

Concentration Effect of Brotowali Stem (*Tinospora Crispa* (L.)) in Ethanol Extracts on the A-Glukosidase Enzyme Inhibition

Hidayatul Maulida Fatikhurokhmah, Rudiana Agustini[✉]

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya
Gedung C5-C6 Kampus Ketintang, Surabaya, 60231, Indonesia

Info Artikel

Diterima Januari 2022

Disetujui Maret 2022

Dipublikasikan November
2022

Keywords:

α - glukosidase enzyme

IC₅₀

Brotowali ethanol extracts

Inhibition enzyme

Abstrak

Pemakaian obat oral antidiabetes bagi penderita diabetes dalam jangka panjang akan menimbulkan dampak pada tubuh. Oleh sebab itu diperlukan alternatif obat menggunakan tanaman herbal. Tanaman brotowali efektif untuk mengobati berbagai penyakit seperti diabetes karena mengandung senyawa aktif borapetosida C dan borapentol B. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh aktivitas inhibitor α -glukosidase terhadap penghambatan enzim α -glukosidase menggunakan variasi konsentrasi ekstrak etanol tanaman brotowali dengan menghitung absorbansi p-nitrofenol menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan λ 400 nm. Dilihat dari hasil pengujian aktivitas penghambatan ekstrak etanol brotowali pada konsentrasi yang berbeda memperlihatkan nilai IC₅₀ sebesar 1.663 μ g/mL, lebih besar jika dibandingkan dengan acarbose sebagai pembanding yang memperlihatkan nilai IC₅₀ sebesar 246 μ g/mL. Nilai inhibisi tertinggi α -glukosidase ini terjadi pada konsentrasi pengenceran ekstrak 2000 ppm yaitu sebesar 78,065% dan terendah pada konsentrasi pengenceran ekstrak 400 ppm yaitu sebesar 50,098%. Berdasarkan hasil, dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat pengaruh konsentrasi pemberian ekstrak batang brotowali terhadap penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka nilai serapannya akan semakin rendah sehingga menyebabkan semakin meningkatnya nilai presentase inhibitor α -glukosidase. Semakin rendah konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah nilai presentase inhibitor atau aktivitas penghambatan α -glukosidase.

Abstract

Antidiabetic oral use in the long run will have an effect on the body, thus providing a need for such medications as herbal plants. Brotowali plants are effective in treating diseases such as diabetes because they contain active borapetoxide c and borapentol B compounds. The purpose of the study is to identify the effect of inhibitor activity α - glucosidase against inhibition of the enzyme α - glucosidase using variations in the concentration of ethanol extract of brotowali plant by measuring the absorbance of p-nitrophenol with UV-Vis spectrophotometry with a wavelength of 400 nm. According to the results of testing the inhibition activity of brotowali ethanol extract at different concentrations showed an IC₅₀ value of 1,663 μ g / mL, lower when compared to acarbose as a comparison that shows an IC₅₀ value of 246 μ g / mL. The highest inhibition value of α -glucosidase occurs at the extract dilution concentration of 2000 ppm which is 78.065% and the lowest at the extract dilution concentration of 400 ppm which is 50,098%. Based on the results, it might be drawn to the conclusion that there is an effect of the concentration of brotowali stem extract on inhibition of the enzyme α -glucosidase. If the higher concentration of extract is the lower the value of the injection, causing the higher the value of α -glucosidase inhibitor. If the lower concentration of extract is, the lower the value of inhibitors or inhibitory activity.

© 2022 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:
Gedung C5 - C6 Kampus UNESA Ketintang, Jl. Ketintang Surabaya, 60231,
Indonesia
E-mail: rudianaagustini@unesa.ac.id

Pendahuluan

Di masa *new normal* saat ini pola penyakit di Indonesia menjadi semakin beragam. Pola hidup masyarakat sekarang ini mengakibatkan pola penyakit yang awalnya hanya masalah peradangan serta malnutrisi ke arah penyakit degeneratif, seperti diabetes mellitus. Menurut sebuah penelitian, virus covid-19 tidak hanya menyerang saluran pernapasan tetapi juga menyebabkan orang kesulitan untuk bernapas. Penelitian ini juga menyatakan bahwa orang-orang yang dikonfirmasi mengidap virus covid-19 berpotensi terkena diabetes setelah menjalani pengobatan atau yang umumnya disebut post covid-19. Menurut dr. Herry Nursetiyanto, Sp.PD, FINASIM, virus covid-19 digambarkan sebagai penyakit sistemik yang menyerang seluruh sistem organ pada tubuh manusia. Hal ini menyebabkan virus tersebut menempel dan merusak organ tubuh. Virus covid-19 ini dapat menyerang pankreas sehingga membuat pankreas menjadi rusak dan membuat berkurangnya produksi insulin oleh organ tersebut. Sehingga, kadar gula darah akan meningkat. Situasi ini mengharuskan penderita diabetes memerlukan bantuan kesehatan yang maksimal dalam memantau kadar gula darah. Sebuah aktivitas yang diberikan oleh suatu senyawa spesifik yang bisa menyembuhkan penyakit diabetes biasanya disebut antidiabetes.

