

AKTIVITAS INHIBISI ENZIM α -GLUKOSIDASE DARI EKSTRAK METANOL TUMBUHAN MIMBA (*Azadirachta indica*)

Wahyu Nugroho, Mardi Santoso, dan Taslim Ersam

Jurusan Kimia, FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

telp: 0821-49896451, email: wahyukimia@gmail.com

ABSTRAK

Mimba (*Azadirachta indica*) di Pulau Poteran secara tradisional dimanfaatkan sebagai obat penurun kadar gula darah penderita diabetes. Penelitian ini menggunakan pendekatan uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak dari bagian kulit batang dan akar yang diperbandingkan dengan senyawa standar akarbosa. Kulit batang dan akar diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan metanol, kemudian diuji aktivitas inhibisinya terhadap enzim α -glukosidase secara *in vitro*. Ekstrak metanol dari kulit batang dan akar menunjukkan aktivitas inhibisi sebesar 38, 23 % dan 35,85 % pada konsentrasi 100 ppm, sedangkan standar akarbosa menunjukkan aktivitas inhibisi sebesar 95,84 % pada konsentrasi 10 ppm.

Kata Kunci: mimba, α -glukosidase, ekstrak metanol

PENDAHULUAN

International Diabetes Federation (IDF) menyatakan bahwa pada tahun 2005 terdapat 200 juta (5,1%) penderita diabetes di dunia, dan diduga jumlah penderita pada tahun 2025 akan meningkat menjadi 333 juta (6,3 %). Negara-negara seperti India, China, Amerika Serikat, Jepang, Indonesia, Pakistan, Bangladesh, Italia, Rusia dan Brazil merupakan 10 besar negara dengan jumlah penduduk diabetes terbanyak.

Tumbuhan Mimba (*A. indica*) di Pulau Poteran biasa dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk menurunkan kadar gula darah penderita diabetes, sehingga berpeluang untuk dijadikan sebagai alternatif sumber herbal dalam mengobati penyakit Diabetes Mellitus (DM). Ekstrak air daun *A. indica* terbukti dapat menurunkan kadar gula darah baik pada hewan uji yang dibuat hiperglikemik, maupun hewan uji normal [1]. Efek hipoglikemik dari ekstrak

air daun dan minyak biji mimba dilaporkan sebanding dengan glibenklamida terhadap kelinci normal dan kelinci diabetes yang diinduksi aloksan, tetapi efek dari minyak biji mimba lebih lemah dibandingkan ekstrak daun [2]. Yogurt yang diberi ekstrak mimba dilaporkan juga memiliki potensi aktivitas anti-diabetik dan anti-hipertensi [3].

Mimba telah dimanfaatkan sebagai obat sejak lebih dari 5000 tahun yang lalu dan tercantum dalam Ayurveda; yang dalam bahasa sansekerta disebut sebagai "*nimba*" berasal dari kata "*nimbati ivasthyamdadati*" yang berarti "*neem, to give good health*". Mimba dipercaya berasal dari Assam dan Burma di Asia Selatan, tetapi asal tumbuhan juga dilaporkan berasal dari Pakistan, Srilanka, Thailand, Malaysia, dan Indonesia [4].

Sistematika tumbuhan mimba (*A. indica*) menurut De Jussieu (1830) dalam [5] adalah sebagai berikut.

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Subkelas : Sympetalae
Bangsa : Rutales
Suku : Meliaceae
Famili : Meliaceae
Genus : Azadirachta
Spesies : *Azadirachta indica*

Terdapat lebih dari 140 senyawa fitokimia yang telah berhasil diisolasi dari berbagai bagian tumbuhan mimba. Tumbuhan mengandung terpenoid, gliserida, polisakarida, senyawa sulfur, fenolat seperti flavonoid dan glikosidanya, asam amino, senyawa alifatik. Azadirachtin merupakan senyawa terpopuler dari tumbuhan ini, dan diketahui berperan aktif sebagai antiinsektisida [6].

