

AKTIVITAS EKSTRAK N-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN METANOL DARI DAUN *PASSIFLORA FOETIDA* SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM α -GLUCOSIDASE (Activity of N-Hexane, Ethyl Acetate and Methanol Extracts from *Passiflora foetida* Leaves as α -Glucosidase Enzymes Inhibitor)

(Submitted :8 Desember 2020, Accepted : 31 Maret 2021)

Nita Triadisti*, Irfan Zamzani
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin
Korespondensi : triadisti@umbjm.ac.id

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan permasalahan kesehatan utama yang memiliki karakteristik terjadinya peningkatan level glukosa darah posprandial, dimana penghambat enzim α -glukosidase merupakan salah satu pilihan terapi yang efektif. Pilihan penghambat enzim α -glukosidase yang terbatas memicu dilakukannya penelitian untuk memperoleh kandidat penghambat enzim α -glukosidase baru. Kelubut (*Passiflora foetida*). *P. foetida* telah digunakan secara turun temurun dalam pengobatan diabetes di Kalimantan, biasanya akar dan daun merupakan bagian tanaman yang digunakan dalam pengobatan diabetes. Data ilmiah Kelubut mengenai penghambatan α -Glukosidase belum pernah dilaporkan. Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi bertingkat, sedangkan uji penghambatan α -Glukosidase dilakukan dengan metode spektrofotometri menggunakan microplate reader. Hasil uji menunjukkan bahwa semua ekstrak memiliki aktivitas penghambatan terhadap α -Glukosidase, dan aktivitas terbaik dimiliki oleh ekstrak metanol daun *Passiflora foetida* dengan IC₅₀ 580,04 μ g/mL.

Kata kunci : *Passiflora foetida*, Maserasi, Penghambat Enzim α -Glukosidase, Ekstrak Metanol

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a major health problem characterized by an increase in postprandial blood glucose levels, where α -glucosidase enzyme inhibitors are an effective therapeutic option. The limited choice of α -glucosidase enzyme inhibitors has triggered a study to obtain new α -glucosidase inhibitor candidates. Kelubut (*Passiflora foetida*) has been used for generations in the treatment of diabetes in Kalimantan, usually the roots and leaves are part of the plant used in the treatment of diabetes. Scientific data regarding α -glucosidase inhibition have not been reported. The extraction was carried out using the multilevel maceration method, while the α -glucosidase inhibition test was carried out by the spectrophotometric method using a microplate reader. The assay results showed that all extracts had inhibitory activity against α -glucosidase, and the best activity was the methanol extract of *Passiflora foetida* leaves with IC₅₀ 580.04 μ g / mL*

Key Words : *Passiflora foetida*, Maceration, α -Glucosidase Enzyme Inhibitor, Methanol Extract

Pendahuluan

Diabetes mellitus merupakan permasalahan kesehatan utama yang telah mencapai tingkat yang mengkhawatirkan, hal ini dikarenakan hampir setengah miliar manusia telah hidup dengan diabetes di seluruh dunia (IDF, 2011). Diabetes tipe 2 merupakan kasus mayoritas dari kasus diabetes yang terjadi di dunia, yang memiliki karakteristik terjadinya peningkatan level

glukosa darah posprandial, dimana pengendaliannya merupakan salah satu upaya penting dalam mengatasi peningkatan kasus diabetes, terutama diabetes tipe 2 (Kalra, 2014). Pengendalian level glukosa darah posprandial dapat dilakukan dengan menghambat absorpsi glukosa, yang secara efektif dapat dilakukan oleh penghambat enzim α -glukosidase, dimana

penghambat enzim ini dapat menghambat pemecahan disakarida menjadi glukosa, sehingga dapat menurunkan level glukosa darah postprandial (IDF, 2011).

Penghambat enzim α -glukosidase merupakan terapi lini pertama yang direkomendasikan oleh *International Diabetes Federation* (IDF) dan *American Association of Clinical Endocrinologist* (AACE) (Kalra, 2014). Penggunaan penghambat enzim α -glukosidase dapat menurunkan level glukosa postprandial 40 sampai 50 mg / dL (Dipiro et al., 2011). Penghambat enzim α -glukosidase dapat digunakan tidak hanya untuk monoterapi dan kombinasi dengan kelas terapi diabetes lainnya, tetapi juga dapat digunakan untuk individu dengan prediabetes dan resiko tinggi prediabetes (Kalra, 2014).

Fenomena peningkatan kasus diabetes, terutama diabetes tipe 2 menjadi perhatian khusus yang mendorong pencarian kandidat obat baru. Voglibose, akarbose dan miglitol merupakan Penghambat enzim α -glukosidase yang telah digunakan secara klinis. Pilihan penghambat α -glukosidase yang terbatas, memicu dilakukannya penelitian untuk memperoleh kandidat penghambat enzim α -glukosidase baru.

