

## Uji In Vitro Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Leilem Terhadap Penghambatan Enzim $\beta$ -Glukosidase

Krispela T.O. Siregar<sup>1)</sup>, Fona D.H. Budiarmo<sup>2\*)</sup>, Billy J. Kepel<sup>3)</sup>, Fatimawali<sup>2)</sup>,  
Widdhi Bodhi<sup>4)</sup>, Aaltje E. Manampiring<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia

<sup>2,3,4,5)</sup>Bagian Kimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado, Indonesia

\*Corresponding author: [fonabudiarmo@unsrat.ac.id](mailto:fonabudiarmo@unsrat.ac.id)

### ABSTRAK

Diabetes merupakan penyakit metabolik kronis dengan tanda peningkatan kadar glukosa darah. Salah satu target obat antidiabetes yaitu menghambat enzim  $\alpha$ -/ $\beta$ -glukosidase yang bekerja dalam proses absorpsi glukosa. Tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) sudah dikenal dan dimanfaatkan sebagai masakan serta obat di Minahasa dan memiliki potensi sebagai agen antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun leilem terhadap penghambatan enzim  $\beta$ -glukosidase. Ekstrak dibuat menggunakan etanol 96%. Sifat antidiabetes diukur melalui aktivitas inhibisi enzim  $\beta$ -glukosidase. Nilai median inhibisi konsentrasi ( $IC_{50}$ ) ekstrak dibandingkan dengan *acarbose* berturut-turut adalah 28,229 dan 13,716. Ekstrak etanol daun leilem menghambat enzim  $\beta$ -glukosidase.

**Kata kunci** :  $\beta$ -glukosidase; ekstrak etanol; daun leilem; in vitro

### In Vitro Test of Leilem Leaf Ethanol Activity on $\beta$ -Glucosidase Enzyme Inhibition

#### ABSTRACT

Diabetes is a chronic metabolic disease with signs of elevated blood glucose levels. One of the targets of antidiabetic drugs is to inhibit the enzyme  $\alpha$ -/ $\beta$ -glucosidase which works in the process of glucose absorption. Leilem plant (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) is well known and used as a dish and medicine for several diseases in Minahasa and has potential as an antidiabetic agent. This study aimed to determine the activity of ethanolic extract of leilem leaves in inhibiting  $\beta$ -glucosidase enzyme. The extract was prepared with 96% ethanol. Antidiabetic properties were measured by  $\beta$ -glucosidase enzyme inhibitory activity. The inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ) values of the extract compared to *acarbose* were 28,229 and 13,716. Ethanolic extract of leilem leaves inhibits  $\beta$ -glucosidase enzyme.

**Keywords** :  $\beta$ -glucosidase; ethanol extract; in vitro; leilem leaf

(Article History: Received 09-01-2024; Accepted 29-04-2024; Published 29-04-2024)

#### PENDAHULUAN

Diabetes merupakan penyakit metabolik kronis dengan tanda meningkatnya kadar glukosa darah (WHO, 2023). Hiperglikemia, peningkatan glukosa darah atau peningkatan gula darah, adalah dampak diabetes yang tidak terkontrol (WHO, 2023). Kasus diabetes di Indonesia menempati peringkat kelima tertinggi di dunia. Provinsi Sulawesi Utara

menempati peringkat keempat tertinggi di Indonesia, setelah Provinsi DKI Jakarta, Kalimantan Timur, dan DIY, berdasarkan data Riskesdas tahun 2018 (Tim Riskesdas, 2018).

Diabetes tipe II merupakan bentuk yang umum sering terjadi, dicirikan oleh hiperglikemia, kekurangan insulin relatif, dan resistensi insulin (Baynest HW, 2015). Manajemen diabetes melitus diawali dengan menerapkan gaya hidup yang sehat, terapi nutrisi sesuai anjuran medis, dan kegiatan fisik seiring dengan intervensi farmakologis. Salah satu mekanisme dari obat antihiperglikemik oral adalah menghambat penyerapan glukosa di usus kecil untuk mengatur glukosa postprandial (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2021).

Keadaan saat kadar glukosa postprandial meningkat dengan cepat disebut *glucose spike*. Kondisi ini memicu peningkatan peroksidase lipid, koagulasi trombosit, dan sintesis *reactive oxygen species* yang berpotensi untuk menyebabkan kerusakan pembuluh darah dan menyebabkan timbulnya serta berkembangnya tahapan aterosklerosis. Komplikasi vaskular yang terjadi akibat hiperglikemia postprandial meliputi kelainan mikrovaskuler seperti retinopati diabetik dan nefropati diabetik serta kelainan makrovaskuler antara lain infark miokard, infark serebral, dan aterosklerosis ekstremitas bawah (Hiyoshi *et al.*, 2019). Oleh karena itu, kontrol hiperglikemia postprandial sangat penting dalam pengobatan diabetes serta pencegahan komplikasi kardiovaskular. (Li *et al.*, 2005)