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kulit batang mimba (*A. indica*) asal Pulau Poteran, metanol, enzim α -glukosidase, *p*-nitrophenil- α -D-glukopiranosida (*p*-NPG), buffer fosfat (pH 7,0) 100 mM, Na_2CO_3 , HCl 2 N, dan akarbosa. Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain maserator, *rotary vacuum evaporator*, neraca analitik, mikropipet, jarum ose, tip, 96 *well plates*, oven, *laminar air flow*, inkubator, *vortex mixer*, dan *microplate reader*.

Kulit batang dan akar tumbuhan *A. indica* yang telah halus dan kering masing-masing sebanyak (3 kg) diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol (3x24 jam) sehingga diperoleh

ekstrak dan residu. Ekstrak metanol yang diperoleh lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat.

Pengujian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dilakukan di laboratorium uji Bifarmaka IPB. Larutan enzim α -glukosidase dibuat dari larutan stok 1 mg/mL dalam larutan buffer fosfat (pH 7,0) 100 mM, diencerkan 25 kali dengan larutan buffer yang sama sebelum uji dilakukan. Sistem reaksi disiapkan pada *microplate*. Campuran reaksi terdiri atas 50 μL larutan buffer fosfat (pH 7,0) 100 mM, 25 μL *p*-NPG 0,5 mM dalam larutan buffer fosfat (pH 7,0) 100 mM sebagai substrat, 10 μL larutan sampel (konsentrasi: 500 $\mu\text{g/mL}$), dan larutan enzim α -glukosidase sebanyak 25 μL . Campuran diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan 100 μL Na_2CO_3 200 mM. Hasil campuran tersebut diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Tablet akarbosa digunakan sebagai kontrol positif. Akarbosa dilarutkan dalam buffer dan HCl 2N (1:1) dengan konsentrasi 1% (b/v) kemudian disentrifugasi. Supernatan diambil sebanyak 10 μL dan dimasukkan ke dalam campuran reaksi seperti dalam sampel [7].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan ekstrak metanol kulit batang dan akar dengan konsentrasi 2 ppm, 5 ppm, 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Larutan akarbosa digunakan sebagai kontrol positif dengan konsentrasi 0,1 ppm, 0,5 ppm, 1 ppm, 5 ppm, dan 10 ppm. Sebagai kontrol

negatif digunakan larutan DMSO yang juga digunakan sebagai pelarut ekstrak.

Terlihat di Gambar 1. Bahwa grafik menunjukkan nilai % inhibisi dari ekstrak kulit batang yang meningkat seiring bertambahnya konsentrasi, kecuali pada konsentrasi 12,5 ppm.

Gambar 2. menunjukkan grafik nilai % inhibisi dari ekstrak akar memiliki pola yang sama dengan ekstrak kulit batang, bahwa dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak nilai % inhibisi meningkat. Tetapi pada konsentrasi 100 ppm aktivitas inhibisi ekstrak akar lebih rendah dibandingkan aktivitas ekstrak kulit kayu, meskipun pada konsentrasi 12,5 – 50 ppm nilai aktivitas inhibisinya lebih tinggi.

Gambar 3. menunjukkan profil kinerja dari larutan standar akarbosa terhadap aktivitas enzim enzim α -glukosidase. Terlihat di grafik bahwa pada konsentrasi 10 ppm akarbosa memiliki nilai inhibisi 95,84 %.

Uji inhibisi terhadap aktivitas enzim glukosidase merupakan salah satu pendekatan untuk mengkaji mekanisme aksi kelompok enzim glukosidase dan senyawa fitokimia yang prospektif berperan sebagai agen dalam mengatasi penyakit degenerative, seperti penyakit DM.