Diabetes Mellitus atau yang umumnya disebut DM merupakan suatu kondisi penyakit dimana terjadi gangguan metabolisme yang dipicu oleh kenaikan glukosa dalam darah yang melewati batas normal atau hiperglikemia akibat kelainan metabolisme pada karbohidrat, lipid, dan protein yang dapat menyebabkan penurunan sekresi insulin (Sukandar, *et al.*, 2013). Menurut Organisasi Internasional Diabetes (IFD) menyebutkan bahwa per tahun 2019 dari 4.444 orang diseluruh dunia, sekitar 463 juta jiwa orang pada usia 20 hingga 79 tahun mengidap diabetes. Hal ini diperkirakan akan terus melonjak seiring dengan bertambahnya usia penduduk dan pola hidup masyarakat yang semakin mengikuti perkembangan jaman.

Kondisi hiperglikemik jika dibiarkan akan membuat stres oksidatif yang mengakibatkan rusaknya membrane dalam tubuh seperti kerusakan pada sel beta, resistensi insulin dan toleransi glukosa terganggu. Hiperglikemia menyebabkan gangguan pada metabolisme karbohidrat dan lemak. Radikal bebas hasil dari pemberian induksi dapat menyebabkan gangguan sekresi. Akibat dari hiperglikemik ini membuat metabolisme lipid terganggu yang ditandai oleh perubahan profil lipid dalam meningkatnya kadar kolesterol jahat, kolesterol total, trigliserida, dan penurunan kadar kolesterol baik (Wijaya, *et al.*, 2019). Upaya yang mampu dan bisa dilakukan dalam menangani penyakit diabetes mellitus adalah dengan cara non obat atau perubahan pola hidup (diet) dan cara menggunakan obat (farmakologi) seperti obat – obatan antidiabetik oral serta pengobatan insulin.

Acarbosa merupakan salah satu obat yang bisa digunakan oleh penderita diabetes. Acarbosa merupakan obat antidiabet yang dapat mengganggu sistem kerja enzim α -glukosidase yang terletak pada usus halus yang dapat memecah senyawa kimia melalui penambahan air pada oligosakarida yang tidak bisa diserap dan mengubah polisakarida menjadi monosakarida yang bisa diserap (Derosa & Maffioli, 2012).

Pemakaian obat buatan untuk antidiabetes seperti acarbosa dalam kurun waktu lama akan meninggalkan dampak pada tubuh kita seperti hepatoksisitas dan gejala gastrointestinal yang dapat merugikan selama pemakaian (Rosas-Ramírez, *et al.*, 2018), oleh sebab itu sebagai alternatif lain maka pemakaian obat dengan bahan alami pada kondisi saat ini menjadi cara terapi lain yang lebih dipertimbangkan karena potensi serta minimalnya dampak yang disebabkan. Masyarakat Indonesia pada umumnya lebih menyukai obat tradisional atau obat – obatan yang mengandung bahan alami untuk mengobati berbagai macam penyakit. Rata-rata pemakaian obat tradisional menggunakan tanaman mempunyai dampak yang lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan obat kimia dan lebih ekonomis sebagai alternatif obat bagi pasien penyakit diabetes.

Sebagian besar masyarakat Indonesia menggunakan tanaman brotowali yang merupakan jenis tanaman obat untuk mengobati penyakit diabetes. Secara kimiawi, tanaman ini banyak mengandung senyawa yang bisa mengobati beraneka ragam penyakit salah satunya yaitu sebagai penurun kadar gula darah. Menurut Pujiyanto (2019) menyebutkan bahwa tanaman Brotowali (*Tinospora crispa* (L.)) bisa ditemukan pada toko obat herbal atau bahan alam dan berkhasiat untuk mengobati berbagai penyakit seperti kudis, cacar air, cacingan, penyakit kuning, penyakit rajasinga, trakhoma, radang usus buntu, kholera, dan diabetes. Di negara India, tanaman brotowali juga digunakan untuk diuretik, tonik, dan afrodisiak. Kulit batangnya mengandung alkaloid, berberin dan kolumbin, palmitin, glikosida, pati, pikroretin serta harsa. Brotowali (*Tinospora crispa* (L.)) telah digunakan sejak awal abad ke-20 sebagai pengobatan diabetes mellitus, dengan cara mengolah batangnya menjadi tepung dan dijual dalam kemasan "sachet" (ouwels), yang biasa disebut Ouwel Antidiabetik, untuk pemberian secara oral (Pujiyanto, *et al.*, 2019).

Tanaman brotowali (*Tinospora crispa* (L.)) termasuk salah satu tanaman obat keluarga yang efektif sebagai antidiabetik. Tanaman ini bersumber dari Asia Tenggara dan tersebar di beberapa daerah, meliputi wilayah Indo Cina, Semenanjung Melayu, Indonesia dan Filipina. Dari segi etnobotani, tanaman brotowali (*Tinospora crispa* (L.)) daunnya dapat digunakan untuk mengobati rematik. Batangnya bisa digunakan sebagai antidiabetes, antipiretik, antimalaria, merangsang sekresi empedu, diuretik, dermatologi, diare dan meningkatkan fungsi pencernaan. Campuran batang serta akar dapat digunakan untuk penangkal racun atau detoksifikasi. Buahnya juga bisa untuk pengobatan sakit kuning atau ikterus dan nyeri sendi, sementara itu kulit kayunya dapat dimanfaatkan sebagai agen alergi, antispasmodik, dan antijamur. (Choundary, *et al.*, 2013).