Glukosidase merupakan enzim yang terlibat dalam disosiasi karbohidrat kompleks di usus halus yang berperan memutus ikatan glikosidik (Gondokesumo *et al.*, 2017). Enzim  $\beta$ -glukosidase merupakan bagian penting dari tahap akhir sistem selulosa. Selama hidrolisis selulosa, selulase bersama dengan eksoglukanase dan endoglukanase bekerja pada serat selulosa serta menghidrolisisnya menjadi oligosakarida berukuran lebih kecil. Oligosakarida berukuran kecil dimanfaatkan oleh  $\beta$ -glukosidase sebagai substrat untuk melepaskan glukosa sebagai produk akhir hidrolisis lengkap selulosa (G. Singh *et al.*, 2016).  $\beta$ -glukosidase merupakan salah satu enzim yang ditemukan lebih awal dan banyak dipelajari karena distribusinya yang universal dan berbagai substrat yang terdefinisi dengan baik serta sifat enzim yang sederhana dalam pengujian (Singhania *et al.*, 2013).

*Acarbose* adalah obat antidiabetes oral yang dapat menekan gula darah postprandial. Namun, penggunaan obat ini bisa menyebabkan efek samping berupa gejala gastrointestinal seperti diare, rasa kembung pada perut, dan sakit perut (Dinicolantonio *et al.*, 2015). Dalam beberapa dekade terakhir, ketertarikan dalam penggunaan produk alami sebagai terapeutik untuk pencegahan dan pengobatan diabetes tipe 2 terus meningkat karena toksisitas serta efek samping produk alami lebih rendah (Dirir *et al.*, 2022).

Tanaman leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.), tanaman yang sering dijumpai di daerah Minahasa. Umumnya penduduk Minahasa menggunakan bagian tanaman leilem, yaitu daunnya untuk bahan tambahan pada masakan dan sebagai pengobatan untuk kondisi seperti sakit perut, cacingan, dan penyakit paru-paru (Utami *et al.*, 2017). Daun leilem berperan juga sebagai antioksidan dengan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya (Kairupan *et al.*, 2019). Senyawa yang ada di daun leilem memiliki potensi besar sebagai agen antidiabetes yang didasarkan atas sifat farmakologinya, energi ikatan, dan interaksinya terhadap beberapa enzim (Kepel *et al.*, 2022). Pada penelitian ini, dilakukan uji *in vitro* aktivitas ekstrak etanol daun leilem terhadap penghambatan enzim  $\beta$ -

glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun leilem terhadap penghambatan enzim  $\beta$ -glukosidase.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Agustus 2023 sampai dengan November 2023 di Laboratorium Kimia, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi dan di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado.

### Bahan

Sampel penelitian adalah daun tumbuhan leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.) yang dipetik di Desa Kayuwi, Kecamatan Kawangkoan Barat, Kabupaten Minahasa, Provinsi Sulawesi Utara dan di Desa Rumoong Atas, Kecamatan Tareran, Kabupaten Minahasa Selatan, Provinsi Sulawesi Utara. Bahan yang digunakan *acarbose* (A8980, Sigma-Aldrich), buffer fosfat pH 7.0, *beta glucosidase activity assay kit* (MAK129, Sigma-Aldrich), *beta-glucosidase almonds lyophilized* (49290, Sigma-Aldrich),  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , reagen viz. Mayer, reagen Dragendorff, reagen Wagner,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , amonia,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , magnesium, HCl, etanol 96%, FeCl 1%, asam asetat, kloroform, asam sulfat, etanol 96%, *bovine serum albumine*, *aqua demineralisata*.

### Persiapan Simplisia Daun Leilem

Daun leilem yang segar, masih muda, tidak keras dan tidak kasar, serta tidak berlubang, dipetik 5-7 lembar dari pucuk saat pagi hari. Kemudian, daun dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Daun kering diblender sehingga didapatkan serbuk daun, lalu diayak dengan ukuran 60 mesh lalu disimpan dalam wadah tertutup.

### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Leilem.

Simplisia kering diukur beratnya dan diekstraksi menggunakan metode maserasi. Serbuk daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) sejumlah 400 gram diekstraksi dengan etanol 96% sebanyak 2 liter selama 3 x 24 jam. Selanjutnya, ekstrak diremaserasi menggunakan 500 mL etanol 96% selama 2 x 24 jam. Selanjutnya, ekstrak tersebut dipekatkan dengan oven bersuhu 42°C selama 3 x 24 jam.

