

## Aktivitas Penurunan Kadar Glukosa Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* L) Secara *In-vitro* dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis

Elly Suoth<sup>1\*</sup>, Karlah Lifie<sup>1</sup>, Ronald Datu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,  
Universitas Sam Ratulangi

<sup>2</sup>Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi

\*Email: ellysuoth@unsrat.ac.id

### ABSTRAK

Tingginya reaksi oksidasi menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh manusia yang dapat memicu berbagai penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus. Tanaman endemik Sulawesi Utara salah satunya yaitu daun leilem telah terbukti pada penelitian sebelumnya memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian sebelumnya telah diuji aktivitas antioksidan ekstrak serta beberapa fraksi daun leilem dan diperoleh hasil bahwa ekstrak daun leilem memiliki aktivitas antioksidan paling baik. Untuk itu penelitian ini bertujuan untuk melanjutkan penelitian sebelumnya dari daun leilem dengan melihat aktivitas penurunan kadar glukosa dari ekstrak daun leilem secara invitro dengan metode spektrofotometri UV-Vis menggunakan pereaksi Nelson Somogyi dengan kadar glukosa yang digunakan yaitu 40 ppm dan konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm serta menguji kadar total fenol dan flavonoid pada ekstrak etanol daun leilem. Hasil penelitian diperoleh bahwa ekstrak daun leilem dapat menurunkan kadar glukosa secara in vitro. Pada ekstrak dengan konsentrasi 20 ppm kadar glukosa menurun sebanyak 50,77%, ekstrak 40 ppm kadar glukosa menurun sebanyak 55,55%, 60 ppm ekstrak kadar glukosa turun sebanyak 60,45%, ekstrak 80 ppm kadar glukosa turun sebanyak 65,12 ppm dan ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm kadar glukosa turun sebanyak 70,55%. Untuk kadar total fenol pada ekstrak yaitu 143,105 mg GAE/g dan total flavonoid pada ekstrak etanol daun leilem yaitu 76,265 mg QE/g

Kata kunci: ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L), glukosa, in-vitro, fenol, flavonoid

### ABSTRACT

High oxidation reactions cause the formation of free radicals in the human body which can trigger various degenerative diseases such as diabetes mellitus. One of the endemic plants of North Sulawesi, leilem leaves, has been proven in previous research to have antioxidant activity. In previous research, the antioxidant activity of extracts and several fractions of leilem leaves had been tested and the results showed that leilem leaf extract had the best antioxidant activity. For this reason, this research aims to continue previous research on leilem leaves by looking at the activity of reducing glucose levels from leilem leaf extract in vitro using the UV-Vis spectrophotometric method using Nelson Somogyi reagent with the glucose level used being 40 ppm and the extract concentration used being 20, 40, 60, 80 and 100 ppm and tested the total phenol and flavonoid levels in the ethanol extract of leilem leaves. The research results showed that leilem leaf extract could reduce glucose levels in vitro. In the extract with a concentration of 20 ppm the glucose level decreased by 50.77%, in the 40 ppm extract the glucose level decreased by 55.55%, in the 60 ppm extract the glucose level decreased by 60.45%, in the 80 ppm extract the glucose level decreased by 65.12 ppm and extracts with a concentration of 100 ppm glucose levels decreased by 70.55%. The total phenol content in the extract is 143.105 mg GAE/g and the total flavonoid content in the ethanol extract of leilem leaves is 76.265 mg QE/g

