antidiabetes dari kulit batang tumbuhan ini. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dan aktivitas antidiabetes dari kulit batang *D. costulata* sehingga dapat memberikan informasi dalam pemanfaatan tumbuhan *D. costulata*.

Metode Penelitian

Alat dan bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat destilasi, *ultrasonicator* (Kery Pulsatron), satu set kromatografi cair vakum, satu set alat HPLC (Shimadzu LC solution), satu set *flash chromatography*, satu unit *rotary evaporator* (Buchi R-114), lampu UV model UVL-52(254 dan 366 nm), alat penentu titik leleh *Fisher Johns*, spektrofotometer UV-Visible (Genesys 10S UV-Vis), spektrofotometer IR (Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR Agilent 500 MHz dan peralatan lain yang umum digunakan sesuai cara kerja.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang *D. costulata* diambil dari Kecamatan Kelayang, Kabupaten Indragiri Hulu, Provinsi Riau. Pelarut yang digunakan adalah metanol, etil asetat, *n*-heksana, diklorometana, dimetil sulfoksida asam sulfat, kloroform, amoniak, reagen penampak noda anisaldehyd, pereaksi Dragendorff, pereaksi Mayer, pereaksi Liebermann Burchard, HCl pekat, larutan besi(III) klorida 1%, aqua DM, pelat KLT silika gel GF₂₅₄, silika gel 60 GF₂₅₄, silika gel 60 (230-400 mesh), enzim α -glukosidase, akarbose.

Preparasi Sampel

Kulit batang tumbuhan jelutung dikering anginkan dan dijaga agar tidak terkena sinar matahari secara langsung, kemudian dihaluskan hingga menjadi bubuk yang siap untuk dimaserasi.

Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk kulit batang jelutung sebanyak 3,9 kilogram dimaserasi secara bertingkat dalam botol gelap dengan menggunakan pelarut diklorometana selama 3 hari, kemudian disaring. Proses ekstraksi dilakukan hingga beberapa kali pengulangan sampai hasil penyaringan bening. Maserat yang diperoleh diupkan pelarutnya menggunakan alat *rotary*

evaporator, sehingga didapat ekstrak diklorometana. Selanjutnya diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana dengan cara yang sama, sehingga didapatkan ekstrak total heksana. Ekstrak ini kemudian dianalisis menggunakan KLT untuk melihat noda dan perbandingan eluen terbaik untuk menjadi acuan ke tahap isolasi menggunakan VLC.

Uji Antidiabetes

Uji antidiabetes menggunakan metode penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase dengan substrat *p*-nitrophenyl- α -D-glucopyranosida (*p*-NPG) oleh Salehi *et al.* (2013), Sheng *et al.* (2014) dan Zhang *et al.* (2016). Sampel di encerkan dengan metode *two fold dilution* dari konsentrasi 1000 - 31,25 μ g/mL. Sebanyak 10 μ L DMSO (B_0) dan 10 μ L sampel (S_0) ditambah dengan 50 μ L buffer fosfat pH 7, 25 μ L *p*-NPG 20 mM serta 10 μ L DMSO (B_1) dan 10 μ L sampel (S_1) dengan 50 μ L buffer fosfat pH 7, 25 μ L *p*-NPG 20 mM dan 25 μ L α -Glukosidase 0,2 U/mL dicampur di dalam *microplate* 96-well dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 μ L Na_2CO_3 0,1 M, selanjutnya absorbansi diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 415 nm. Hal yang sama juga dilakukan pada kontrol positif akarbose dengan konsentrasi *two fold dilution* 100 - 3,125 μ g/mL. Nilai % inhibisi dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(B_1 - B_0) - (S_1 - S_0)}{(B_1 - B_0)} \times 100$$

Keterangan:

($B_1 - B_0$) = Absorbansi tidak mengandung sampel

($S_1 - S_0$) = Absorbansi sampel

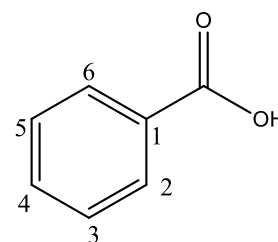
Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan logaritma ($Y = a \ln X + b$) dari kurva kalibrasi dengan memplotkan konsentrasi sampel vs nilai % inhibisi.

Hasil Dan Pembahasan

Isolasi Senyawa

Hasil isolasi yang diperoleh dari kulit batang jelutung ekstrak diklorometana adalah kristal berwarna kuning kecoklatan yaitu pada fraksi DC-D-01. Spektroskopi inframerah dari DC-D-01 memperlihatkan adanya serapan maksimum pada bilangan gelombang 3070 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus O-H, pada 2950, 2881 dan 2878 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-H, pada 1697 mengindikasikan adanya gugus C=O, dan pada 1584 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C=C. Analisis spektrum 1H -NMR memperlihatkan pergeseran kimia pada δH 8,15 ppm (1H, *d* = 5 Hz), 7,64 ppm (1h, *dd* = 5 Hz), 7,50 (1H, *d*).