### Penapisan Fitokimia Serbuk Daun Leilem.

Senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) dianalisis secara kualitatif untuk mengidentifikasi keberadaan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid, serta saponin. (Utami *et al.*, 2017)

### Uji Alkaloid

Campuran ekstrak dengan 5 mL kloroform dan 5 mL amonia dipanaskan, dikocok, dan disaring. Selanjutnya, pada setiap filtrat ditambahkan asam sulfat 2 N sebanyak 5 tetes, kemudian dikocok dan dibiarkan bereaksi. Fraksi bagian atas dari setiap filtrat diambil dan diujikan dengan menggunakan reagen Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Alkaloid positif apabila terbentuk endapan putih, coklat, dan jingga.

### **Uji Flavonoid**

Campuran ekstrak dengan 3 mL etanol 70% diaduk, dipanaskan, diaduk kembali, dan kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan dengan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram dan 2 tetes HCl pekat. Apabila terjadi perubahan warna menjadi merah pada lapisan etanol, maka menunjukkan adanya flavonoid.

### **Uji Tanin**

Ekstrak disari dengan 10 mL air lalu disaring dan produk hasil saringan diencerkan dengan air sampai warnanya hilang. Sebanyak 2 mL larutan dikeluarkan dan dicampur dengan 2 tetes FeCl 1%. Keberadaan tanin dapat dikenali dari warnanya yang hijau kecokelatan atau hitam kebiruan.

### **Uji Terpenoid dan Steroid**

Ekstrak dicampur dengan 3 mL kloroform atau 3 mL etanol 70% dan ditambahkan 2 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan 2 mL asam asetat anhidrat. Senyawa steroid positif apabila terjadi perubahan warna dari ungu ke biru atau hijau, sedangkan senyawa terpenoid positif apabila terbentuk warna kecokelatan antar permukaan.

### **Uji Saponin.**

Ekstrak ditempatkan dalam tabung reaksi, diberi tambahan air panas sebanyak 10 mL, didinginkan dan kemudian dikocok intensif selama 10 detik. Keberadaan senyawa saponin dapat dikonfirmasi jika terbentuk buih dengan tinggi 1-10 cm selama setidaknya 10 menit ketika ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang.

### **Uji aktivitas penghambatan $\beta$ -glukosidase**

Pembuatan larutan Larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dibuat dengan melarutkan 4239 mg serbuk Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anhidrat ke dalam 200 mL aqua demineralisata. Konsentrasi substrat *p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside* ( $\beta$ -NPG) dibuat dengan mencampurkan 200  $\mu$ L buffer dan 40  $\mu$ L  $\beta$ -NPG. Larutan stok enzim  $\beta$ -glukosidase dengan konsentrasi 4,5 U/ mL dibuat dengan menimbang sebanyak 10,1 mg serbuk enzim  $\beta$ -glukosidase lalu dilarutkan ke buffer hingga mencapai volume 100 mL. Selanjutnya, pipet sebanyak 1 mL dari larutan stok lalu larutkan dengan buffer hingga mencapai 100 mL agar mendapatkan konsentrasi larutan 0,45 U/mL. Kemudian pipet sebanyak 1 mL dari larutan 0,45 U/mL dan dilarutkan dengan 2 mL buffer yang mengandung 0,2% BSA. Larutan 0,2% Bovine Serum Albumin (BSA) berasal dari proses melarutkan 100 mg BSA dalam 50 mL buffer. Sebanyak  $\pm$  10 mg ekstrak dilarutkan dengan buffer dalam labu ukur 10 mL sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi  $\pm$ 1000  $\mu$ g/mL. Dari larutan induk, dipipet 5 mL kemudian dilarutkan dengan buffer hingga 10 mL sehingga dihasilkan konsentrasi  $\pm$  500  $\mu$ g/mL. Untuk mendapatkan konsentrasi ekstrak sebesar 10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm maka dari larutan konsentrasi  $\pm$  500  $\mu$ g/mL dipipet berturut-turut sebanyak 0,2 mL, 0,4 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL dan dilarutkan dengan buffer hingga 10 mL. Uji aktivitas inhibisi  $\beta$ -glukosidase dilakukan dengan cara setiap larutan pereaksi yang terdiri atas 36  $\mu$ L larutan buffer, 30  $\mu$ L larutan sampel dengan beberapa konsentrasi (10 ppm, 20 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm) dan 17  $\mu$ L substrat  $\beta$ -NPG dengan konsentrasi 5 mM dimasukkan ke dalam 96 *microplate* lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, tambahkan 17  $\mu$ L larutan  $\beta$ -glukosidase 0,15 U /mL di tiap sumur sehingga volume total 100  $\mu$ L. Menginkubasi kembali

selama 15 menit agar terjadi reaksi hidrolisis sempurna, lalu tambahkan natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 200 mM sebanyak 100  $\mu\text{L}$ , kemudian ukur absorbansi dengan panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.

