

KEMAMPUAN EKSTRAK SEKUENSIAL DAGING BUAH PALA SEBAGAI AGEN HIPOGLIKEMIK UNTUK PENYERAPAN GLUKOSA

Auliya Rizky Harjono Paijo¹, Rebecca Teisha Indriawan¹, Marsel Refanli Karisoh¹, Adinda Putri Maharani Susmantoyo¹, Edi Suryanto¹, Max R. J. Runtuwene¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi
Edi7suryanto@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes adalah salah satu penyakit kronis yang paling umum terjadi pada manusia, yang ditandai dengan kekurangan insulin yang menyebabkan peningkatan glukosa darah secara terus-menerus serta perubahan metabolisme lipid dan protein. Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa buah pala (*Myristica fragrans* Houtt.) menunjukkan beberapa aktivitas yaitu sitotoksik, hepatoprotektif, antioksidan, antiinflamasi, antitrombotik, hipolipidemia, antiaterosklerotik, hipoglisemik dan antidiabetik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi dari ekstrak daging buah pala sebagai agen hipoglisemik. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daging buah pala dapat digunakan sebagai agen hipoglisemik.

Kata kunci: Daging buah pala, hipoglisemik, penyerapan glukosa darah

ABSTRACT

Diabetes is one of the most common chronic diseases in humans, which is characterized by insulin deficiency which causes persistently elevated blood glucose and changes in lipid and protein metabolism. Several studies have reported that nutmeg exhibits several activities, namely cytotoxic, hepatoprotective, antioxidant, anti-inflammatory, antithrombotic, hypolipidemic, antiatherosclerotic, hypoglycemic and antidiabetic. The purpose of this study was to determine the potential of nutmeg pulp extract as a hypoglycemic agent. The method used in this research is *in vitro* testing. The results obtained indicate that the extract of nutmeg pulp can be used as a hypoglycemic agent.

Keywords: Nutmeg flesh, hypoglycemic, blood glucose absorption

PENDAHULUAN

Diabetes adalah salah satu penyakit kronis yang paling umum terjadi pada manusia, yang ditandai dengan kekurangan insulin yang menyebabkan peningkatan glukosa darah secara terus-menerus serta perubahan metabolisme lipid dan protein, sehingga mengakibatkan beberapa komplikasi termasuk neuropati diabetes, penyakit jantung koroner dan hipertensi (Bhutkar & Bhise, 2012; Bhutkar dkk., 2017).

Berdasarkan data dari *World Health Organisation* (WHO), Indonesia menempati urutan ke 4 dengan prevalensi penderita diabetes mellitus didunia dan WHO memprediksi jumlah penyandang diabetes pada tahun mendatang akan mengalami peningkatan yang cukup besar (Kunaryanri dkk., 2018). Pada tahun 2000 jumlah penderita diabetes mellitus di Indonesia sebesar 8,4 juta dan WHO memprediksi akan mengalami

kenaikan menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Sama halnya dengan WHO, *International Diabetes Federation* (IDF) juga memprediksikan kenaikan jumlah penderita diabetes mellitus dari 7 juta pada tahun 2009 menjadi 12 juta pada tahun 2030 (Pratiwi dkk., 2014).

Pengobatan diabetes saat ini, selain suplemen insulin termasuk banyak agen hipoglisemik oral seperti sulfonilurea, biguanides, thiazolidines, meglitinida turunan D-fenilalanin dan inhibitor α -glukosidase bersama dengan diet dan olahraga yang sesuai. Namun, tidak ada yang dapat disebut sebagai yang ideal, karena efek samping toksiknya dan kadang-kadang berkurang sebagai respons setelah penggunaan jangka panjang (Bhutkar & Bhise, 2011; Deng, 2012). Oleh karena itu, adanya kebutuhan mendesak untuk merancang dan mengembangkan senyawa atau kombinasi baru, terutama yang berasal dari herbal yang akan

terbukti bermanfaat untuk penatalaksanaan diabetes yang efektif.

Indonesia memiliki beragam jenis tanaman obat. Tanaman yang termasuk dalam kelompok tanaman obat mencapai lebih dari 1000 jenis, salah satunya yaitu buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) (Nurdjannah, 2007). Dalam buah pala mengandung senyawa kimia yang dapat menunjukkan sifat antioksidan dan antibakteri (Calliste dkk., 2010). Sifat-sifat tersebut dapat dihubungkan dengan berbagai senyawa fitokimia aktif seperti vitamin, karotenoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, lignin, fenol sederhana dan asam fenolat (Chatterjee *et al.*, 2007).