Ekstrak metanol dari kulit batang dan akar tumbuhan Mimba yang diinvestigasi pada penelitian ini belum menunjukkan potensi inhibisi terhadap enzim α -glukosidase yang signifikan jika diperbandingkan dengan standar akarbosa. Terlihat pada konsentrasi 10 ppm standar akarbosa menunjukkan aktivitas inhibisi sebesar 95,84 %, sedangkan kedua ekstrak masih dibawah 10 %. Meskipun

demikian, kajian senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak metanol masih prospektif untuk dilakukan, karena metanol merupakan tipe pelarut organik yang mampu melarutkan baik senyawa polar ataupun non polar, sehingga ekstrak dari akar dan kulit batang mengandung beragam senyawa polar ataupun non polar. Pemisahan lanjut penting dilakukan untuk memperoleh senyawa mayor yang secara individu diduga memiliki potensi aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase signifikan.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol kulit batang dan akar tumbuhan Mimba pada konsentrasi 100 ppm memiliki rerata nilai inhibisi sebesar 38,23 % dan 35,85 %.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih sebesar-besarnya kepada Dikti-Kemendikbud yang telah mensponsori penelitian ini melalui skema Hibah Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi.

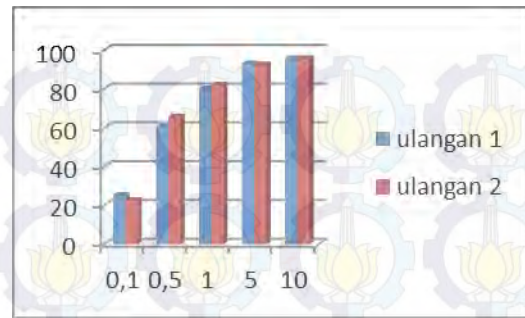
DAFTAR RUJUKAN

- [1] Chattopadhyay, R.R., 1999, *J. Ethnopharmacol.* 67, 373–376.
- [2] Khosla, P., Bhanwra, S., Singh, J., Seth, S., Srivastava, R.K., 2000, *J. Physiol. Pharmacol.* 44, 69–74.
- [3] Shori, A.B., Baba, A.S., 2011, *J. Saudi Chem. Society* 17, 295–301.
- [4] National Research Council, 1992, *Neem: a tree for solving global problem*, report of an ad-hoc panel of the Board on Science and Technology for International Development. National Academy Press, Washington, DC.

[5] Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K., Bandyopadhyay, U., 2002, *Curr. Sci.* 82, 1336–1345.

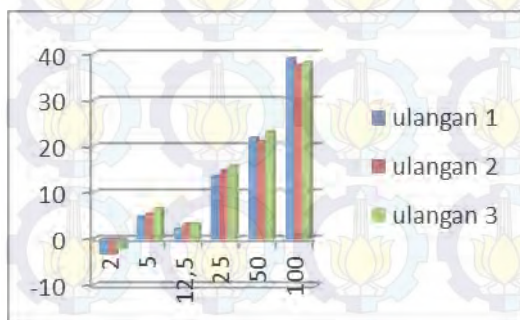
[6] Soegihardjo, C.J., 2007, *Sigma*, Vol. 10, No.1: 83-102

[7] Sancheti S., Sancheti S., Seo SY., 2009, *J.of Pharmacol. and Toxicol.* 4, 8-11.

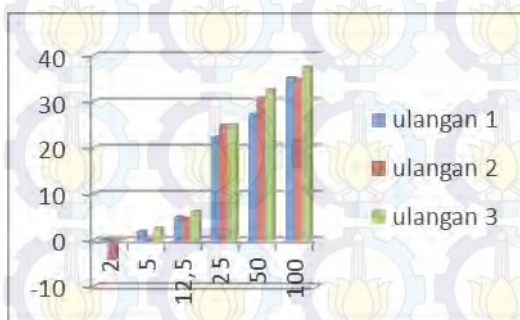


Gambar 3. Grafik nilai % inhibisi standar Akarbosa terhadap enzim α -glukosidase

Lampiran



Gambar 1. Grafik nilai % inhibisi ekstrak kulit batang terhadap enzim α -glukosidase



Gambar 2. Grafik nilai % inhibisi ekstrak akar terhadap enzim α -glukosidase