Data diolah dengan menentukan rata-rata absorbansi dari tiap jenis larutan, menghitung persen inhibisi, dan menggunakan regresi linear untuk menentukan nilai  $\text{IC}_{50}$ , serta nilai potensi relatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Ekstraksi Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.)

Sebanyak 400 gram serbuk leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) yang telah diekstraksi menghasilkan 28,84 gram ekstrak kental. Hasil perbandingan antara ekstrak dibagi dengan simplisia awal didapatkan persen rendeman sebesar 7,21%.

### Hasil Skrining Fitokimia

**Tabel 1.** Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Leilem

No	Golongan Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	Mayer	Positif	Terbentuk endapan putih
		Wagner	Positif	Terbentuk endapan coklat
		Dragendorf	Positif	Terbentuk endapan jingga
2	Flavonoid	HCl + Mg	Positif	Terbentuk endapan merah bata
3	Tanin	$\text{FeCl}_3$	Positif	Terbentuk warna biru kehitaman
4	Terpenoid dan Steroid	$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{CH}_3\text{COOH}$	Positif	Terbentuk warna ungu dan coklat
5	Saponin	$\text{H}_2\text{O} + \text{HCl}$	Positif	Terbentuk buih

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun leilem dapat dilihat pada Tabel 1. Dalam analisis fitokimia golongan senyawa alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, ditemukan endapan putih yang diperkirakan sebagai kompleks kalium-alkaloid. Prinsip dasar metode ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi melalui penggantian ligan, dimana atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas pada molekul alkaloid dapat menggantikan ion iodo dalam berbagai reagen. Reagen Dragendorff, yang mengandung bismut nitrat dan kalium iodida dalam larutan asam asetat glasial (kalium tetraiodobismutat (III)), menghasilkan endapan berwarna coklat muda sampai kuning (jingga) sebagai indikator positif adanya alkaloid. Endapan ini menunjukkan adanya kalium alkaloid. Hasil positif untuk alkaloid juga diamati pada uji Wagner dengan terbentuknya endapan coklat muda hingga kuning yang diperkirakan sebagai kompleks kalium-alkaloid. Dalam pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion  $\text{I}^-$  dari kalium iodida, membentuk ion dengan warna coklat (Ergina *et al.*, 2014; Marliana *et al.*, 2005).

Dalam analisis flavonoid, penambahan logam Mg dan HCl dilakukan untuk mereduksi inti benzopyrone pada struktur flavonoid sehingga menyebabkan terbentuknya

garam flavonoid berwarna merah. Warna biru kehitaman pada uji tanan menunjukkan terbentuknya kompleks antara tanin dan  $\text{Fe}^{3+}$ . Terbentuknya kompleks ini dapat disebabkan oleh adanya senyawa fenolik terutama tanin yang merupakan senyawa polifenol. Pengujian terpenoid dan steroid mengubah warna menjadi ungu dan coklat. Hal ini disebabkan kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid dalam membentuk warna ketika berinteraksi dengan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  dalam pelarut asetat anhidrida. Uji saponin menunjukkan hasil positif karena terbentuknya gelembung. Saponin mempunyai gugus glikosil sebagai komponen polar dan gugus steroid atau triterpenoid sebagai komponen polar dan gugus steroid atau triterpenoid sebagai komponen non polar, sehingga mempunyai aktivitas permukaan dan membentuk misel bila dikocok dengan air. Dalam struktur misel, gugus polar menghadap ke luar dan gugus nonpolar menghadap ke dalam, sehingga menciptakan keadaan seperti gelembung (Habibi *et al.*, 2018).

### Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Enzim $\beta$ -glukosidase

**Tabel 2.** Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Enzim  $\beta$ -Glukosidase oleh Kontrol Positif.

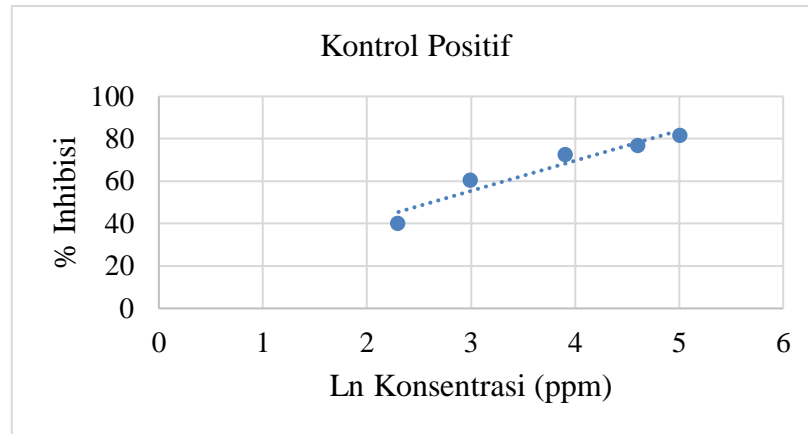
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata absorbansi	%Inhibisi
	I	II	III		
10	1,103	1,103	1,148	1,118	40,150
20	0,413	0,796	1,00	0,736	60,582
50	0,324	0,326	0,885	0,512	72,609
100	0,39	0,397	0,512	0,433	76,820
150	0,339	0,348	0,348	0,345	81,531