Beberapa penelitian telah melaporkan bahwa buah pala menunjukkan beberapa aktivitas yaitu sitotoksik, hepatoprotektif, antioksidan, antiinflamasi, antitrombotik, hipolipidemia, antiaterosklerotik, hipoglisemik dan antidiabetik (Moteki dkk., 2002; Morita dkk., 2003; Dorman dkk., 2000). Sehingga dapat di manfaatkan sebagai terapi menurunkan kadar glukosa darah dengan mencegah terjadinya apoptosis akibat reaksi oksidatif. Saat ini belum ada penelitian mengenai agen hipoglisemik dari ekstrak daging buah pala. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak daging buah pala sebagai agen hipoglisemik dengan menggunakan metode ekstraksi sokletasi menggunakan pelarut petroleum eter, etil asetat, aseton, etanol, dan metanol serta kemampuannya untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase.

BAHAN DAN METODE

Daging buah pala diperoleh dari perkebunan di Kepulauan Sangihe Talud. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah, metanol, etanol, aseton, etil asetat, petroleum eter, reagen Folin Ciocalteu, aluminium klorida, natrium karbonat, natrium hidroksida, natrium kalium tartrat dan glukosa diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany). Asam 3,5-dinitrosalisilat diperoleh dari Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), sedangkan enzim α -amilase dan pati kentang berkualifikasi teknis yang diperoleh dari Tokopedia.

Preparasi sampel

Daging buah pala yang telah diambil, dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil kemudian direbus selama 15 menit lalu dikeringkan di dalam oven selama 3-5 hari (sampai kering

keras). Sampel yang telah kering kemudian diblender. Setelah itu, hasilnya digiling menggunakan alat miling (Formac tipe FCT-Z200) selama 2 menit. Hasil miling dalam bentuk serbuk, lalu diayak menggunakan ayakan 200 mesh (75 μ m).

Ekstraksi serbuk daging buah pala

Serbuk ditimbang sebanyak 40 g lalu disokletasi dengan 300 mL pelarut petroleum eter selama 3 jam kemudian disokletasi kembali dengan pelarut etil asetat selama 3 jam, dilakukan hal yang sama untuk pelarut aseton, etanol, dan metanol. Masing-masing filtrat yang diperoleh, dievaporasi pada suhu 50°C lalu dikeringkan dalam oven. Ekstrak pekat yang diperoleh, ditimbang dan disimpan sebagai ekstrak petroleum eter (EPE), ekstrak etil asetat (EEA), ekstrak aseton (EA), ekstrak etanol (EE), dan ekstrak metanol (EM).

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong dkk. (2002). Sebanyak 0,1 mL sampel 1000 μ g/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada λ 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak daging buah pala ditentukan menurut metode Meda dkk., (2005). Sebanyak 2 mL larutan ekstrak 1 mg/mL dimasukan dalam tabung reaksi lalu ditambah dengan 2 mL AlCl_3 2% yang telah dilarutkan dalam etanol, kemudian divortex. Absorbansi ekstrak dibaca pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai mg ekuivalen kuesertin mg/mL ekstrak.

Pengaruh ekstrak daging buah pala pada *in-vitro* glukosa

Pengaruh ekstrak daging buah pala pada *in vitro* glukosa dibuat menurut metode Bhutkar dkk. (2018). Sampel ekstrak diambil sebanyak 6 mL ditambahkan ke 5 mL larutan glukosa dari meningkatnya konsentrasi (5, 10, 20, dan 50

mM). Campuran diaduk dengan baik, diinkubasi dalam bak air shaker pada 37°C selama 6 jam, disentrifugasi selama 20 menit dan supernatan diambil sebanyak 1 mL ditambah 3 mL asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS), kemudian masukkan air mendidih selama 5 menit, didinginkan lalu dibaca. Konsentrasi glukosa terikat dihitung dengan menggunakan rumus berikut.

$$\text{Terikat glukosa} = \frac{G_1 - G_6}{\text{berat sampel}} \times \text{volume larutan}$$

Keterangan: G1 = konsentrasi glukosa dari larutan standar, G6 = konsentrasi glukosa setelah 6 jam