Tanaman brotowali banyak mengandung senyawa aktif yang efektif untuk mengobati berbagai penyakit. Secara kimiawi, tanaman ini mengandung flavonoid, fenol, alkaloid, diterpenoid, lignin dan lakton. Senyawa aktif yang diidentifikasi sebagai komponen utama adalah terpenoid dan terpenoid glikosida. Borapetosida C dan borapentol B merupakan senyawa terpenoid glikosida yang bisa membuat naiknya glikogen dalam otot lurik dan ekspresi transporter glukosa sebagai fosforilasi reseptor insulin dan protein kinase B sehingga bisa menurunkan kadar gula darah pada diabetes tipe 2. (Ruana, *et al.*, 2012)(Ahmad, *et al.*, 2016) (Zamree, *et al.*, 2015). Menurut Badan Pengawasan Makanan dan Obat, untuk mengekstrak zat yang akan dipakai untuk pembuatan obat diharuskan memakai etanol sebagai pelarutnya.

Penelitian ini dimulai dengan metode pengujian ekstrak etanol tanaman brotowali untuk memperoleh konsentrasi ekstrak yang optimal sebagai penghambat potensial untuk pengobatan alternatif pada pasien diabetes. Dalam hal ini berbagai penelitian telah dilakukan untuk membuktikan bahwa tanaman brotowali mampu menghambat kerja enzim α - glukosidase, tapi tidak terlalu banyak riset yang mempublikasikan tentang pengaruh berbagai variasi konsentrasi ekstrak batang brotowali yang paling optimal ketika menghambat kerja enzim α - glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh inhibitor α - glukosidase terhadap penghambatan enzim α - glukosidase memakai variasi konsentrasi ekstrak etanol tanaman brotowali.

Metode

Penelitian ini menggunakan bahan – bahan yaitu Batang brotowali (*Tinospora crispa* (L.)), aquades, akarbose (dextro medicum 50 mg), natrium karbonat (Na_2CO_3) (p.a), enzim α -glukosidase, sodium dihidrogen fosfat (NaH_2PO_4) (p.a), *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) (sigma), etanol 96% (p.a) dan sodium hidrogen fosfat (Na_2HPO_4) (p.a).

Penelitian ini menggunakan alat - alat yaitu Oven, Blender, mikropipet, tip mikropipet, waterbath, timbangan analitik, rotary evaporator (Heidolph), ayakan 100 Mesh, vortex, spatula, pipet tetes, vial, alat – alat gelas, spektrofotometri UV – Vis.

Prosedur Kerja

Penelitian ini terbagi dalam 2 tahap. Tahapan awal yaitu pembuatan ekstrak yang dibagi dalam 2 sub tahap yaitu pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak etanol batang brotowali. Tahap kedua yaitu uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase. Tahap ini dibagi menjadi 3 sub tahap yaitu tahap pengujian kontrol, tahap pengujian sampel dan tahap pengujian sampel pembanding.

Pembuatan ekstrak

Simplisia dibuat dengan cara pensortiran basah batang, pencucian dan pengeringan batang brotowali segar dengan memanfaatkan cahaya matahari secara tidak langsung menggunakan teknik diangin-anginkan. Batang brotowali sebanyak 1,5 kg direndam dan dicuci hingga bersih, selanjutnya dilakukan pemotongan lalu dikeringkan secara tidak langsung selama seminggu. Setelah kering sempurna, dilakukan pemisahan simplisia dari pengotor organik asingnya, kemudian dilakukan penghalusan dengan blender dan diayak dengan ayakan nomor 100 Mesh.

Ekstraksi tanaman brotowali (*T. crispa*) dilakukan dengan cara pensortiran basah batang, pencucian dan pengeringan batang brotowali segar diangin – anginkan dengan sinar matahari secara tidak langsung. Batang yang dibutuhkan wajib berasal dari tanaman yang sehat dan setelah mengeringkannya, batang harus benar – benar kering.

Pembuatan ekstrak ini dikerjakan dengan metode maserasi. Disiapkan serbuk simplisia sebanyak 250 gram kemudian dilakukan ekstraksi dengan cara maserasi termodifikasi memakai pelarut etanol 96%

sejumlah 2,5 liter, dengan lama perendaman 48 jam. Sesudah itu dilakukan penyaringan, dan dilakukan pemekatan dengan rotary evaporator pada suhu 40°C, rotasi 90 rpm dan tekanan vakum 110 mmHg.

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Uji Aktivitas penghambatan enzim α – glukosidase ini dilakukan menurut prosedur Moradi-afropoli et.al (2012) yang sudah dimodifikasi (Moradi-Afrapoli, *et al.*, 2012).