**Tabel 3.** Hasil Pengukuran Nilai Absorbansi Enzim  $\beta$ -Glukosidase oleh Sampel

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata absorbansi	%Inhibisi
	I	II	III		
10	0,246	1,982	1,168	1,132	39,400
20	0,246	1,993	1,099	1,113	40,435
50	0,273	0,691	1,189	0,718	61,581
100	0,267	0,793	0,859	0,640	65,757
150	0,249	0,747	0,755	0,584	68,754

**Hasil Analisis Nilai IC<sub>50</sub> Kontrol Positif**

Hasil uji aktivitas *acarbose* didapatkan dari persamaan garis regresi dengan memplot ln konsentrasi larutan uji dengan nilai persen inhibisi yang terdapat pada Tabel 2.

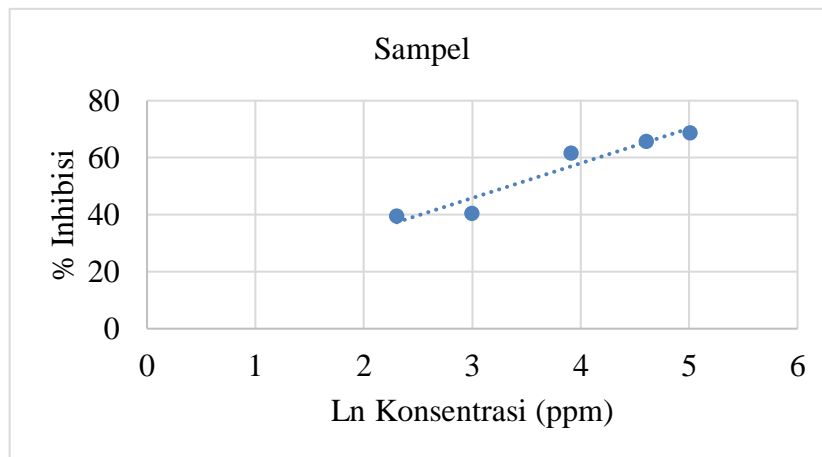


**Gambar 1.** Grafik Aktivitas Inhibisi Enzim β-Glukosidase oleh Kontrol Positif

Berdasarkan Gambar 1 didapatkan persamaan  $y = 14,249x + 12,688$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,926. Adapun dari persamaan regresi linear oleh kontrol positif didapatkan nilai  $IC_{50} = 13,716$

**Hasil Analisis IC<sub>50</sub> Sampel Uji**

Hasil uji aktivitas ekstrak daun leilem didapatkan dari persamaan garis regresi dengan memplot ln konsentrasi larutan uji dengan persen inhibisi yang terdapat pada Tabel 3.



**Gambar 2.** Grafik Aktivitas Inhibisi Enzim β-Glukosidase oleh Sampel

Berdasarkan gambar 2 didapatkan persamaan  $y = 12,208x + 9,221$  dengan nilai  $R^2$  sebesar 0,929. Adapun dari persamaan regresi linear oleh kontrol positif didapatkan nilai  $IC_{50} = 28,229$

$$\begin{aligned}
 \text{Aktivitas potensi relatif} &= (IC_{50} \text{ kontrol positif} / IC_{50} \text{ sampel}) \times 100\% \\
 &= (13,716/28,229) \times 100\% \\
 &= 0,486
 \end{aligned}$$

Prinsip dasar pengujian ini adalah mengukur aktivitas enzim dengan memantau penyerapan p-nitrofenol yang merupakan hasil hidrolisis substrat  $\beta$ -NPG. Semakin besar kemampuan ekstrak dalam menghambat aktivitas enzim  $\beta$ -glukosidase maka semakin rendah jumlah p-nitrofenol yang dihasilkan. Hal ini terlihat dari nilai serapan yang semakin rendah (Gumilang, 2015). Hasil uji penghambatan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3. Untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim maka diperlukan persen inhibisi. Nilai  $IC_{50}$  yang rendah berarti kemampuan penghambatan terhadap aktivitas  $\beta$ -glukosidase semakin tinggi. Hasil  $IC_{50}$  sebesar 13,716 didapatkan pada kontrol positif yaitu *acarbose*. Sedangkan,  $IC_{50}$  28,229 diperoleh dari sampel yaitu ekstrak daun leilem. Potensi relatif ekstrak daun leilem dalam menghambat enzim  $\beta$ -glukosidase yaitu sebesar 0,4 kalinya dibandingkan dengan kontrol positif.