Pengaruh ekstrak daging buah pala terhadap enzim α -amilase

Uji penghambatan enzim α -amilase dilakukan berdasarkan metode Loizzo dkk. (2016). Larutan pati (0,5% w/v), larutan α -amilase (0,0253 g enzim dalam 100 mL aquades dingin) dan reagen kolorimetri (larutan natrium

kalium tartrat dan 96 mM larutan asam 3,5-dinitrosalisilat) disiapkan. Kontrol dan sampel ditambahkan ke larutan pati dan dibiarkan bereaksi dengan larutan α -amilase pada suhu 25°C selama 5 menit. Absorbansi terbaca pada 540 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging buah pala, sampel tersebut dibuat dalam bentuk serbuk dengan cara dihaluskan menggunakan blender kemudian di *milling*. Hal ini bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel. Semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaannya sehingga dapat mempengaruhi interaksi sampel dengan pelarut pada proses ekstraksi. Hasil sampel ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen Ekstrak beberapa jenis ekstrak daging buah pala

| Sampel | Rendemen (%) |
|------------------------------|-----------------------------|
| Ekstrak petroleum eter (EPE) | 0,785 ± 1,017 ^c |
| Ekstrak etil asetat (EEA) | 4,589 ± 0,097 ^{bc} |
| Ekstrak aseton (EA) | 7,258 ± 0,746 ^{ba} |
| Ekstrak etanol (EE) | 9,353 ± 2,823 ^a |
| Ekstrak metanol (EM) | 2,640 ± 1,645 ^c |

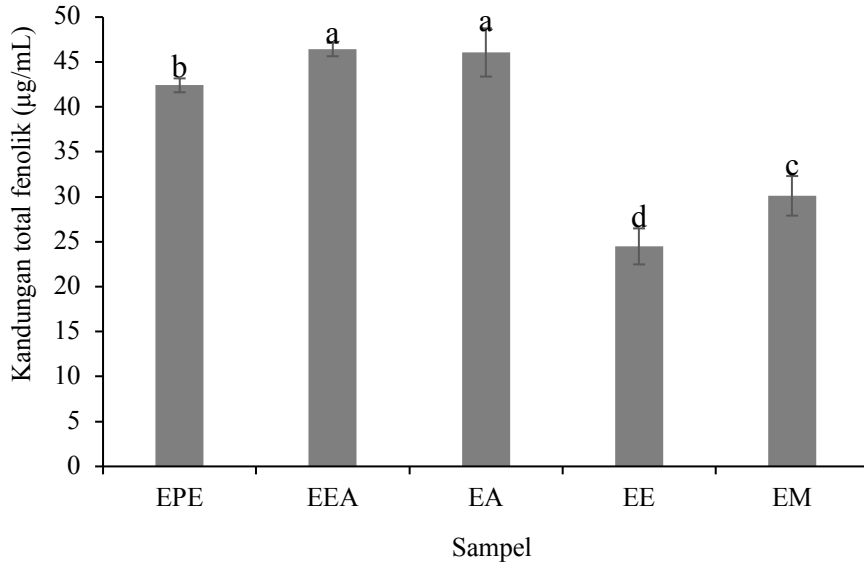
Keterangan: Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 5\%$).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Karepu dkk. (2020), hasil ekstraksi sokletasi dengan pelarut etanol memiliki nilai rendemen yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan pelarut petroleum eter.

Kandungan total fenolik

Konsentrasi total fenolik dalam ekstrak ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam daging buah pala yang bereaksi dengan asam fosfomolibdat-fosfotungstat dalam

reagen *Folin Ciocelciu* yang menghasilkan senyawa kompleks yaitu molibdenum-tungstat dengan perubahan warna menjadi biru. Setelah penambahan reagen, warna biru yang dihasilkan semakin pekat menunjukkan semakin besar konsentrasi total senyawa fenolik pada tanaman (Makanaung dkk., 2021). Kandungan total fenolik dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat atau *Gallic Acid Equivalent* (GAE). Hasil kandungan total fenolik dapat dilihat pada Gambar 1.



