

Studi In-Vitro Potensi Antioksidan Dan Antidiabetes Dari Ekstrak Fenolik Daun Wuni (*Antidesma bunius*) Asal Taman Nasional Merubetiri

Susilowati^{1)*}, Tri Agus Siswoyo²⁾, dan A. A. Istri Ratnadewi¹⁾

¹⁾Jurusan Kimia; Fakultas MIPA; Universitas Jember

²⁾Fakultas Pertanian; Universitas Jember

*Email: sisil.susilowaty30@gmail.com

ABSTRAK

Potensi ekstrak fenolik daun wuni sebagai antioksidan dan antidiabet dievaluasi secara In-Vitro dengan metode spektrofotometri. Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini telah melewati tahapan ekstraksi bertingkat, sehingga didapatkan tiga macam ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian yaitu ekstrak heksana wuni (EHW), ekstrak etil asetat wuni ((EEAW), dan ekstrak metanol wuni (EMW). Satuan yang digunakan dalam analisis adalah total fenolik yang distandarkan pada gallic acid. Pengujian potensi antioksidan dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak dalam meredam radikal DPPH, anion superoksida dan hidroksil. Sedangkan pengujian potensi antidiabet dilakukan dengan melihat kemampuan ekstrak dalam menghambat kerja dari enzim α -amilase dan α -glukosidase. Ekstrak fenolik wuni yang paling berpotensi sebagai peredam radikal DPPH yaitu ekstrak metanol dengan persen penghambatannya sebesar $96,82 \pm 0,04$. Begitu juga potensi ekstrak metanol tertinggi dalam peredaman anion superoksida dan hidroksil dengan nilai persen penghambatannya berturut-turut yaitu $47,74 \pm 1,46$; $48,55 \pm 0,8$. Kemampuan penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak etil asetat wuni dengan nilai persen penghambatannya sebesar $95,39 \pm 4,27$ dan $93,17 \pm 4,95$.

Kata Kunci : Ekstrak fenolik wuni, Antioksidan, Antidiabet

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit endokrin yang umum di seluruh dunia. Sekitar 173 juta orang di dunia menderita diabetes melitus. Menurut Funke dan Melzig (2006), jumlah penderita diabetes melitus akan dua kali lipat lebih banyak pada tahun 2030. Pada tahun 2000, Indonesia merupakan negara ke-empat terbesar di dunia yang masyarakatnya menderita penyakit diabetes melitus setelah India, China, dan USA (Wild *et al.*, 2004). Penyakit diabetes melitus berada pada peringkat ketiga sebagai penyakit yang menyebabkan kematian, setelah kanker dan kardiovaskular (Guo *et al.*, 2010). Penyakit kencing manis disebabkan oleh gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kandungan gula darah (*hiperglikemia*) dan sekresi glukosa dalam urin akibat kekurangan jumlah insulin, efek kerja atau keduanya (Rabbani *et al.*, 1999).

Berbagai komplikasi dapat diakibatkan oleh rendahnya kontrol diabetes. Komplikasi tersebut antara lain berupa penyakit vaskular sistemik (percepatan aterosklerosis), penyakit jantung, penyakit mikrovaskular pada mata, dan kerusakan ginjal (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Luasnya komplikasi pada diabetes tampaknya berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah sehingga glukosa berlebih diduga menjadi penyebab utama kerusakan jaringan. Fenomena ini dapat disebabkan oleh kemampuan hiperglikemia secara *in vivo* dalam modifikasi oksidatif berbagai substrat. Menurut (Droge, 2002), hiperglikemia juga terlibat dalam proses pembentukan

radikal bebas melalui autooksidasi glukosa dan glikasi enzimatis, serta aktivasi jalur metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif.

Pembentukan senyawa oksigen reaktif akibat hiperglikemia dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stress oksidatif (Nuttal, 1999). Kerusakan oksidatif tersebut dapat diatasi dengan pemberian antioksidan. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes melitus.