Alam merupakan sumber berbagai senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan menjadi agen terapi baru. Indonesia merupakan negara mega biodiversitas, memiliki banyak tanaman obat yang potensial untuk dikembangkan sebagai agen terapi baru, salah satunya dari tanaman obat Kalimantan, Kelubut (*Passiflora foetida*). *P. foetida* telah digunakan secara turun temurun dalam pengobatan diabetes di Kalimantan, biasanya akar dan daun merupakan bagian tanaman yang digunakan dalam pengobatan diabetes. Studi mengenai aktivitas dari Kelubut yang pernah dilaporkan antara lain sebagai antikanker (Shankar et al., 2017), antiinflamasi, analgesik dan sitotoksik (Asadujaman et al., 2014; Fernandes et al., 2013; Sasikala et al., 2011), antikolesterol (Mulyani, 2019), serta antibakteri dan antimikroba (Mohanasundari et al., 2007; Patil & Paikrao, 2012).

Studi tentang *P. foetida* dalam pengobatan diabetes masih sangat jarang, laporan mengenai aktivitas nya dalam diabetes adalah dalam hal penurunan kadar gula darah (Khaerati et al.,

2015), tetapi aktivitas nya sebagai penghambat α -Glukosidase belum pernah dilaporkan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginvestigasi aktivitas penghambatan enzim α -Glukosidase dari ekstrak daun *P. foetida* dengan menggunakan berbagai pelarut dengan polaritas yang berbeda, yaitu metanol, etil asetat dan n-heksana.

Metode

Bahan dan Alat

Metanol, etil asetat dan n-heksana (PT. Smart Lab). Akarbose (Sigma-Aldrich), enzim α -glukosidase (Sigma Aldrich), bovine serum albumin (Sigma Aldrich), para-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Sigma Aldrich). DMSO, NaOH, kalium dihidrogenfosfat, natrium karbonat (Merck). Vial, pipet mikro (Eppendorf), pipet tetes, *yellow tip*, *blue tip*, *microplate reader*, *microplate well 96*, timbangan analitik, pH meter, alat-alat gelas.

Ekstraksi

Serbuk daun *P. foetida* dimaserasi bertingkat, menggunakan pelarut dengan polaritas yang meningkat, mulai dari n-heksana, etil asetat, kemudian methanol. Maserasi dilakukan selama 3 hari dengan pengadukan yang teratur, sampai filtrate terlihat hampir tidak berwarna. Filtrat selanjutnya dievaporasi, dan ampas yang sudah dikeringkan dimaserasi berturut-turut dengan pelarut etil asetat dan methanol. Ekstrak yang didapatkan ditimbang dan disimpan pada suhu dingin sampai waktunya dianalisis.

Pengujian Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase

Prosedur pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang dilakukan menggunakan metode yang diadopsi dengan sedikit penyesuaian (Elya et al., 2015). Pada pengujian ini, setiap sampel, baik ekstrak maupun akarbose memiliki kontrolnya masing-masing.

Pengujian Blanko

Dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 66 μ L dan substrat pNP-G sebanyak 17 μ L dengan konsentrasi 4 mM, diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, kemudian ditambahkan 17 μ L enzim α -glukosidase (0,08 Unit/mL) diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit dan

ditambahkan larutan Na_2CO_3 (267 mM) sebanyak 100 μL untuk menghalangi reaksi enzim dan selanjutnya p-nitrofenol sebagai hasil reaksi enzim, dibaca absorbansinya dengan instrumen *microplate reader*. Untuk larutan kontrol blanko, larutan Na_2CO_3 (267 mM) sebanyak 100 μL ditambahkan sebelum dilakukan penambahan enzim α -glukosidase supaya reaksi dapat dihalangi.

Pengujian Sampel

Sebanyak 5,0 mg sampel (ekstrak dan akarbose) dilarutkan dalam dapar fosfat (pH 6,8) hingga 10 mL (500ppm), kemudian diencerkan sampai didapat konsentrasi uji yang diinginkan. Larutan akarbose, pada masing-masing konsentrasi sebanyak 30 μL , dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 36 μL dan substrat pNP-G sebanyak 17 μL (4 mM), diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, kemudian ditambahkan 17 μL enzim α -glukosidase (0,08 Unit/mL) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 15 menit dan ditambahkan larutan Na_2CO_3 (267 mM) sebanyak 100 μL untuk menghalangi reaksi enzim, sehingga reaksi enzim terhenti. p-nitrofenol sebagai hasil reaksi enzim, dibaca absorbansinya dengan instrumen *microplate reader*. Untuk larutan kontrol digunakan larutan Na_2CO_3 (267 mM) sebanyak 100 μL ditambahkan sebelum dilakukan penambahan enzim α -glukosidase untuk menghalangi reaksi enzim. Persentase penghambatan enzim α -glukosidase dapat diketahui dengan rumus :