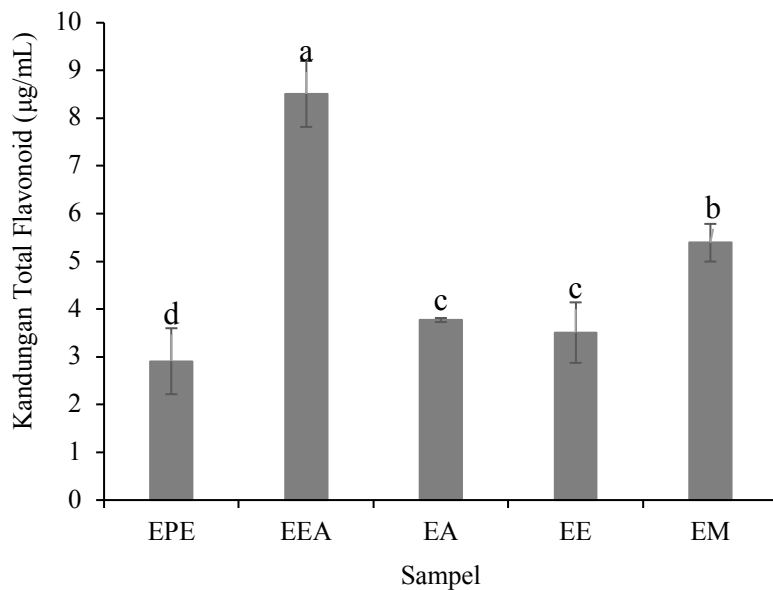
Gambar 1. Kandungan total fenolik dari beberapa jenis ekstrak daging buah pala

Keterangan: Singkatan sama seperti pada Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 5\%$).

Penelitian yang dilakukan oleh Dareda dkk. (2020), menyatakan kandungan total fenolik ekstrak etanol daging buah pala sebesar 50,09 µg/mL. Kadar total fenolik pada penelitian ini dan penelitian yang dilakukan oleh Dareda dkk. (2020) berbeda. Perbedaan ini dapat disebabkan karena perbedaan teknik ekstraksi yang digunakan, perbedaan tempat tumbuh tanaman, faktor lingkungan (komposisi suhu, tanah, curah hujan, dll), serta penggunaan pelarut yang digunakan.

Kandungan total flavonoid

Prinsip dari metode $AlCl_3$ yaitu pembentukan kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, serta pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Cahyanta, 2016). Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin atau *Quersetin Equivalent* (QE).



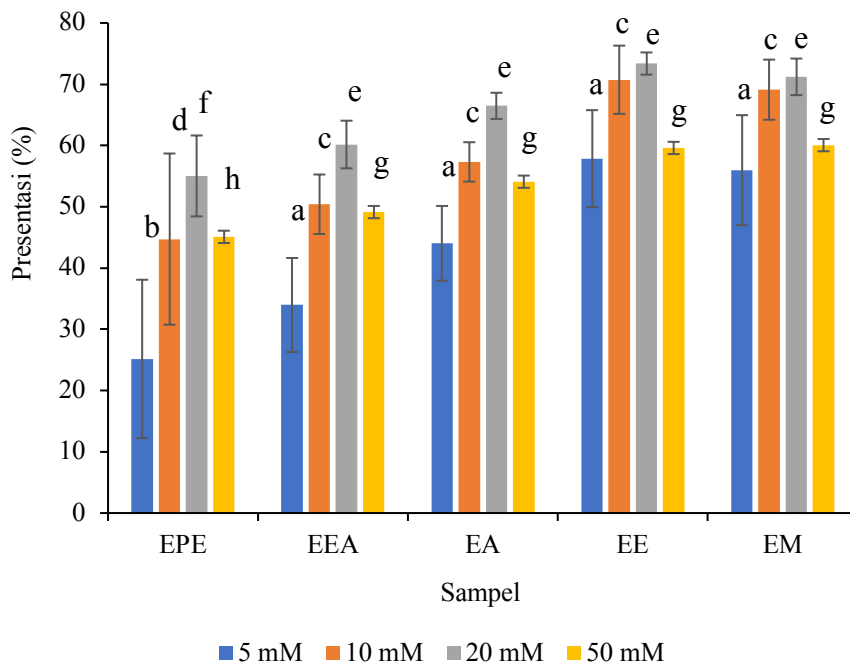
Gambar 2. Kandungan total flavonoid dari beberapa jenis ekstrak daging buah pala

Keterangan: Singkatan sama seperti pada Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 5\%$).

Penelitian yang dilakukan oleh Makanaung dkk. (2021), menyatakan kandungan total flavonoid ekstrak etanol dari daging buah pala sebesar 9,99 $\mu\text{g/mL}$. Kadar total flavonoid pada penelitian ini dan penelitian yang dilakukan oleh Makanaung dkk. (2021) berbeda. Hal ini dapat disebabkan karena perbedaan tempat tumbuh tanaman, faktor lingkungan (komposisi suhu, tanah, curah hujan, dan lain-lain), serta penggunaan pelarut yang digunakan.