Hiperglikemia *postprandial* berperan penting dalam perkembangan DM tipe 2 dan komplikasi yang terjadi. Penderita DM tipe 2 ini harus menghadapi terapi sepanjang hidupnya untuk mengontrol hiperglikemia dan mencegah terjadinya komplikasi (Tahrani & Barret, 2010). Pengontrolan kadar glukosa *postprandial* merupakan strategi penting dalam pencegahan DM tipe 2, sehingga dapat dilakukan melalui pendekatan terapeutik dengan menunda absorpsi glukosa. Penundaan tersebut dilakukan dengan cara menghambat enzim-enzim yang terlibat dalam reaksi hidrolisis karbohidrat seperti α -amilase dan α -glukosidase menggunakan inhibitor-inhibitornya. Enzim α -amilase merupakan enzim yang menghidrolisis polisakarida

menjadi oligosakarida dan dekstrin yang dihidrolisis lebih lanjut oleh α -glukosidase di intestinal menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk akan diabsorb oleh epitelium intestinal dan masuk ke dalam sistem peredaran darah.

Tanaman merupakan sumber yang kaya akan inhibitor α -glukosidase dan antioksidan alami serta memiliki penghambatan aktivitas keduanya yang kuat, sehingga dapat digunakan untuk terapi hiperglikemia *postprandial* yang efektif (Nguyen et al., 2010). Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian untuk menemukan inhibitor α -glukosidase dan antioksidan alami yang berasal dari hasil ekstrak senyawa metabolit sekunder tanaman, yang nantinya digunakan sebagai alternatif obat antidiabetes. Tanaman yang berpotensi sebagai alternatif obat antidiabetes yaitu daun wuni (*Antidesma bunius*).

Wuni (*Antidesma bunius*) merupakan salah satu tanaman yang terdapat di Taman Nasional Merubetiri Jember. Pohon wuni tersebar di Asia Tenggara dan Australia, sedangkan di Jawa tumbuh liar di hutan. Kandungan dari tanaman ini tidak banyak diketahui. Berdasarkan penelitian Elya et al (2012), disebutkan bahwa ekstrak etanol 80% daun *Antidesma bunius* ini mengandung senyawa golongan glikosida, tannin, saponin, sterol-terpen, dan antarquinon. Sedangkan, ekstrak etanol 80% korteks buni mengandung alkaloid, tannin, saponin, dan sterol-terpen. Dari penelitian tersebut, wuni dianggap memiliki potensi menghambat kerja enzim α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 7,94 ppm.

Pada penelitian ini, ekstraksi metabolit sekunder dilakukan terhadap wuni (*Antidesma bunius*). Ekstrak yang diambil difokuskan pada ekstrak fenolik yang telah didapatkan dan diekstraksi bertingkat dengan pelarut yang meningkat kepolarannya (n-heksana, etil asetat, dan metanol). Hasil ketiga ekstrak tersebut yang diperoleh akan diuji aktivitas antioksidan dan antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Bahan

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah antara lain: Daun wuni (*Antidesma bunius*); daun garu (*Antidesma montanum*); n-heksana pa (Merck); etil asetat pa (Merck); metanol pa (Merck); aquades; reagen Folin-Ciocalteu (Merck); Na_2CO_3 (Merck); asam galat (Sigma-Aldrich); $NaNO_2$ (Merck); $AlCl_3$ (Merck); NaOH (Merck); *quercetin* (nacialai tasque); *1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil* (DPPH) (nacialai tasque); etanol (Merck); vitamin C (nacialai tasque); *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) (nacialai tasque); $FeCl_3$ (Merck); H_2O_2 (Sigma-Aldrich); deoksiribosa (Sigma-Aldrich); kalium dihidrogen fosfat (Merck); asam trikloroasetat (Merck); asam tiobarbiturat (Merck); *pyragallol* (Sigma-Aldrich); Trizma-base (nacialai tasque); HCL pa (Merck); sukrosa (Merck); DMSO (Merck); Na_2HPO_4 (nacialai tasque); *peroxidase* (Sigma-Aldrich); α -glukosidase (Sigma-

Aldrich); *glucose oxidase* (Sigma-Aldrich); 4-aminoaniphyrine (Sigma-Aldrich); fenol (Sigma-Aldrich); NaCl (Merck); Kalium natrium tartat (Merck); Soluble starch (Merck); 3,5-dinitrosalicylic acid (Merck); α -amylase (Sigma-Aldrich); kalium hydrogen fosfat (Merck); dan triton x-100 (Sigma-Aldrich).

Pembuatan Simplisia Daun Wuni

Daun wuni yang telah divalidasi oleh Lembaga Taman Nasional Merubetiri dikeringkan selama 10 hari. Daun yang telah kering dan terpilih dipotong kecil-kecil untuk diblender sehingga dihasilkan serbuk simplisia.