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{[(\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel}) / \text{Abs. blanko}] \times 100\%}{}$$

Keterangan:

Abs. blanko = Absorbansi blanko yang telah dikoreksi oleh kontrol blanko;

Abs. sampel = Absorbansi sampel yang telah dikoreksi oleh kontrol sampel

Aktivitas penghambatan sampel terhadap enzim α -glukosidase dinyatakan dengan *Inhibition Concentration* 50% (IC_{50}) yaitu konsentrasi sampel yang dapat menghambat 50% enzim α -glukosidase (Triadisti et al., 2017). Nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi $y = a + bx$, dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % penghambatan sebagai sumbu y. Nilai IC_{50} dihitung dengan rumus :

$$\text{IC}_{50} = (50 - a) / b$$

Hasil dan Pembahasan

Studi ini dilakukan untuk mengevaluasi potensi penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak daun *P. foetida* yang diperoleh dari berbagai pelarut (metanol, etil asetat dan n-heksana). Penghambatan enzim α -glukosidase memperlihatkan penundaan degradasi karbohidrat, oleh karena itu, penghambat enzim α -glukosidase merupakan agen terapeutik untuk manajemen diabetes tipe 2 (Sim et al., 2008).

Akarbose digunakan sebagai standar, dimana hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari akarbose dapat dilihat pada Tabel 1. Pada pengujian ini didapatkan IC_{50} akarbose 1,70 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh ekstrak metanol, etil asetat, dan n-heksana dari daun *P. foetida* dapat dilihat pada Tabel 1. Semua ekstrak memperlihatkan penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Ekstrak n-heksana memperlihatkan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase yang paling lemah dengan IC_{50} 2369 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol memperlihatkan penghambatan enzim α -glukosidase yang lebih kuat, dengan IC_{50} antara lain 889.46 $\mu\text{g/mL}$ dan 580.04 $\mu\text{g/mL}$ berturut-turut.

Tabel 1. Aktivitas penghambatan α -Glukosidase

No.	Sampel	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1.	Ekstrak n-Heksana	2369,00
2.	Ekstrak Etil Asetat	889,46
3.	Ekstrak Metanol	580,04
4	Akarbose	1,70

Penghambatan enzim α -Glukosidase dikarenakan adanya senyawa-senyawa yg terkandung dalam ekstrak. Aktivitas penghambatan dapat dikarenakan adanya kemungkinan efek sinergi antar senyawa-senyawa yg terkandung dalam ekstrak. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase akarbose lebih kuat dibandingkan dari semua ekstrak, dimana IC_{50}

akarbose memiliki nilai yang lebih kecil dari IC₅₀ semua ekstrak.

Daun *P. foetida* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida, glikosida antrakuinon, terpenoid, steroid, dan senyawa-senyawa fenol (Birudu et al., 2019; Patil et al., 2013; Simão et al., 2018). Penelitian oleh Yin et al. (2014) menunjukkan bahwa senyawa-senyawa alkaloid memiliki aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase, baik secara kompetitif maupun nonkompetitif (Yin et al., 2014). Flavonoid-flavonoid yang terkandung dalam berbagai bahan alam juga memiliki aktivitas penghambatan enzim α -Glukosidase, baik dengan mekanisme penghambatan campuran maupun non-kompetitif (Hamid et al., 2010; Tadera et al., 2006; Yin et al., 2014). Glikosida flavonoid memiliki aktivitas penghambatan enzim α -Glukosidase dikarenakan kemiripan struktur kimia glikosida dengan substrat, dengan demikian glikosida dapat berikatan pada sisi aktif enzim α -glukosidase (Elya, Basah, et al., 2012). Tanin memiliki kemampuan untuk menghambat enzim α -glukosidase dikarenakan dapat mengikat protein untuk membuat kompleks (Yin et al., 2014).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah data ilmiah mengenai *P. foetida*. Ekstrak yang paling aktif, diharapkan dapat dikembangkan menjadi obat tradisional yang memiliki dasar ilmiah untuk dimanfaatkan dalam membantu mengatasi diabetes atau dapat dilanjutkan penelitiannya untuk mendapatkan fraksi dan senyawa murni aktif yang memiliki aktivitas penghambatan enzim α -Glukosidase.