Pengujian Kontrol

Sebanyak 500 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 0,1M ditambahkan dengan 250 μ L enzim α -Glukosidase 0,5 IU/mL dan 500 μ L aquades kemudian di vortex. Larutan yang telah tercampur rata dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Prosedur selanjutnya sebanyak 500 μ L substrat p -nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) 1% ditambahkan serta di vortex dan dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi berakhir, ditambahkan larutan Na_2CO_3 0,1M sebanyak 1000 μ L yang berfungsi untuk proses penghentian reaksi yang terjadi, lalu dilakukan uji dengan membaca nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV -Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Sebanyak 500 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 0,1M ditambahkan 250 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 0,1M dan 500 μ L sampel dengan variasi pengenceran (2000; 1800; 1600; 1400; 1200; 1000; 800; 600 dan 400 ppm) kemudian di vortex. Larutan yang telah tercampur rata dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Prosedur selanjutnya sebanyak 500 μ L substrat p -nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) 1% ditambahkan serta di vortex dan dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi berakhir, ditambahkan larutan Na_2CO_3 0,1M sebanyak 1000 μ L yang berfungsi untuk proses penghentian reaksi yang terjadi, lalu dilakukan uji dengan membaca nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV -Vis pada panjang gelombang 400 nm. Pengujian ini dilakukan sebagai blanko atau kontrol sampel.

Pengujian sampel

Sebanyak 500 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 0,1M ditambahkan 250 μ L enzim α -Glukosidase 0,5 IU/mL dan 500 μ L sampel dengan variasi pengenceran (2000; 1800; 1600; 1400; 1200; 1000; 800; 600 dan 400 ppm) kemudian di vortex. Larutan yang telah tercampur rata dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Prosedur selanjutnya sebanyak 500 μ L substrat p -nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) 1% ditambahkan serta di vortex dan dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi berakhir, ditambahkan larutan Na_2CO_3 0,1M sebanyak 1000 μ L yang berfungsi untuk proses penghentian reaksi yang terjadi, lalu dilakukan uji dengan membaca nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV -Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Pengujian sampel pembanding (acarbose)

Sebanyak 500 μ L larutan buffer fosfat pH 6,8 0,1M ditambahkan 250 μ L enzim α -Glukosidase 0,5 IU/mL dan 500 μ L acarbose dengan variasi konsentrasi sampel pembanding 100; 150; 200; 250; dan 300 ppm, kemudian di vortex. Larutan yang telah tercampur rata dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Prosedur selanjutnya sebanyak 500 μ L substrat p -nitrofenil- α -D-glukopiranosida (p-NPG) 1% ditambahkan serta di vortex dan dilakukan proses inkubasi dengan waktu 30 menit pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi berakhir, ditambahkan larutan Na_2CO_3 0,1M sebanyak 1000 μ L yang berfungsi untuk proses penghentian reaksi yang terjadi, lalu dilakukan uji dengan membaca nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometri UV -Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Perhitungan % inhibisi dan IC_{50}

Persen penghambatan dapat menentukan ukuran suatu aktivitas penghambatan yang bisa dihitung menggunakan rumus dibawah ini:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs. Kontrol} - \text{Abs. Sampel}}{\text{Abs. Kontrol}} \times 100\%$$

Perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan regresi linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC_{50} dapat dihitung dari persamaan $y = bx + a$ dengan menggunakan rumus:

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

(Sugiwati, *et al.*, 2009)

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini terbagi dalam 2 tahap. Tahapan awal yaitu pembuatan ekstrak yang dibagi dalam 2 sub tahap yaitu pembuatan simplisia dan pembuatan ekstrak etanol batang brotowali. Tahap kedua yaitu uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase. tahap ini dibagi menjadi 3 sub tahap yaitu tahap pengujian kontrol, tahap pengujian sampel dan tahap pengujian sampel pembanding atau acarbose.

Salah satu metode yang bisa dipakai untuk melakukan ekstraksi brotowali (*T. crispa*) adalah dengan metode maserasi atau perendaman. Filtrat yang didapatkan berupa cairan berwarna hijau kecoklatan yang diperoleh dari perendaman simplisia yang dibuat sebanyak 250 gram dan direndam selama 48 jam dalam pelarut etanol sebanyak 2,5 liter. Hasil ekstraksi selama 48 jam diambil menggunakan cara di saring atau divakum, kemudian filtrat atau maserat yang didapatkan dipindahkan ke dalam botol sampel.

Menurut Yulianingtyas (2016), keuntungan metode maserasi yaitu sangatlah berguna untuk mengisolasi senyawa dari komponen alam dikarenakan murah dan mudah untuk dilakukan, serta mudah hancur dengan perendaman sampel tanaman disebabkan oleh perbedaan tekanan yang ada antara dinding sel dengan membran sel, maka dari itu metode ekstraksi senyawa sangat ideal karena dapat menyebabkan larutnya metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma, baik yang ada pada sel inti maupun sel luar dengan pelarut organik, serta lama perendamannya dapat dikontrol (Yulianingtyas & Bambang, 2016). Menurut Diantika (2014), jika semakin lama waktu saat proses perendaman maka akan menyebabkan semakin banyak juga jumlah senyawa yang akan terekstraksi. Ini karena peluang adanya kontak yang lebih besar antara zat dengan pelarut, sehingga mengakibatkan titik jenuh larutan semakin meningkat (Diantika, *et al.*, 2014).