Ekstraksi Simplisia Daun Wuni

Ekstraksi simplisia dari daun wuni dilakukan dengan cara maeserasi. Ekstraksi dilakukan secara bertingkat dengan tiga jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu n-heksana, etil asetat, dan metanol. Tahapan ekstraksi dimulai dari pelarut yang non polar, yaitu n-heksana. Masing-masing simplisia kering sebanyak 50 gram dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL untuk kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan 1;5. Selanjutnya dilakukan pengadukan (shaker) selama 3 hari pada suhu ruang. Setelah itu disaring dengan corong Buchner dan dilanjutkan dengan evaporasi dengan evaporator vakum pada suhu 40°C. ekstrak yang didapat disimpan dalam *refrigator* untuk keperluan selanjutnya. Residu yang dihasilkan kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dan metanol dengan cara yang sama.

Analisis Total Fenolik Ekstrak Daun Wuni

Penentuan total fenolik pada ekstrak sampel menggunakan metode yang dikemukakan oleh Taga *et al.* (1984) dan dihitung menggunakan asam gallat sebagai standart. Sebanyak 100 μ L sampel ditambahkan kedalam 2 mL larutan Na_2CO_3 2%, (w/v) setelah 2 menit, ditambahkan 50% (v/v) reagen Folin-Ciocalteu. Hasil campuran divortex kemudian diinkubasi selama 30 menit. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 750 nm. Gallic acid digunakan sebagai standar. Satuan total fenol dalam mg *gallic acid equivalent* (GAE)/ gr sampel.

Analisis Total Flavonoid Ekstrak Daun Wuni

Penentuan kandungan total flavonoid didasarkan pada metode kolorimetri Al_2Cl_3 yang dikemukakan oleh Chang *et al.* (2002). Sebanyak 150 μ L sampel dilarutkan ke dalam 400 μ L aquadest. Kemudian dicampurkan dengan 30 μ L $NaNO_2$ 5% (w/v) setelah itu diinkubasikan selama 5 menit. Campuran tersebut kemudian ditambahkan 30 μ L $AlCl_3$ 10% lalu diinkubasikan selama 6 menit. Tambahkan 200 μ L 1 N NaOH dan 240 μ L aquadest ke dalam larutan tersebut. Nilai absorbansi diukur pada panjang gelombang 415 nm. *Quercetin* digunakan sebagai standar dengan satuan mg *quercetin equivalent* (QE)/gr sampel.

Analisis Peredaman Radikal DPPH Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis peredaman radikal DPPH mengacu pada Soler-Rivas *et al.* (2000). Sebanyak 200 μL ekstrak dengan 5 konsentrasi yang berbeda dimasukkan ke dalam *microplate reader*. Setelah itu, ditambahkan 100 μL reagen DPPH 90 μM (dalam metanol) dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis pada 515 nm setelah 30 menit. Dihitung persen peredaman radikal DPPH pada masing-masing konsentrasi fenolik dan nilai IC_{50} . Perhitungan persen peredaman menggunakan persamaan berikut :

Persen Peredaman = $[(A_0 - A_1)/A_1] \times 100\%$ (persamaan 1)

A_0 adalah absorbansi control dan A_1 adalah absorbansi ekstrak. Hasil perhitungan persen peredaman pada tiap-tiap konsentrasi digunakan untuk membuat kurva linear dengan mengplotkan persen peredaman dan log konsentrasinya. Persamaan linear yang dihasilkan adalah $y = mx + c$ dan persamaan tersebut digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} masing-masing dengan persamaan :

$$\text{IC}_{50} = 10^{(50-c)/m} \text{ (persamaan 2)}$$

Vitamin C digunakan sebagai standar positifnya.

Analisis Peredaman Radikal Anion Superoksida Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Aktivitas penangkapan radikal anion superoksida ditentukan berdasarkan autooksidasi *pyragallol* yang mengacu pada Tang *et al.* (2010). 100 μL larutan ekstrak dicampur dengan 1,8 mL buffer Tris-HCL 50 mM (pH 8,2). Campuran diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian ditambahkan 100 μL *pyragallol* 10 mM (dilarutkan di dalam 10 mM HCl). Setelah 4 menit absorbansi larutan ditentukan pada 320 nm. Dihitung persen peredaman radikal anion superoksida dengan persamaan berikut:

Persen Peredaman = $[(S_0 - S_1)/S_1] \times 100\%$ (persamaan 3)

S_0 adalah slope kontrol dan S_1 adalah slope ekstrak. Digunakan vitamin C sebagai standar positif.