Pengaruh ekstrak pada *in-vitro* glukosa

Prinsip dari metode DNS adalah gula pereduksi akan bereaksi dengan reagen DNS membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang berwarna kuning kecoklatan. Hasil penyerapan glukosa oleh ekstrak daging buah pala disajikan pada Gambar 3. Berdasarkan hasil yang didapatkan, menunjukkan bahwa ekstrak daging buah pala bisa mengikat glukosa secara efektif. Dapat diamati bahwa ekstrak daging buah pala memiliki kemampuan dalam menyerap glukosa baik pada konsentrasi rendah maupun konsentrasi tinggi.



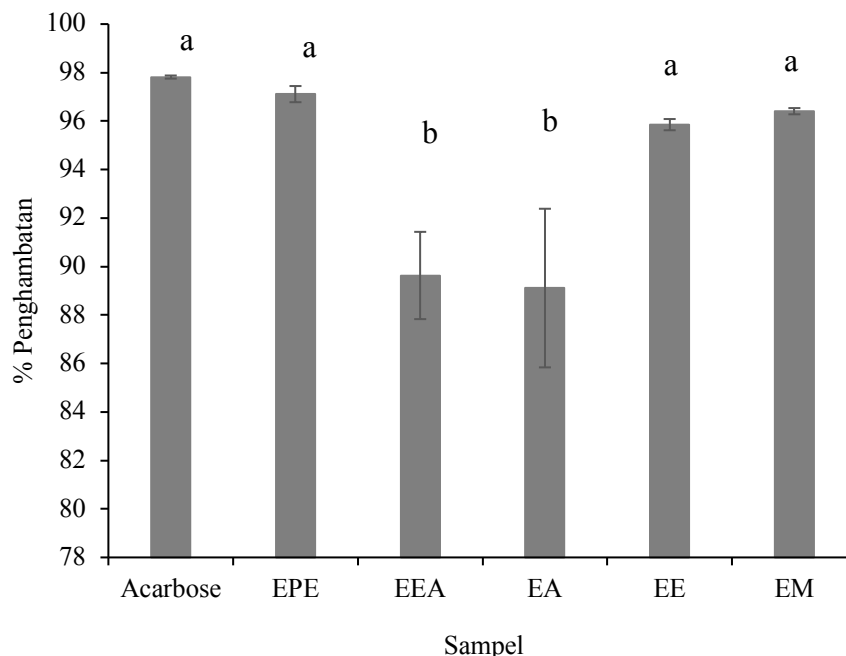
Gambar 3. Presentasi glukosa terikat dari beberapa jenis ekstrak daging buah pala

Keterangan: Singkatan sama seperti pada Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 5\%$).

Beberapa penelitian telah dilakukan pada berbagai tanaman yang memiliki kemampuan untuk mengikat glukosa secara efektif antara lain trembesi kuning (*Albizia lebeck*), barberry India (*Berberis aristata*), kara benguk (*Mucuna pruriens*), tabks dara (*Catharanthus roseus*), dan kebiul (*Caesalpinia bonducella*) (Bhutkar dkk., 2018).

Pengaruh ekstrak terhadap aktivitas enzim α -amilase

Pengujian aktivitas enzim dilakukan secara *in vitro*. Pati kentang pada penelitian ini berfungsi sebagai substrat dari enzim. Sedangkan DNS berfungsi sebagai reagen pewarna, dimana reagen ini berikatan dengan substrat membentuk warna kuning, sehingga absorbansinya dibaca pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 540 nm. Acarbose digunakan sebagai kontrol positif dalam pengujian ini.



Gambar 4. Aktivitas Penghambatan enzim α -amilase dari beberapa jenis ekstrak daging buah pala

Beberapa penelitian telah dilakukan pada berbagai tanaman yang memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase antara lain daun bodhi, daun kembang bulan, daun insulin, biji mahoni, dan bunga pala (Rijai *et al.*, 2018; Loizzo *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

Hasil ekstraksi sokletasi secara sekuensial menghasilkan rendemen terbesar terdapat pada ekstrak etanol. Kelima sampel mengandung fenolik dan flavonoid, tapi ekstrak etil asetat dan ekstrak aseton memiliki kandungan total fenolik tertinggi, sedangkan kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak petroleum eter memiliki kemampuan untuk menyerap glukosa secara *in vitro* paling rendah. Sedangkan, ekstrak etil asetat dan ekstrak aseton memiliki kemampuan paling rendah untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase.