Menurut Arifianti (2014), selama proses ekstraksi yang bisa mempengaruhi jumlah senyawa aktif yang ada pada ekstrak merupakan jenis pelarut yang dipakai. Sesuai dengan prinsip kelarutan *like dissolve like*, yaitu senyawa polar akan terlarut dalam pelarut polar dan senyawa non polar akan terlarut dalam pelarut non polar. Etanol atau campurannya dengan air adalah pelarut ideal yang kerap dipakai karena merupakan pelarut dengan kapasitas terbaik untuk semua zat dengan berat molekul rendah seperti alkohol, flavonoid, dan saponin. Etanol 96% adalah pelarut ekstraksi pilihan untuk memproduksi ekstrak sebagai bahan mentah untuk persediaan obat herbal (Arifianti, *et al.*, 2014).

Menurut Badan Pengawasan Makanan dan Obat (2017), untuk mengekstrak zat yang akan dipakai untuk pembuatan obat diharuskan memakai etanol sebagai pelarutnya. Pertimbangan lainnya adalah bahwa etanol mudah dicari, mudah menguap, murah, dan sangat aman. Penyerapan senyawa dari tanaman menggunakan pelarut yang cocok untuk keselamatan dan polaritasnya merupakan prinsip dari ekstraksi. Untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya, filtrat hasil perendaman yang telah didapatkan selanjutnya dievaporasi. Teknik evaporasi ini dikerjakan dalam bak memakai rotary vaporator pada suhu 40°C, rotasi 90 rpm dan tekanan vakum 110 mmHg. Penguapan ini menghasilkan sebanyak 26,65 gram ekstrak kental berwarna coklat kehitaman dengan presentase rendemen sebesar 10,66%.

Penelitian ini dimulai dengan metode pengujian ekstrak etanol tanaman brotowali (*T. crispa*) terhadap aktivitas penghambatan α -glukosidase. Dalam penelitian ini p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (p-NPG) digunakan untuk substrat dan enzim α -glukosidase yang digunakan berasal dari *Saccharomyces cerevisiae*. Mekanisme inhibitor α -glukosidase ini adalah menghidrolisis p-NPG menjadi p-nitrofenol dan glukosa (Sugiwati *et al.*, 2009). Penelitian ini menggunakan konsentrasi yang berbeda dari ekstrak encer dengan variasi konsentrasi yaitu sebesar 2000; 1800; 1600; 1400; 1200; 1000; 800; 600 dan 400 ppm. Pada penelitian ini, acarbose dipakai untuk pembanding dikarenakan terbukti klinis mampu menghambat kerja enzim α -glukosidase pancreas sehingga memperlambat penyerapan glukosa ke dalam darah (Wirawan & Hairullah, 2020). Akarbose adalah AGI yang paling efektif sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Akarbose mempunyai struktur yang mirip dengan oligosakarida dan dihasilkan dari proses fermentasi bakteri *Actinoplanes utahensis*. Dengan adanya intramolekul nitrogen, akarbose dapat menempati sisi aktif dari enzim α -glukosidase dengan kekuatan afinitas melebihi dari substrat normal (Chandalia, 2012).

Uji α -glukosidase dilakukan dengan tiga jenis pengujian: uji sampel, uji kontrol, dan uji pembanding dengan acarbose. Nilai absorbansi yang keluar dari hasil pembacaan pengujian kontrol dan sampel dipakai untuk menghitung persen inhibisi (daya hambat).

Menurut Neldawati (2013), alat untuk menghitung relatif energi bila ditransmisikan, dipantulkan atau dipancarkan sebagai fungsi yang berasal dari panjang gelombang disebut spektrofotometer.

Spektrofotometer membentuk cahaya yang berasal dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu (Neldawati & Gusnedi, 2013).

Hasil Pengujian Perbedaan Konsentrasi Ekstrak

Pengujian penghambatan enzim α -glukosidase dikerjakan menggunakan cara mengencerkan ekstrak. Variasi konsentrasi ekstrak encer yang dipakai adalah 2000; 1800; 1600; 1400; 1200; 1000; 800; 600 dan 400 ppm. Tingkat pengenceran konsentrasi ekstrak yang berbeda dipakai untuk menunjukkan aktivitas hambatan α -glukosidase terbaik, serta untuk menentukan kemampuan menghambat enzim α -glukosidase (IC_{50}). Aktivitas penghambatan α -glukosidase diuji dengan spektrofotometer UV - Vis sehingga nilai absorbansi dari pengujian kontrol dan sampel dapat diketahui. Kapasitas hambatan bisa dihitung dengan memakai nilai absorbansi kontrol dan absorbansi sampel yang telah diketahui. Rumus perhitungannya bisa dilihat dalam bab metode. Dari uji yang telah dikerjakan, hasilnya ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil perhitungan uji sampel dengan variasi konsentrasi