Analisis Peredaman Radikal Hidroksil Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Aktivitas penangkapan radikal hidroksil ditentukan dengan mengacu pada metode Halliwell dan Gutteridge (1999). Reaksi dimulai dengan menambahkan campuran 50 μL *2-deoxy-2-ribose* 28 mM (dalam buffer fosfat 20 mM; pH 7,4), 150 μL ekstrak, 100 μL EDTA 1 mM; 100 μL FeCl_3 10 mM; 50 μL H_2O_2 1 mM; 50 μL asam askorbat dimasukkan dalam *ependorf* dan divortex. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, ditambahkan 500 μL asam trikloroasetat

2,8% dan 500 μL asam tiobarbiturat 1%. Campuran divortex dan diinkubasi lagi untuk menghasilkan warna pink pada suhu 100 °C selama 20 menit. Campuran didinginkan dan ditentukan absorbansinya pada 532 nm. Dihitung persen peredaman radikal hidroksil. Digunakan vitamin C sebagai standar positif.

Analisis Penghambatan α -Amilase Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis penghambatan α -Amilase dilakukan dengan mengacu pada (hashim *et al.*, 2013) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μL ekstrak dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang dilabeli S^+ dan S^- sebagai kontrol, 100 μL DMSO juga dimasukkan ke dalam dua *ependorf* yang dilabeli C^+ dan C^- . sampel yang berlabel positif ditambahkan dengan 150 μL α -amilase (0,1 u/mL, dalam buffer fosfat pH 6,9), sedangkan sampel yang berlabel negative ditambahkan dengan 150 μL buffer fsfat pH 6,9. Campuran dipreinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah divortex. Kemudian, ditambahkan 250 μL *soluble starch* 1% (w/v) ke dalam sebuah *ependorf*. Larutan diinkubasi selama 15 menit pada 37°C setelah divortex. Reaksi hidrolisis dihentikan dengan mendidihkan selama 1 menit. Setelah dingin, larutan *dicosmosil* dan diambil 160 μL dari masing-masing *ependorf* untuk dimasukkan ke *ependorf* lain dengan label yang sama. Sebanyak 80 μL reagen DNS ditambahkan ke dalam tiap-tiap *ependorf*. Campuran dididihkan selama 15 menit. Kemudian, ditambahkan 720 μL akuades setelah dingin dan divortex. Dipipet 200 μL ke dalam *microplate reader* dan absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm. Akar bosa digunakan sebagai standar positifnya. Persen penghambatan α -amilase dihitung melalui persamaan berikut :

$$\text{Persen inhibisi} = \left(\frac{(C^+ - C^-) - (S^+ - S^-)}{(C^+ - C^-)} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

C^+ = kontrol sampel dengan enzim, C^- = kontrol sampel tanpa enzim, Sedangkan S^+ = sampel dengan enzim , dan S^- = sampel tanpa enzim.

Analisis Penghambatan α -Glukosidase Oleh Ekstrak Fenolik Daun Wuni

Analisis penghambatan α -glukosidase dilakukan dengan mengacu pada (Miyazawa *et al.*, 2005) yang dimodifikasi. Sebanyak 100 μL maltose 0.125 M dimasukkan ke dalam 4 *ependorf* yang berlabel C^+ , C^- , S^+ , S^- . sebanyak 100 μL ekstrak dimasukkan ke dalam *ependorf* S^+ , dan S^- , sedangkan C^+ , dan C^- ditambahkan dengan 100 μL DMSO. Setelah itu, 190 μL buffer fosfat pH 7 ditambahkan ke dalam setiap *ependorf*. Campuran divortex dan ditambahkan 10 μL α -glukosidase ke dalam *ependorf* C^+ dan S^+ , sedangkan C^- dan S^- ditambahkan akuabides. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam setelah divortex. Reaksi dihentikan dengan mendidihkannya selama 3 menit. Setelah dingin, *dicosmosil* dan hasilnya diambil 235 μL . Sebanyak 750 μL buffer fosfat pH 7

ditambahkan ke dalam setiap *ependorf*. Dilanjutkan dengan penambahan 5 μL peroksidase (0,5 unit/ μL), 5 μL aminoantipirin (4 mg/mL), dan 5 μL glukosa oksidase (0,8 unit/ μL). Divortex dan dilanjutkan dengan inkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C. Hasil inkubasi dipipet 200 μL dan dimasukkan ke dalam *microplate reader* untuk diukur absorbansinya pada 500 nm. Persen penghambatan α -glukosidase dihitung dengan persamaan yang digunakan untuk menghitung persen penghambatan α -amilase. Akarbose digunakan sebagai standar positifnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Randemen Maserasi Simplisia Daun Wuni