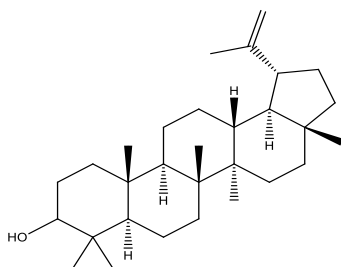
Sehingga senyawa ini diperkirakan sebagai Asam benzoat.



Gambar 1. Asam Benzoat

Hasil isolasi yang diperoleh dari kulit batang jelutung ekstrak *n*-heksana berupa kristal putih yaitu pada fraksi DC-H-01. Analisis inframerah senyawa DC-H-01 menunjukkan adanya serapan maksimum pada bilangan gelombang 3286 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus O-H, pada 2946, 2856 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-H alifatik, pada 1637 mengindikasikan adanya gugus C=C, dan pada 1188 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-O. Analisis spektrum 1H NMR dari senyawa DC-H-01 menunjukkan sinyal pada daerah δH 4,68 dan 4,56 (1H, *s*) diduga merupakan sinyal dari proton metilen yang terikat pada C kuartener sehingga muncul sebagai puncak singlet.

Selanjutnya terlihat adanya sinyal untuk proton metin pada δ H 3,20 (1H, m) yang diduga merupakan proton metin yang terikat pada C yang mengikat OH yang terkopling dengan dua proton tetangganya dan juga terkopling dengan proton dari gugus OH sehingga muncul sebagai puncak multiplet. Sinyal ini khas untuk triterpenoid yang mengikat OH pada posisi C-3. Sinyal pada δ H 0,77; 0,80; 0,84; 0,96; 0,98; 1,04 dan 1,69 yang merupakan khas dari proton metil senyawa triterpenoid. Senyawa DC-H-01 diduga senyawa lupeol



Gambar 2. Lupeol

Tabel 1. Nilai IC_{50} senyawa hasil isolasi dari kulit batang *D. costulata*

Sample	IC_{50} (ppm)
Asam Benzoat	143,259 \pm 0,327
Lupeol	42,136 \pm 0,157
Akarbose	0,974 \pm 0,342

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kulit batang *D. costulata* mengandung senyawa asam benzoat dan lupeol. Uji aktivitas antidiabetes dari senyawa asam benzoat menunjukkan nilai IC_{50} 143,259 \pm 0,327, sedang sedangkan aktivitas antidiabetes dari senyawa lupeol menunjukkan hasil IC_{50} 42,136 \pm 0,157.

Daftar Pustaka

Kouji, S., Hosomi, K., Arakawa, T., Uzawa, M., Ito, H., Saburi, Y., 1992. Isolation and Characterization of an Allergy Inhibitor from the Jelutong, *Dyera costulata* Hook. f., *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 56(6): 975-975

Aktivitas antidiabetes

Uji antidiabetes dilakukan pada senyawa asam benzoat dan lupeol dengan metode penghambatan α -glukosidase (in vitro) dengan p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (p-NPG). Reaksi diakhiri dengan penambahan 100 μ L Na₂CO₃ 0,1 M. Kemudian, absorbansi diukur dengan pembaca plat 96-sumur. Asam benzoat menunjukkan aktivitas enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 143,6173 μ g/mL. Sedangkan aktivitas senyawa lupeol dengan nilai IC_{50} 43,0016 μ g/mL.

Tabel 1

Penelitian penghambatan enzim α -glukosidase terhadap senyawa asam benzoat dan lupeol belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada hibah penelitian tim pascasarjana KEMENRISTEKDIKTI tahun anggaran 2018 yang telah membiayai penelitian ini dengan kontrak Nomor: 339/UN.19.5.1.3/PP/2018, tanggal 19 Februari 2018.

Martawijaya, A., Kartasujana, I., Kadir, K., Prawira, S.A., 2005, Atlas Kayu Indonesia jilid I, Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen kehutanan, Bogor
Riset Kesehatan Dasar (Riskerdas) 2013 .Badan Penelitian Dan

- Pengembangan Kesehatan
Kementerian Kesehatan RI Tahun
2013. p: 87- 89.
- Salehi, P., Asghari, B., Esmaili, M. A.,
Dehghan, H., and Ghazi, I., 2013. α -
Glucosidase and α -amylase
inhibitory effect and antioxidant
activity of ten plant extracts
traditionally used in Iran for
diabetes. *Journal of Medicinal
Plants Research*, 7(6), 257–266.
- Sheng, Z., Dai, H., Pan, S., Wang, H.,
Hu, Y., and Ma, W., (2014).
Isolation and Characterization of an
 α -Glucosidase Inhibitor from *Musa*
spp. (Baxijiao) Flowers. *Molecules*,
19, 10563–10573.
- Subhadirasakul, S., Jankeaw B, Malinee
A., 2003. Chemical constituent and
antioxidative activity of the extracts
from *Dyera costulata* leaves. *J. Sci.
Technol.* 25(3): 351-357.
- Zhang, L., Tu, Z., Yuan, T., Wang, H.,
Xie, X., and Fu, Z., (2016).
Antioxidants and α -glucosidase
inhibitors from *Ipomoea batatas*
leaves identified by bioassay-guided
approach and structure-activity
relationships. *Food Chemistry*, 208,
61–67.