Kemampuan penghambatan oleh kontrol positif masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan sampel. Adanya aktivitas penghambatan oleh ekstrak dapat disebabkan oleh karena pada skrining fitokimia terdapat senyawa pada daun leilem yang memiliki efek menghambat enzim ini, antara lain senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid, tanin, dan saponin.

Pada beberapa studi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut berperan sebagai antidiabetes dengan menghambat enzim glukosidase. Salah satunya pada studi *in vitro*, terdapat senyawa alkaloid yang diisolasi dari daun *Murraya koenigii* yang terbukti menghambat aktivitas enzim glukosidase (Muhammad *et al.*, 2021). Glukosidase merupakan enzim yang bertugas untuk mendegradasi gula kompleks menjadi sederhana. Dengan adanya penghambatan glukosidase maka akan menunda penyerapan gula di usus, sehingga ini merupakan strategi untuk menjaga kadar gula darah pada pasien diabetes melitus tipe II. Tiga siklopeptida alkaloid yaitu *nummularine-R*, *nummularin-C*, dan *hemsine-A* diisolasi dari tumbuhan *Ziziphus oxyphylla edgw* memberikan hasil yaitu dapat mengontrol hiperglikemia postprandial dengan proses inhibisi enzim glukosidase (Choudhary *et al.*, 2011). Senyawa carbazole alkaloid yang diperoleh dari daun *Murraya koenigii* menunjukkan efek penghambatannya terhadap enzim glukosidase. (Dineshkumar *et al.*, 2010). Penelitian lain membandingkan efek antidiabetik dari total alkaloid dari *Feculae bombycis* (TAFB) dan flavonoid, studi ini dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo* (eksperimen tikus induksi diabetes), didapatkan bahwa baik alkaloid dan flavonoid dapat menghambat aktivitas enzim glukosidase untuk menurunkan level glukosa darah (Geng *et al.*, 2010)

Studi lain meneliti senyawa flavonoid dari tumbuhan *Ampelopsis grossedentata* memberikan aksi penghambatan enzim glukosidase dengan inhibisi kompetitif sehingga membantu kontrol kadar glukosa postprandial (Singh *et al.*, 2022). Senyawa Naringenin bagian dari Flavanones (subklas flavonoid) terbukti menghambat aktivitas intestinal enzim glukosidase dengan menunda absorpsi karbohidrat. Senyawa sianidin dan senyawa rutin yang merupakan bagian dari golongan alkaloid terbukti juga dalam prosesnya untuk menghambat enzim glukosidase dengan mengurangi absorpsi glukosa di intestinal (Al-Ishaq *et al.*, 2019).

Terpenoid menunjukkan aktivitas inhibisi enzim glukosidase, terbukti dengan penelitian yang dilakukan Singh dan kawan-kawan yang mengisolasi terpenoid dari tumbuhan *Cucurbitaceae* dan *Salvia urmiensis Bunge* (Singh *et al.*, 2022). Penelitian oleh Deutschlander, meneliti senyawa betulin, termasuk golongan terpenoid, senyawa betulin



diisolasi dari akar tumbuhan *Euclea undulata* dan terbukti menghambat enzim glukosidase (Deutschländer *et al.*, 2011). Penelitian lain meneliti jenis triterpenoid yaitu asam hyptadienic diisolasi dari *Potentilla fulgens* telah menunjukkan melawan aktivitas enzim glukosidase dan terbukti berpotensi dalam penanganan diabetes (Kumar *et al.*, 2013). Penelitian lain telah meneliti *pentacyclic triterpene aetate* diisolasi dari *Fagara tessmanni* juga menunjukkan efek inhibisinya (Mbaze *et al.*, 2007). Tiga senyawa baru golongan triterpenoid diisolasi dari *Salacia hainanensis* dibandingkan dengan *acarbose*, senyawa tersebut menunjukkan inhibisi kuat melawan enzim glukosidase dan potensial untuk pengobatan diabetes (Huang *et al.*, 2012).