Tabel 1. Randemen maserasi ekstrak daun wuni

Ekstrak	Randemen
EHW	2,4 %
EEAW	3,3 %
EMW	4,8 %
Total	10,5 %

Randemen maserasi ekstrak daun wuni dihitung berdasarkan perbandingan antara berat simplisia yang dimaserasi dan berat ekstrak yang diperoleh dalam bentuk nilai presentase. Hasil perhitungan persen randemen maserasi ekstrak ditunjukkan oleh table 1. Randemen hasil maserasi tertinggi yaitu ekstrak dengan pelarut metanol yang diikuti dengan etil asetat dan heksana. Metanol mampu melarutkan senyawa fenolik polar sampai non polar (Thompson, 1985). Senyawa senyawa nonpolar yang tertinggal selama maserasi akan larut dalam metanol. Oleh karena itu randemen maserasi dengan pelarut metanol memiliki randemen paling tinggi.

Total Fenolik Ekstrak Daun Wuni

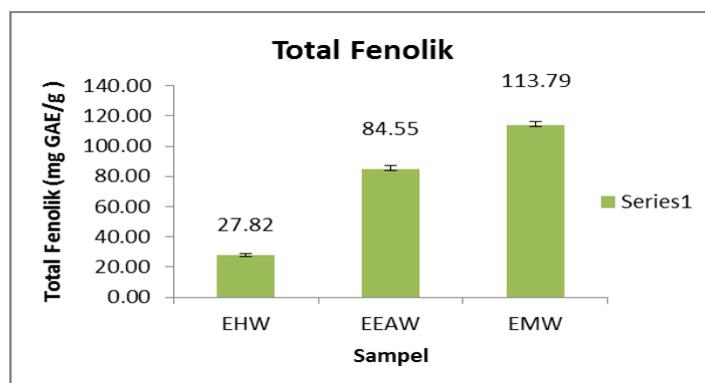
Kandungan total fenolik pada masing-masing ekstrak dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). GAE merupakan acuan umum untuk mengukur sejumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam suatu bahan (Mongkolsilp dkk, 2004). Total fenolik dalam ekstrak dinyatakan berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi reagen Folin-Ciocalteu. Persamaan linear $y = 0.0595x - 0.0319$ dengan linearitas 0,97873 digunakan untuk menghitung total fenolik ekstrak. Hasil pengeplotan dan perhitungan total fenolik ekstrak ditampilkan pada Lampiran 4.

Satuan yang digunakan dalam pengukuran total fenolik yaitu milligram *gallic acid* per gram sampel (mg GAE/g). Berikut hasil perhitungan total fenolik ekstrak daun wuni.

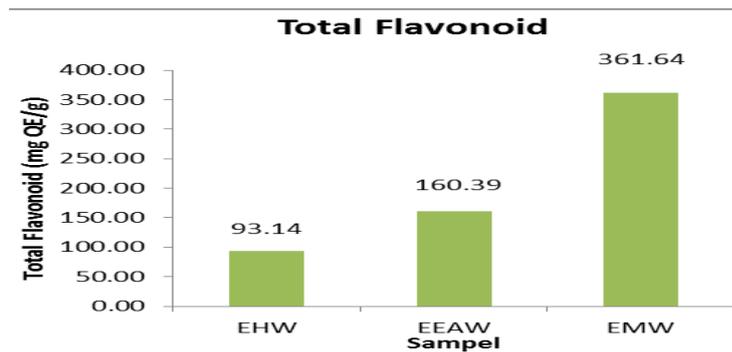
Total fenolik ekstrak meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Total fenolik fraksi metanol garu dan wuni tertinggi dibandingkan dengan fraksi yang lain. Hal ini disebabkan metanol dapat melarutkan senyawa fenolik paling banyak. Jumlah senyawa fenolik yang larut dalam fraksi EMW lebih banyak daripada EMG sehingga total fenoliknya juga lebih tinggi.