DAFTAR PUSTAKA

Bhinge, S.D., Bhutkar, M.A., Randive, D.S., Wadkar, G. H. & Todkar, S. S. 2017. Formulation development and evaluation of antimicrobial polyherbal gel. *Annales*

Pharmaceutiques Françaises. 75(5), 349-358.

Bhutkar, M., Bhinge, S., Randive, D., Wadkar, G. & Todkar, S. 2018. Studies on glucose adsorption capacity of some indigenous plants. *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 5(1), 1-4.

Bhutkar, M.A. & Bhise, S. B. 2011. Spices and condiments in the management of diabetes mellitus. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 4(1), 1-6.

Bhutkar, M.A. & Bhise, S.B. 2012. In vitro assay of alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *International Journal of Chemical Sciences*. 10(1), 457-462.

Bhutkar, M.A., Bhinge, S.D., Randive, D.S. & Wadkar, G.H. 2017. Hypoglycemic effects of *Berberis aristata* and *Tamarindus indica* Extracts *in vitro*. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University*. 55(1), 91-94.

Calliste, C. A., Kozlowski, D., Duroux, J. L., Champavier, Y., Chulia, A. J. & Trouillas, P. 2010. A New antioxidant from wild nutmeg. *Food Chemistry*. 118(3), 489-496.

Chatterjee, S., Niaz, Z., Gautam, S., Adhikari, S., Variyar, P.S. & Sharma, A. 2007. Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*). *Food Chemistry*. 101(2), 515-523.

Dareda, C. T, Suryanto, E. & Momuat, L. I. 2020. Karakterisasi dan aktivitas antioksidan serat

- pangan dari daging buah pala (*Myristica fragrans* Houtt). *Chemistry Progress*. 13(1), 48-55.
- Deng, R. 2012. A Review of the hypoglycemic effects of five commonly used herbal food supplements. recent patents on food. *Nutrition & Agriculture*. 4(1), 50-60.
- Dorman, H. J. D., Surai, P. & Deans, S. G. 2000. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. *Journal of Essential Oil Research*. 12(2), 241-248.
- Karepu, M.G., Suryanto, E. & Momuat, L. I. 2020. Komposisi kimia dan aktivitas antioksidan dari paring kelapa (*Cocos nucifera*). *Chemistry Progress*. 13(1), 39-47.
- Loizzo, M.R., Sicari, V., Tenuta, M.C., Leporini, M.R., Falco, T., Pellicano, T.M., Menichini, F. & Tundis, R. 2016. Phytochemicals content, antioxidant and hypoglycaemic activities of commercial nutmeg mace (*Myristica fragrans* L.) and Pimento (*Pimenta dioica* (L.) Merr.). *International Journal of Food Science and Technology*. 51(9), 2057-2063.
- Jeong, S.M., Kim, S.Y., Kim, D.R., Jo, S.C., Nam, K.C, Ahn, D.U. & Lee, S.C. 2004. Effect of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(11), 3389-3393.
- Kunaryanti, Andriyani, A., & Wulandari, R. 2018. Hubungan tingkat pengetahuan tentang diabetes mellitus dengan perilaku mengontrol gula darah pada pasien diabetes mellitus rawat jalan di RSUD Dr. Moewardi Surakarta. *Jurnal Kesehatan*. 11(1), 49-56.
- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millog, J. & Nacoulma, O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*. 91(3), 571-577.
- Morita, T., Jinno, K., Kawagishi, H., Arimoto, Y. & Sukanuma, H. 2003. Hepatoprotective effect of myristicin from nutmeg (*Myristica fragrans*) on lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced Liver Injury. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(1), 1560-1565.
- Moteki, H., Usami, M., Katsuzaki, H., Imai, K. & Hibasami, H. 2002. Inhibitory affects of spice extracts on the growth of human lymphoid leukaemia, Molt 4B cells. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 49(2), 688-691.
- Nurdjannah, N. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor.
- Pratiwi, P., Amatiria, G. & Yamin, M. 2014. Pengaruh stress terhadap kadar gula darah sewaktu pada pasien diabetes melitus yang menjalani hemodialisa. *Jurnal Kesehatan*. 5(1), 11-16.