| Konsentrasi Sampel (ppm) | Abs. Sampel (S_1) | Abs. Blanko (S_0) | % inhibisi | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) |
|---------------------------|-----------------------|-----------------------|------------|--------------------------------|
| Tanpa Inhibitor (Kontrol) | 0,2357 | - | - | 1.663 |
| 400 | 0,3892 | 0,2806 | 50,098 | |
| 600 | 0,3638 | 0,2779 | 63,555 | |
| 800 | 0,3407 | 0,2609 | 66,143 | |
| 1000 | 0,3246 | 0,2499 | 68,307 | |
| 1200 | 0,3153 | 0,248 | 71,446 | |
| 1400 | 0,2918 | 0,2316 | 74,459 | |
| 1600 | 0,2787 | 0,2236 | 76,622 | |
| 1800 | 0,2687 | 0,2154 | 77,386 | |
| 2000 | 0,2558 | 0,2041 | 78,065 | |

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol tanaman brotowali mempunyai aktivitas untuk menghambat kerja enzim α -glukosidase. Aktivitas ini bisa menghambat pekerjaan enzim glukosidase, sehingga dapat mengurangi kadar glukosa dalam darah. Aktivitas inhibitor α -glukosidase dalam ekstrak ini termasuk kedalam kategori sangat bagus, dikarenakan presentase nilai inhibitor melebihi 50% menuju ke 100%.

Berdasarkan pengujian penghambatan α -glukosidase dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Penghambatan enzim α -glukosidase ini dikerjakan untuk menentukan ada atau tidaknya aktivitas antidiabetes pada sampel ekstrak etanol brotowali dilakukan berdasarkan pengujian ini. Membandingkan nilai absorbansi sampel (S_1) dengan absorbansi blanko (S_0) merupakan cara untuk menghitung nilai persen inhibisinya. Dari Tabel 1 bisa dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka nilai serapannya akan semakin rendah sehingga menyebabkan meningkatnya nilai inhibitor α -glukosidase. Jika semakin rendah konsentrasi ekstrak, maka akan semakin rendah nilai presentase inhibitor atau aktivitas penghambatan α -glukosidase. Hal ini disebabkan oleh semakin besarnya aktivitas sampel dalam menekan aktivitas enzim sehingga menyebabkan semakin rendahnya nilai absorbansinya (Rammohan, *et al.*, 2008).

Nilai hambatan enzim α -glukosidase yang paling tinggi adalah 78,065% pada konsentrasi 2000 ppm yang berarti ekstrak etanol batang brotowali memiliki kemampuan menghambat glukosidase pada konsentrasi 2000 ppm, lebih baik dibandingkan konsentrasi lainnya. Nilai hambatan α -glukosidase terendah adalah 50,098% pada konsentrasi 400 ppm yang berarti pada konsentrasi 400 ppm ekstrak etanolik batang brotowali memiliki kemampuan menghambat α -glukosidase, tetapi tidak sebaik pada konsentrasi 2000 ppm. Ini karena jika semakin besar aktivitas hambatan enzimnya (*inhibitory capacity*) maka akan semakin tinggi juga konsentrasi ekstrak yang digunakan (Elmaniar & Muhtadi, 2017). Menurut Wahyuntari (2011), inhibitor α -glukosidase telah dipelajari kemampuannya untuk menghambat glukosidase pankreas manusia, dan dengan demikian berguna dalam pengobatan obesitas dan diabetes mellitus tipe 2.

Uji Perbandingan dengan Acarbosa

Pengujian acarbose dilakukan terlebih dahulu untuk melihat perbandingan nilai IC_{50} acarbose dengan ekstrak etanol batang brotowali. Akarbose dipilih menjadi perbandingan sebab merupakan obat

antidiabetes yang bekerja dengan cara merusak sistem kerja α -glukosidase atau bekerja sebagai pesaing untuk enzim, sehingga memblokir situs aktif dari enzim (Hamid, Yusoff, Liu, & Karim, 2015). Selain itu acarbosa umum digunakan di Indonesia dan mudah didapat, serta acarbosa telah menjadi pembanding yang diakui secara internasional oleh IDF (International Diabetes Federation) (IDF, 2013).

Uji acarbosa standar dilakukan dengan berbagai konsentrasi, yaitu 100; 150; 200; 250; dan 300 ppm. Prosedurnya serupa pengujian inhibitor α -glukosidase menggunakan variasi konsentrasi ekstrak, namun yang membedakan adalah sampel yang dipakai (inhibitor) terdiri dari konsentrasi yang berbeda yaitu 100; 150; 200; 250; dan 300ppm. Penentuan konsentrasi ini dipilih karena pada konsentrasi rendah, hasil penghambatan yang ditunjukkan sudah menghasilkan hasil yang signifikan. Dari hasil data pada Tabel 2 terlihat bahwa nilai IC_{50} akarbo100dalam menghambat aktivitas enzim glukosidae sebesar 246,86 ppm atau 246,86 $\mu\text{g/mL}$.