Total Flavonoid Ekstrak Daun Wuni

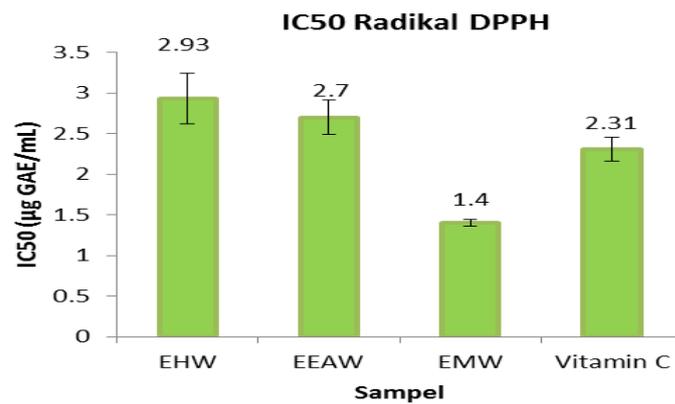
Flavonoid sebagai salah satu anggota dari senyawa fenolik memiliki kerangka dasar $C_6-C_3-C_6$ berupa dua cincin aromatik yang dihubungkan dengan tiga karbon. Total flavonoid dianalisis berdasarkan kemampuan gugus *catechol* flavonoid mengkompleks dengan aluminium. Total flavonoid dalam ekstrak distandarkan pada *quercetin*. Persamaan linear $y = 0.0215x + 0.0348$ dengan linearitas 0.981 digunakan untuk menghitung total flavonoid ekstrak. Satuan yang digunakan dalam pengukuran total flavonoid yaitu milligram *quercetin* per gram sampel (mg QE/g). Hasil perhitungan total flavonoid ekstrak daun wuni ditampilkan oleh Gambar 2.



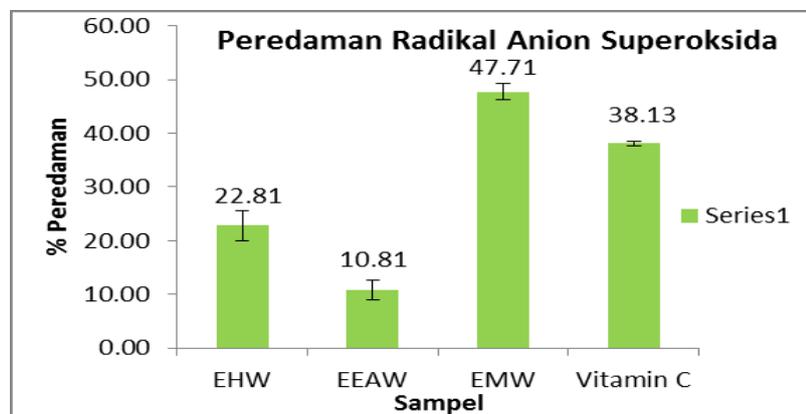
Gambar 1. Total fenolik ekstrak daun Wuni



Gambar 2. Total flavonoid ekstrak daun wuni



Gambar 3. Nilai IC₅₀ ekstrak fenolik daun Wuni



Gambar 4. Persen peredaman radikal anion superoksida

Seperti halnya total fenoliknya, total flavonoid ekstrak secara umum juga meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Total flavonoid tertinggi ditunjukkan oleh fraksi metanol.

Analisis Antioksidan

Analisis potensi antioksidan pada ekstrak fenolik wuni dan garu dilakukan secara kuantitatif. Analisis tersebut dilakukan dengan tiga metode, yaitu analisis peredaman radikal DPPH, peredaman radikal anion superoksida, dan peredaman radikal hidroksil.

Analisis Radikal DPPH

Analisis kuantitatif peredaman radikal DPPH didasarkan pada satuan IC₅₀. Berikut hasil peredaman radikal DPPH oleh keenam ekstrak fenolik yang ditampilkan oleh Gambar 3.