Daftar Pustaka

- Asadujjaman, M., Mishuk, A. U. Ila., Hossain, M. A. Ila., & Karmakar, U. K. Ila. (2014). Medicinal potential of *Passiflora foetida* L. plant extracts: biological and pharmacological activities. *Journal of Integrative Medicine*, 12(2), 121–126. [https://doi.org/10.1016/S2095-4964\(14\)60017-0](https://doi.org/10.1016/S2095-4964(14)60017-0)
- Birudu, R. B., Naik M, J., Revana D, S., SK, J., & Janardhan, M. (2019). Phytochemical Screening of Ethanolic Extract of *Passiflora foetida* (Linn) and Medicinal Importance. *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 3(4), 324–327.
- Dipiro, J., Talbert, R., Yee, G., Matzke, G., Wells, B., & Posey, L. (2011). *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach*. In *Mc Graw Hill* (Eight Edit, Vol. 66). Mc Graw Hill Company.
- Elya, B., Basah, K., Mun'Im, A., Yulastuti, W., Bangun, A., & Septiana, E. K. (2012). Screening of α -glucosidase inhibitory activity from some plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/281078>
- Elya, B., Handayani, R., Sauriasari, R., Azizahwati, Hasyati, U. S., Permana, I. T., & Permatasari, Y. I. (2015). Antidiabetic activity and phytochemical screening of extracts from indonesian plants by inhibition of alpha amylase, alpha glucosidase and dipeptidyl peptidase IV. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(6), 273–278. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2015.279.284>
- Fernandes, J., Noronha, M. A., & Fernandes, R. (2013). Evaluation of Anti-inflammatory activity of stems of *Passiflora foetida* Linn in rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(2), 1236–1241.
- Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Usman, L. A., Ameen, O. M., & Lawal, A. (2010). Antioxidants : Its medicinal and pharmacological application. *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, 4(August), 142–151.
- IDF. (2011). *Diabetes Atlas* (7th Ed). International Diabetes Federation.
- Kalra, S. (2014). Alpha-glucosidase inhibitors. *Journal of The Pakistan Medical Association*, 64(4), 474–476.
- Khaerati, K., Ihwan, & Maya, M. S. (2015). Antidiabetic Activity Test of *Rambusa* (*Passiflora foetida* L) Leaves Extract On Mice (*Mus musculus*) Induced By Glucose. *Galenika Journal of Pharmacy*, 1(2), 99–104. <https://doi.org/https://doi.org/10.22487/j24428744.2015.v1.i2.6240>
- Mohanasundari, C., Natarajan, D., Srinivasan, K., Umamaheswari, S., & Ramachandran, A.

- (2007). Antibacterial properties of *Passiflora foetida* L. – A common exotic medicinal plant. *African Journal of Biotechnology*, 6(23r), 2650–2653. <https://doi.org/10.5897/AJB2007.000-2426>
- Mulyani, E. (2019). Studi In-Vitro: Efek Anti Kolesterol Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora Foetida*, L.). *Jurnal Surya Medika*, 4(2), 60–65. <https://doi.org/https://doi.org/10.33084/jsm.v4i2.606>
- Patil, A. S., & Paikrao, H. M. (2012). Bioassay Guided Phytometabolites Extraction for Screening of Potent Antimicrobials in *Passiflora foetida* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2(9), 137–142. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2012.2927>
- Patil, A. S., Paikrao, H. M., & Patil, S. R. (2013). *Passiflora foetida* Linn: A Complete Morphological and Phytopharmacological Review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(1), 285–296.
- Sasikala, V., Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2011). Analgesic and anti-inflammatory activities of *Passiflora foetida* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4(8), 600–603. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60155-7](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60155-7)
- Shankar, D., Basker, S., & Karthik, S. (2017). In Vitro Cytotoxic and Apoptotic Effect of *Passiflora foetida* Against Cervical Cancer Cells and Its Fourier Transform Infrared Profiling. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(11), 46–49. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i11.20226>
- Sim, L., Quezada-Calvillo, R., Sterchi, E. E., Nichols, B. L., & Rose, D. R. (2008). Human Intestinal Maltase-Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity. *Journal of Molecular Biology*, 375(3), 782–792. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.10.069>
- Simão, M. J., Barboza, T. J. S., Vianna, M. G., Garcia, R., Mansur, E., Ignacio, A. C. P. R., & Pacheco, G. (2018). A comparative study of phytoconstituents and antibacterial activity of in vitro derived materials of four *Passiflora* species. *Annals of The Brazilian Academy of Sciences*, 90(3), 2805–2813. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170809>
- Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2006). Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 52(2), 149–153. <https://doi.org/10.3177/jnsv.52.149>
- Triadisti, N., Sauriasari, R., & Elya, B. (2017). Fractionation and α -glucosidase inhibitory activity of fractions from *garcinia hombroniana pierre* leaves extracts. *Pharmacognosy Journal*, 9(4), 488–492. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.4.79>
- Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(3–4), 136–174. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.11.003>