Senyawa golongan tanin terbukti juga dalam penghambatannya terhadap enzim glukosidase, hal ini berkaitan dengan adanya *proanthocyanidin* (Sieniawska, 2015). Tanin yang dikondensasi dari fraksi daun *R.mucronata* memberikan IC<sub>50</sub> yang lebih rendah dari obat *acarbose*, hal ini berarti bahwa fraksi tersebut memiliki potensi sebagai bahan alami untuk antidiabetes, terbukti dengan aktivitas penghambatannya terhadap enzim glukosidase yang menunda absorpsi glukosa di usus. Mekanisme inhibisi glukosidase tersebut diperkirakan karena ikatan hidoksilasi dan substitusi cincin B (Budi & Puspitasari, 2015). Senyawa lain yaitu Procyanidin A2 yang diperoleh dari tanin yang dikondensasi dari tumbuhan *Wendlandia glabrata* berpotensi sebagai agen antidiabetes dengan menginhibisi enzim glukosidase (Sheikh *et al.*, 2019)

Aktivitas penghambatan glukosidase ditunjukkan juga oleh senyawa golongan saponin, sebagai contoh *Arjunolic acid* yang didapat dari *Terminalia arjuna*. Penelitian ini dilakukan dengan model tikus diabetes dengan induksi streptozotzin (Elekofehinti, 2015). Dengan model penelitian yang sama, saponin dari buah *Terminalia arjuna* terbukti juga menghambat aktivitas enzim glukosidase. Senyawa lain dari golongan Saponin yaitu 28-O-monoglucosides diisolasi dari tumbuhan *Gypsophila oldhamiana* menginhibisi aktivitas enzim glukosidase (Choudhary *et al.*, 2020).

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) mengandung senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan steroid, dan saponin. Ekstrak etanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) memiliki aktivitas dalam penghambatan enzim  $\beta$ -glukosidase dengan potensi relatif sebesar 0,4 kalinya dibandingkan dengan *Acarbose* sebagai kontrol positif.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ishaq, R.K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., & Büsselberg, D. (2019). Flavonoids and their anti-diabetic effects: Cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules*, 9(9), 430. <https://doi.org/10.3390/biom9090430>.
- Baynest, H.W. (2015). Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 06(05). <https://doi.org/10.4172/2155-6156.1000541>.

- Budi Sasmito, B., & Puspitasari, Y.E. (2016). Antidiabetic and antioxidant activities of tannin extract of *Rhizophora mucronata* leaves. *Available Online Www.Jocpr.Com Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(3), 143–148.
- Choudhary, M.I., Adhikari, A., Rasheed, S., Marasini, B.P., Hussain, N., Kaleem, W.A., & Atta-Ur-Rahman. (2011). Cyclopeptide alkaloids of *Ziziphus oxyphylla* Edgw as novel inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase enzyme and protein glycation. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 404–406. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2011.08.006>.
- Choudhary, N., Khatik, G.L., & Suttee, A. (2020). The Possible Role of Saponin in Type-II Diabetes- A Review. *Current Diabetes Reviews*, 17(2), 107–121. <https://doi.org/10.2174/1573399816666200516173829>.
- Deuschländer, M.S., Lall, N., Van De Venter, M., & Hussein, A.A. (2011). Hypoglycemic evaluation of a new triterpene and other compounds isolated from *Euclea undulata* Thunb. var. *myrtina* (Ebenaceae) root bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3), 1091–1095. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.11.038>.
- Dineshkumar, B., Mitra, A., & Mahadevappa, M. (2010). Antidiabetic and hypolipidemic effects of mahanimbine (carbazole alkaloid) from *Murraya koenigii* (rutaceae) leaves. *International Journal of Phytomedicine*, 2(1), 22–30. <https://doi.org/10.5138/ijpm.2010.0975.0185.02004>.
- Dinicolantonio, J.J., Bhutani, J., & O’keefe, J.H. (2015). Acarbose: safe and effective for lowering postprandial hyperglycaemia and improving cardiovascular outcomes. *Open Heart*, 2, 327. <https://doi.org/10.1136/openhrt-2015>.
- Dirir, A.M., Daou, M., Yousef, A.F., & Yousef, L.F. (2022). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049–1079. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09773-1>.
- Elekofehinti, O.O. (2015). Saponins: Anti-diabetic principles from medicinal plants - A review. *Pathophysiology*, 22(2), 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2015.02.001>.
- Geng, P., Yang, Y., Gao, Z., Yu, Y., Shi, Q., & Bai, G. (2010). Combined effect of total alkaloids from *Feculae Bombycis* and natural flavonoids on diabetes. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(8), 1145–1150. <https://doi.org/10.1211/jpp.59.8.0013>.
- Gondokesumo, M.E., Kusuma, H.S.W., & Widowati, W. (2017).  $\alpha$ - $\beta$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Activities of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) Ethanol Extract. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 1(1), 34. <https://doi.org/10.21705/mcbs.v1i1.3>.
- Gumilang, J., & Ui, F.F. (2015). Uji Penghambatan Aktivitas Alfa-Amilase dan Alfa-Glukosidase Secara In Vitro Pada Ekstrak Daun *Garcinia rigida* Miq., Serta Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Teraktif [Skripsi]. Universitas Indonesia, Depok, Jakarta.
- Hiyoshi, T., Fujiwara, M., & Yao, Z. (2019). Postprandial hyperglycemia and postprandial hypertriglyceridemia in type 2 diabetes. *Journal of Biomedical Research*, 33(1), 1–16. <https://doi.org/10.7555/JBR.31.20160164>.
- Habibi, A.I., Firmansyah, R.A., & Setyawati, S.M. (2018). Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(1), 1–4. DOI: [10.15294/ijcs.v7i1.23370](https://doi.org/10.15294/ijcs.v7i1.23370).