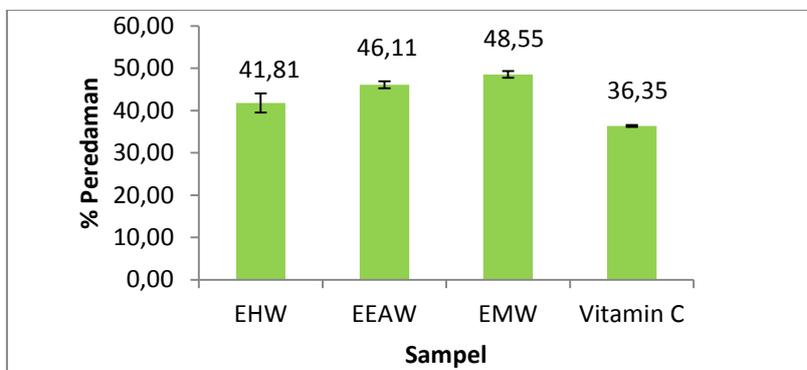
Potensi ekstrak fenolik sebagai peredam radikal DPPH meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Pengecualian terjadi pada ekstrak heksana. Ekstrak heksana memiliki persen penghambatan yang lebih besar daripada ekstrak etil asetatnya. Ekstrak metanol wuni (EMW) memiliki persen penghambatan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak yang lain. Selain itu EMW memiliki

nilai IC₅₀ terkecil. Hal ini sesuai dengan total fenolik dan flavonoidnya.

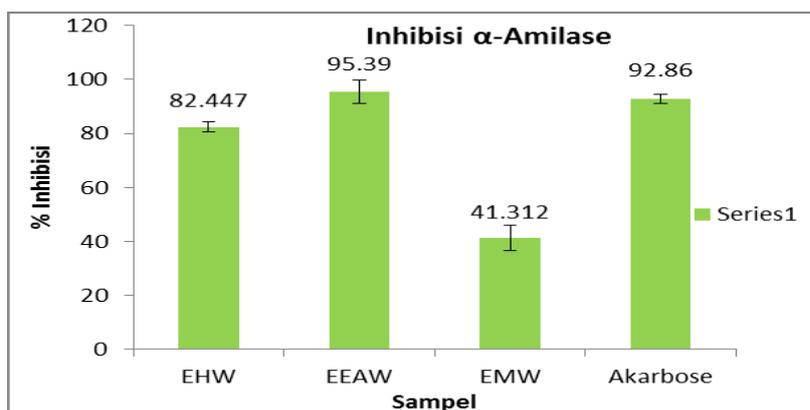
Analisis Radikal Anion Superoksida

Analisis antioksidan radikal anion superoksida didasarkan pada autooksidasi *pyrogallol* dalam kondisi basa. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam

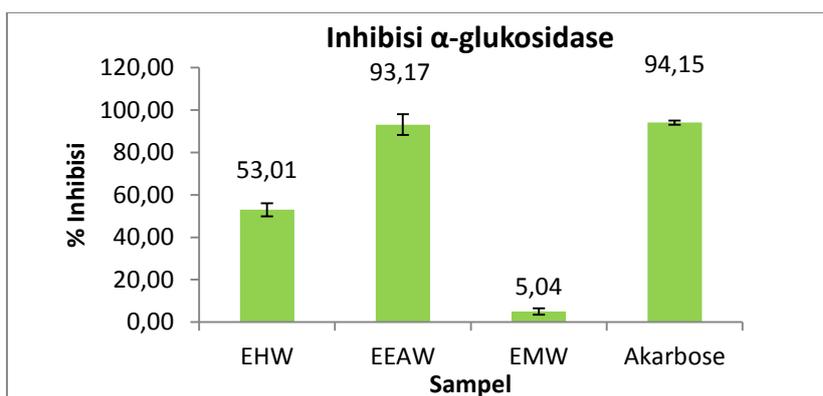
pengujian radikal superoksida ini yaitu 2 µg GAE/mL ekstrak. Persen peredaman radikal anion superoksida oleh ekstrak dibandingkan untuk menentukan ekstrak teraktifnya. Hasil perhitungan persen peredaman radikal anion superoksida oleh ekstrak daun wuni oleh Gambar 4.



Gambar 5. Persen peredaman radikal hidroksil



Gambar 6. Persen peredaman radikal hidroksil



Gambar 7. Persen Inhibisi α-glukosidase

Kemampuan peredaman radikal anion superoksida meningkat seiring dengan peningkatan kepolaran pelarut yang digunakan untuk mengekstraknya. Pengecualian terjadi pada EHW yang memiliki nilai lebih besar dari EEAWnya. Kemampuan peredaman radikal anion superoksida secara umum didukung oleh total flavonoidnya.

Analisis Radikal Hidroksil

Radikal hidroksil dihasilkan dalam tubuh setelah terjadi reaksi antara hidrogen peroksida dengan radikal anion superoksida yang dikatalis logam transisi. Analisis antioksidan radikal hidroksil secara in-vitro didasarkan pada kompetisi antara senyawa fenolik dan 2-deoxy-D-ribose untuk bereaksi dengan radikal hidroksil.