Tabel 2. Hasil perhitungan uji standar acarbosa (pembanding)

| Variasi Acarbosa ($\mu\text{g/mL}$) | % inhibisi (%) | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) |
|---------------------------------------------|----------------|--------------------------------|
| 100 | 82,51711 | 246,84 |
| 150 | 82,23818 | |
| 200 | 81,77055 | |
| 250 | 81,26036 | |
| 300 | 80,48374 | |

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Pada tahap ini dikerjakan uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase menggunakan substrat p-nitrofenil- α -Dglukopiranosida. Uji ini memperlihatkan bahwa terdapat aktivitas antihiperqlikemia dari ekstrak brotowali. Dalam percobaan ini substrat yang dipakai yaitu p-nitrofenil α -D-glukopiranosida akan terhidrolisis oleh enzim α -glukosidase menjadi glukosa dan p-nitrofenol. Aktivitas penghambatan α -glukosidase ekstrak brotowali ditentukan oleh serapan p-nitrofenol. Serapannya diukur menggunakan spektrofotometri UV – Vis pada panjang gelombang 400 nm.

Tabel 3. Hasil perhitungan nilai IC_{50} ekstrak batang brotowali dan acarbosa

| Inhibitor | IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) |
|---------------------------------|--------------------------------|
| Ekstrak etanol Batang Brotowali | 1.663 |
| Acarbosa | 246 |

Dilihat dari hasil uji aktivitas penghambatan ekstrak etanolik brotowali pada konsentrasi yang berbeda menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1.663 $\mu\text{g/mL}$ yang diperoleh dari hasil pada Tabel 1 sehingga dapat dihitung nilai IC_{50} nya. Ekstrak brotowali mempunyai nilai IC_{50} yang lebih besar jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} acarbosa sebagai pembanding yang menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 246 $\mu\text{g/mL}$. Penghambatan α -glukosidase menjadi lebih bagus bila nilai IC_{50} semakin kecil (Rammohan, *et al.*, 2008). Aktivitas inhibitor α -glukosidase ditentukan oleh hasil serapan p-nitrofenol, semakin rendah nilai serapannya maka semakin tinggi daya hambat enzimnya. Nilai IC_{50} mendeskripsikan konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan dalam menghambat 50% dari aktivitas α -glukosidase dalam keadaan diuji. Oleh karena itu, semakin kecil nilai IC_{50} , semakin bagus kualitas penghambatan enzimnya. Perbandingan nilai IC_{50} acarbosa dengan sampel ekstrak etanol batang brotowali memperlihatkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali dapat menghambat α -glukosidase, tetapi belum sebgas acarbosa. Situasi ini dapat disebabkan oleh pengaruh beberapa senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman brotowali yang memungkinkan terjadi reaksi antara senyawa yang terdapat dalam sampel yang belum murni.

Menurut hamid *et al* (2015) ekstrak brotowali mengandung komponen terpene glikosida, salah satu diantaranya yaitu Borapetosida C dan borapentol B merupakan senyawa terpenoid glikosida yang bisa membuat naiknya glikogen dalam otot lurik dan ekspresi transporter glukosa sebagai fosforilasi reseptor insulin dan protein kinase B sehingga bisa menurunkan kadar gula darah pada diabetes tipe 2. (Ruana, *et al.*, 2012), sedangkan acarbosa hanya memiliki satu komponen zat aktif yang secara efektif bisa menghambat produksi enzim α -glukosidase dan selagi akarbose tetap melekat pada enzim α -glukosidase, maka pencernaan fruktosa tidak bisa dilakukan serta pembentukan glukosa akan terhambat. Terlepas dari

tingginya kekuatan afinitas yang dimiliki, akarbose memiliki ikatan yang reversible. Senyawa oligosakarida kompleks ini adalah inhibitor yang bersifat kompetitif potensial dari enzim α -glukosidase dengan demikian acarbose mampu mempengaruhi efek penghambatan dari enzim α -glukosidase lebih bagus dibandingkan dengan ekstrak etanol batang brotowali (Febrinda, *et al.*, 2013)

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, bisa disimpulkan bahwa hasil uji aktivitas penghambatan ekstrak etanol brotowali menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 1.663 $\mu\text{g/mL}$ yang memiliki nilai IC_{50} lebih tinggi jika dibandingkan dengan acarbose sebagai pembanding yang memperlihatkan nilai IC_{50} sebesar 246 $\mu\text{g/mL}$, sehingga penghambatan enzim α -glukosidase oleh acarbose lebih baik dibandingkan dengan penghambatan α -glukosidase oleh ekstrak brotowali. Selain itu terdapat pengaruh konsentrasi pemberian ekstrak batang brotowali terhadap penghambatan enzim α -glukosidase. Nilai inhibisi terbesar enzim α -glukosidase ini terjadi pada konsentrasi ekstrak 2000 ppm yaitu sebesar 78,065%. Ini terjadi karena jika semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka nilai serapannya akan semakin rendah sehingga menyebabkan semakin meningkatnya nilai presentase inhibitor α -glukosidase. Jika semakin rendah konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah nilai presentase inhibitor atau aktivitas penghambatan α -glukosidase.