Keywords: leilem leaf extract, glucose, in-vitro, phenol, flavonoids

### PENDAHULUAN

Reaksi oksidasi terjadi setiap saat. Bahkan ketika manusia bernapas pun terjadi reaksi oksidasi. Reaksi ini mencetuskan terbentuknya radikal bebas yang sangat aktif dan dapat merusak struktur serta fungsi sel. Senyawa-senyawa dalam tubuh yang sangat rentan terhadap oksidasi yaitu karbohidrat, protein dan juga lemak. Pembentukan radikal bebas terjadi secara terus-menerus dalam tubuh baik melalui proses metabolisme sel normal, peradangan, kekurangan gizi dan akibat respons terhadap pengaruh sinar ultraviolet, asap rokok, polusi lingkungan dan lainnya. Tingginya reaksi oksidasi menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam tubuh manusia yang dapat memicu berbagai

penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus dan hiperkolesterolemia. Kondisi stres oksidatif yang diinduksi hiperglikemia pada diabetes melitus biasa dikaitkan dengan peningkatan apoptosis sel endotel secara *in vitro* dan *in vivo* yang dibuktikan dengan berbagai penelitian yang menunjukkan adanya peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan kapasitas antioksidan. Produksi superoksida berlebih yang disertai dengan peningkatan NO akan mendukung terbentuknya oksidan peroksinitrit yang kuat, yang dapat merusak DNA (Prawitasari dkk., 2019)

Untuk itu tubuh membutuhkan suatu senyawa penting yang memiliki aktivitas dalam menurunkan kolesterol serta glukosa darah yang sekaligus dapat menghindari stress oksidatif dalam tubuh serta meredam dampak negatif dari radikal bebas (Laratmase dkk., 2024). Senyawa-senyawa tersebut antara lain adalah golongan flavonoid dan fenol yang diperkirakan juga terdapat dalam ekstrak daun leilem dan berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun leilem juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Efek antioksidan dari ekstrak daun leilem diperkirakan karena dalam daun leilem mengandung metabolit sekunder seperti fenol dan flavonoid berdasarkan uji skrining metabolit sekunder sebelumnya. Senyawa flavonoid diperkirakan memiliki efek mirip dengan insulin yaitu bekerja dengan menurunkan kadar glukosa lewat penurunan produksi glukosa di hepatosit. Selain itu flavonoid lewat gugus OH bebasnya pada posisi R3 di cincin C akan membentuk kompleks dengan glukosa sehingga kadar glukosa berkurang (Ramadhani dkk., 2021).

Penelitian sebelumnya meneliti tentang manfaat ekstrak daun leilem dengan pelarut etanol dan juga dengan menggunakan fraksi polar, semi polar dan non polar dan terbukti bahwa daun leilem dengan yang diekstraksi dengan pelarut etanol memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi yang lainnya (Suoth dkk., 2022) sehingga pada penelitian ini dilanjutkan pengujian terhadap penurunan kadar glukosa secara *invitro* menggunakan spektrofotometri dengan pereaksi Nelson Somogyi. Berdasarkan literature yang diperoleh penggunaan pereaksi Nelson Somogyi untuk penetapan kadar glukosa dengan spektrofotometri lebih sensitif jika dibandingkan dengan menggunakan pereaksi anthron.

## BAHAN DAN METODE

Daun leilem diperoleh dari Desa Sea Tumpengan, Kecamatan Pineleng, Kabupaten Minahasa. Bahan kimia berkualifikasi proanalisis antara lain etanol, glukosa, natrium karbonat anhidrat, natrium kalium tartrat, natrium bikarbonat, natrium sulfat anhidrat, tembaga sulfat, asam sulfat, aquadest dan arsenomolibdat diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany).

### Preparasi dan ekstraksi serta fraksinasi sampel

Sampel daun leilem dipetik kemudian diangin-anginkan sampai kering kemudian dihaluskan dan diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 95% selama 7 hari dan dilakukan pengadukan setiap hari sebanyak dua kali. Sampel kemudian diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kental daun leilem.