- Huang, J., Guo, Z.H., Cheng, P., Sun, B.H., & Gao, H.Y. (2012). Three new triterpenoids from *Salacia hainanensis* Chun et How showed effective anti- $\alpha$ -glucosidase activity. *Phytochemistry Letters*, 5(3), 432–437. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2012.03.016>
- Kairupan, C.F., Mantiri, F. R., & Rumende, H.R.R. (2019). Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) as an Antihyperlipidemic and Antiatherosclerotic Agent. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 217(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/217/1/012016>.
- Kepel, B.J., Fatimawali, F., Tallei, T.E., & Kalalo, M.J. (2022). Unraveling Anti-Diabetic and Pharmacological Properties of Green Gedi, Leilem, and Sesewanua Using A Pharmacoinformatics Approach. *Jurnal Penelitian Tanaman Industri*, 28(1), 21. <https://doi.org/10.21082/jlitri.v28n1.2022.21-34>
- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari I.D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) Yang Diekstraksi Dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim*, 3(3), 165–172.
- Kumar, D., Ghosh, R., & Pal, B.C. (2013).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory terpenoids from *Potentilla fulgens* and their quantitative estimation by validated HPLC method. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1135–1141. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.03.010>
- Li, Y., Wen, S., Kota, B.P., Peng, G., Li, G.Q., Yamahara, J., & Roufogalis, B.D. (2005). *Punica granatum* flower extract, a potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitor, improves postprandial hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2), 239–244. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.02.030>.
- Marliana, S.D., Suryati, V., & Suyono, S. (2005). The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). *Biofarmasi Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26–31. <https://doi.org/10.13057/biofar/f030106>.
- Mbaze, L.M., Poumale, H.M.P., Wansi, J.D., Lado, J.A., Khan, S.N., Iqbal, M.C., Ngadjui, B.T., & Laatsch, H. (2007).  $\alpha$ -Glucosidase inhibitory pentacyclic triterpenes from the stem bark of *Fagara tessmannii* (Rutaceae). *Phytochemistry*, 68(5), 591–595. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.12.015>.
- Muhammad, I., Rahman, N., Gul-E-nayab, Nishan, U., & Shah, M. (2021). Antidiabetic activities of alkaloids isolated from medicinal plants. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902020000419130>
- Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. (2021). Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia. <https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2021/11/22-10-21-Website-Pedoman-Pengelolaan-dan-Pencegahan-DMT2-Ebook.pdf>
- Sheikh, Y., Chanu, M. B., Mondal, G., Manna, P., Chattoraj, A., Chandra Deka, D., Chandra Talukdar, N., & Chandra Borah, J. (2019). Procyanidin A2, an anti-diabetic condensed tannin extracted from: *Wendlandia glabrata*, reduces elevated G-6-Pase and mRNA levels in diabetic mice and increases glucose uptake in CC1 hepatocytes and C1C12 myoblast cells. *RSC Advances*, 9(30), 17211–17219. <https://doi.org/10.1039/c9ra02397f>.
- Sieniawska, E. (2015). Activities of Tannins-From In Vitro Studies to Clinical Trials. *Natural Product Communications*, 10(11), 1877–1884.

- Singh, G., Verma, A. K., & Kumar, V. (2016). Catalytic properties, functional attributes and industrial applications of  $\beta$ -glucosidases. *3 Biotech*, 6(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s13205-015-0328-z>.
- Singh, S., Bansal, A., Singh, V., Chopra, T., & Poddar, J. (2022). Flavonoids, alkaloids and terpenoids: a new hope for the treatment of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 21(1), 941–950. <https://doi.org/10.1007/s40200-021-00943-8>.
- Singhania, R. R., Patel, A. K., Sukumaran, R. K., Larroche, C., & Pandey, A. (2013). Role and significance of beta-glucosidases in the hydrolysis of cellulose for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 127, 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.09.012>
- Tim Riskesdas 2018. Hasil Utama RISKESDAS 2018. Retrieved August 22, 2023, from [https://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir\\_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018\\_1274.pdf](https://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018_1274.pdf)
- Utami, Y. Umar, A.H., Syahrini, R., & Kadullah, I. (2017). Standardisasi Simplisia dan Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn.). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 2(1), 32-39.
- World Health Organization. (2023a, April 5). *Diabetes*. [https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1)
- World Health Organization. (2023b, April 5). *Diabetes*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes#:~:text=Overview,hormone%20that%20regulates%20blood%20glucose>.