Sebanyak 2 µg GAE/mL ekstrak digunakan untuk meredam radikal hidroksil. Persen peredaman radikal hidroksil dihitung pada Lampiran 9 dan hasilnya ditunjukkan oleh Gambar 5.

Ekstrak metanol wuni memiliki potensi sebagai peredam radikal tertinggi daripada ekstrak yang lain. Total flavonoid dalam ekstrak juga mendukung potensinya dalam meredam radikal hidroksil. Ekstrak yang memiliki total flavonoid lebih tinggi juga meredam aktivitas radikal hidroksil lebih kuat.

Analisis Antidiabet

Analisis potensi antidiabet pada ekstrak dilakukan dengan dua metode inhibisi, yaitu inhibisi enzim α -amilase dan inhibisi enzim α -glukosidase.

Analisis Inhibisi α -amilase

Potensi ekstrak wuni sebagai penghambat α -amilase dilihat dari persen penghambatannya pada konsentrasi fenolik yang sama. Ekstrak dengan konsentrasi 50 µg GAE/mL digunakan untuk menghambat α -amilase. Persen inhibisi masing-masing ekstrak ditampilkan pada gambar 6

Persen inhibisi α -amilase ekstrak tertinggi dimiliki oleh ekstrak etil asetat wuni dan bahkan lebih besar dari akarbose. Hal ini berarti senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat aktivitas α -amilase adalah senyawa semipolar.

Inhibisi α -Glukosidase

Potensi ekstrak wuni sebagai penghambat α -glukosidase dilihat dari persen penghambatannya pada konsentrasi fenolik yang sama. Ekstrak dengan konsentrasi 50 µg GAE/mL digunakan untuk menghambat α -glukosidase. Persen inhibisi masing-masing ekstrak ditampilkan pada gambar 7.

Persen inhibisi α -glukosidase ekstrak tertinggi dimiliki oleh ekstrak etil asetat wuni dan hampir mirip dengan akarbose. Sama halnya dengan inhibisi α -amilase, berarti senyawa metabolit sekunder yang mampu menghambat aktivitas α -glukosidase adalah senyawa semipolar.

KESIMPULAN

Ekstrak fenolik daun wuni berpotensi sebagai antioksidan dibandingkan dengan vitamin C. Ekstrak metanol wuni (EMW) memiliki aktivitas peredam

radikal DPPH, anion superoksida dan radikal hidroksil dibandingkan dengan kedua ekstrak yang lain. Sedangkan ekstrak etil asetat wuni (EEAW) memiliki potensi antidiabet yang lebih daripada kedua ekstrak yang lain.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Center for Development of Advanced Sciences and Technology (CDAST) Universitas Jember yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, W. C., Kim, S. C., Hwang, S. S., Choi, B. K., Ahn, H. J., Lee, M. Y., Park, S. H., & Kim, S. K. 2002. Antioxidant Activity and Free Radical Scavenging Capacity Between Korean Medicinal Plants and Flavonoids by Assay-guided Comparison. *Plant Sci.* 163: 1161-1168.
- Droge W. 2002. *Free radicals in the physiological control of cell function.* *Physiol Rev* 82:47-95.
- Elya, B., Basah, K., Mun'im, A., Yuliatuti, W., Bangun, A., & Septiana, E. K. 2012. Screening of α -Glucosidase Inhibitory Activity from Some Plants of Apocyanaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 3-4.
- Guo LP, Jiang TF, dan Wang YH. 2010. Screening α -glucosidase inhibitors from traditional Chinese drugs by capillary electrophoresis with electrophoretically mediated microanalysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 53, 1250- 1253.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. *Free radical in biology and medicine.* 3rd ed. New York: Oxford University Press. p.639-45.
- Hashim, A., Khan, M. S., Khan, M. S., Baig, M. H., & Ahmad, S. 2013. Antioxidant and Alpha Amylase Inhibitory Property of *Phyllanthus Virgatus* L: An In-Vitro and Molecular Interaction Study. *BioMed Research International*, 2013.
- Miyaza, M., yagi, N., & Taguchi, K. 2005. Inhibitory Compounds of α -Glucosidase Activity from *Arctium lappa* I. J. *Oleo Sci*, 54 (11): 589-594.