Daftar Referensi

- Ahmad, W., Jantan, I. & Bukhari, S., 2016. *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A Review of Its Ethnobotanical, Phytochemical, and Pharmacological Aspects. *Frontiers in Pharmacology*, 7(59): 1-19.
- Arifianti, L., O., R. D. & Idha, K., 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Sinensetin Dalam Ekstrak Daun Orthosiphon stamineus Benth. *E-Journal Planta Husada*, 2(1): 1-4.
- Chandalia, H.B. 2012. *Textbook of Diabetes Mellitus*. India: JaypeeBrothers Medical Publisher (P) Ltd.
- Choundary, N. S. M., Azmat, S. & Khatoon, S., 2013. *Tinospora cordifolia*: Ethnobotany, Phytopharmacology and Phytochemistry Aspects.. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(3): 891-899.
- Derosa, G., & Maffioli, P. 2012. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Archives of medical science : AMS*, 8(5): 899–906. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.31621>
- Diantika, F., S., S. M. & Y, R., 2014. Pengaruh Lama Ekstraksi Dan Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Ekstraksi Antioksidan Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 15(3):159 - 164.
- Elmaniar, R. & Muhtadi, 2017. Aktivitas Penghambatan Enzim Alfa Glukosidase Oleh Ekstrak Etanol Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas* L.). *Jurnal Urecol Proceeding*, 42(7):745 - 761.
- Febrinda, A. E., Astawan, M., Wresdiyati, T. & Yuliana, N. D., 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 24(2):161-167.
- IDF, I. D. F., 2013. *IDF Diabetes Atlas Sixth Edition*. s.l.:s.n.
- Kemenkes RI, 2017. *Farmakope Herbal Indonesia*. 2 ed. Jakarta: Kemenkes RI.
- Moradi-Afrapoli, F., Asghari, B., Saeidnia, S., Ajani, Y., Mirjani, M., Malmir, M., Dolatabadi Bazaz, R., Hadjiakhoondi, A., Salehi, P., Hamburger, M., & Yassa, N. 2012. In vitro α -glucosidase inhibitory activity of phenolic constituents from aerial parts of *Polygonum hyrcanicum*. *Daru : journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 20(1): 37. <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-37>
- Neldawati, R. & Gusnedi, 2013. Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat. *Journal Pillar Of Physics*, 2(1):76-83.
- Pujiyanto, S., Wijanarka, W., Raharjo, B., & Anggraeni, V. 2019. Aktivitas Inhibitor α -Amilase Ekstrak Etanol Tanaman Brotowali (*Tinospora crispa* L.). *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 21(2): 91-99. <https://doi.org/10.14710/bioma.21.2.91-99>

- Rammohan, S., Asmawi, M. & Sdaikun, A., 2008. In vitro α -glucosidase and α -amylase Enzyme Inhibitory Effects of *Andrographis paniculata* Extract and Andrographolide. *Acta Biochimica Polonica*, 55(2): 391-398.
- Rosas-Ramírez, D., Escandon-Rivera, S. & Pereda-Miranda, R., 2018. Morning glory resin glycosides as α -glucosidase inhibitors: In vitro and in silico analysis. *Phytochemistry*, 148: 39-47.
- Rosidah, I., B., H., M., R. & P., O. B., 2015. Pengaruh Kondisi Proses Ekstraksi Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* (L) Hook.F & Thomson) Terhadap Aktivitas Hambatan Enzim Alfa Glukosidase. *Media Litbangkes*, 25(4): 203-210.
- Ruan, C. T., Lam, S. H., Chi, T. C., Lee, S. S., & Su, M. J. 2012. Borapetoside C from *Tinospora crispa* improves insulin sensitivity in diabetic mice. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 19(8-9): 719–724. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.03.009>.
- Sugiwati, S., Setiasih, S., & Afifah, E. 2010. Antihyperglycemic Activity of the Mahkota Dewa Leaf Extracts as an Alpha-Glucosidase Inhibitor. *Makara Journal Of Health Research*, 13(2): 74 - 78. <http://journal.ui.ac.id/index.php/health/article/view/364>.
- Sukandar, E.Y., Andrajati, R., Sigit, J.I., Adnyana, I.K., Setiadi, A.P & Kusnandar, *ISO Farmakoterapi Buku I*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan.
- Wijaya, H. M., W, G. P. & Herowati, R., 2019. Efek Ekstrak Batang Brotowali (*Tinospora Crispa* L. Miers) Pada Model Uji Tikus Hiperglikemia Komorbid Hiperlipidemia. *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 2(2): 29-35.
- Wirawan, N. E. & Hairullah, 2020. Perbedaan Efektifitas Acarbosa dengan Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 6(2):14-20.
- Zamree, M.S., Ihsan, S.K., Khairul, K.A.K., Mohd, K.N.H., Rasadah, M.A., Mohd, S.M.A., Daryl, J.A., & Zulkhairi, A., 2015. Lipid lowering and anti-atherosclerotic properties of *Tinospora crispa* aqueous extract on high-cholesterol diet-induced hyperlipidemic rabbits. *African Journal of Biotechnology*, 14(34): 2604-2610.
- Yulianingtyas, A. & Bambang, K., 2016. Optimasi Volume Pelarut Dan Waktu Maserasi Pengambilan Flavonoid Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.). *Jurnal Teknik Kimia*, 10(2): 58-64.