Ekstrak daun leilem sebanyak 5 gram diambil kemudian di larutkan dengan aquadest sebanyak 50 mL, kemudian di tambahkan dengan larutan n-hexane sebanyak 50 mL dalam corong pisah. Campuran larutan di gojok selama kurang lebih 10 menit selanjutnya dibiarkan sampai terbentuk dua lapisan. Fraksi n-hexan kemudian dikeluarkan dari corong pisah. Fraksi aquadest dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan dengan etil asetat sebanyak 50 mL. Campuran di gojok kemudian biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Fraksi etil asetat dikeluarkan dari corong pisah kemudian pelarutnya diuapkan membentuk ekstrak fraksi etil asetat.

### Penetapan kadar total fenolik

Ekstrak etanol daun leilem di buat dalam konsentrasi 100 ppm kemudian dipipet sebanyak 0,1 mL dalam tabung reaksi, ditambahkan pereaksi Folin-Ciocalteu konsentrasi 50% sebanyak 0,1 mL lalu di vortex. Selanjutnya ditambahkan larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2% sebanyak 2 mL kemudian inkubasi campuran larutan selama 30 menit. Absorbansi larutan dibaca pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 750 nm. Kadar total fenol dihitung berdasarkan ekivalen asam galat dalam konsentrasi  $\mu\text{g/mL}$  ekstrak.

### **Penetapan kadar total flavonoid**

Ekstrak etanol daun leilem dalam konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi selanjutnya ditambahkan larutan  $AlCl_3$  konsentrasi 2% sebanyak 2 mL, kemudian divorteks dan diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi larutan kemudian dibaca pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 415 nm. Kadar total flavonoid di hitung berdasarkan ekivalen kuersetin dalam konsentrasi  $\mu g/mL$  ekstrak.

### **Penentuan panjang gelombang maksimum**

Larutan baku glukosa dibuat dengan konsentrasi 20 ppm kemudian dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, tambahkan 1 mL reagen Nelson Somogyi lalu tutup tabung reaksi dengan menggunakan kapas, selanjutnya panaskan tabung reaksi dalam air mendidih selama 10 menit, angkat dan dinginkan kemudian tambahkan 1 mL reagen arsenomolibdat dan yang terakhir diencerkan dengan aquadest sampai 10 ml. absorbansi larutan dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 700-800 nm.

### **Penentuan operating time**

Larutan baku glukosa 20 ppm dipipet sebanyak 1 mL ditambahkan reagen Nelson sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi lalu dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit dalam keadaan tertutup dengan kapas. Selanjutnya dinginkan dan ditambahkan dengan reagen arsenomolibdat sebanyak 1 mL dan diencerkan dengan aquadest sampai 10 mL lalu dibaca pada spektrofotometri menggunakan panjang gelombang maksimum dengan interval waktu 5 menit.

### **Penentuan kurva baku glukosa**

Kurva baku glukosa dibuat dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 1 mL kemudian masukkan dalam tabung reaksi dan tambahkan dengan reagen Nelson sebanyak 1 mL. Campuran larutan kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit yang sebelumnya tabung reaksi ditutup dengan kapas. Selanjutnya larutan didinginkan lalu ditambahkan reagen arsenomolibdat sebanyak 1 mL dan aquadest sampai 10 mL. Larutan kemudian dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum.

### **Penentuan penurunan kadar glukosa dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun leilem**

Ekstrak etanol daun leilem dan fraksi etil asetat dibuat dalam seri konsentrasi 20, 40, 60, 80 100 ppm. Diambil masing-masing 2 mL dari setiap konsentrasi kemudian ditambahkan dengan baku glukosa 40 ppm sebanyak 2 ml. Larutan di vorteks selama 2 menit kemudian dari larutan tersebut diambil 1 mL dan masukkan dalam rabung reaksi lalu ditambahkan reagen Nelson sebanyak 1 mL. campuran larutan tersebut kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit dimana bagian ujung tabung disumbat menggunakan kapas. Setelah dingin larutan ditambahkan dengan reagen arsenomolibdat sebanyak 1 mL dan dicukupkan sampai 10 mL dengan aquadest. Larutan dibaca pada spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum.

### **Analisis data**

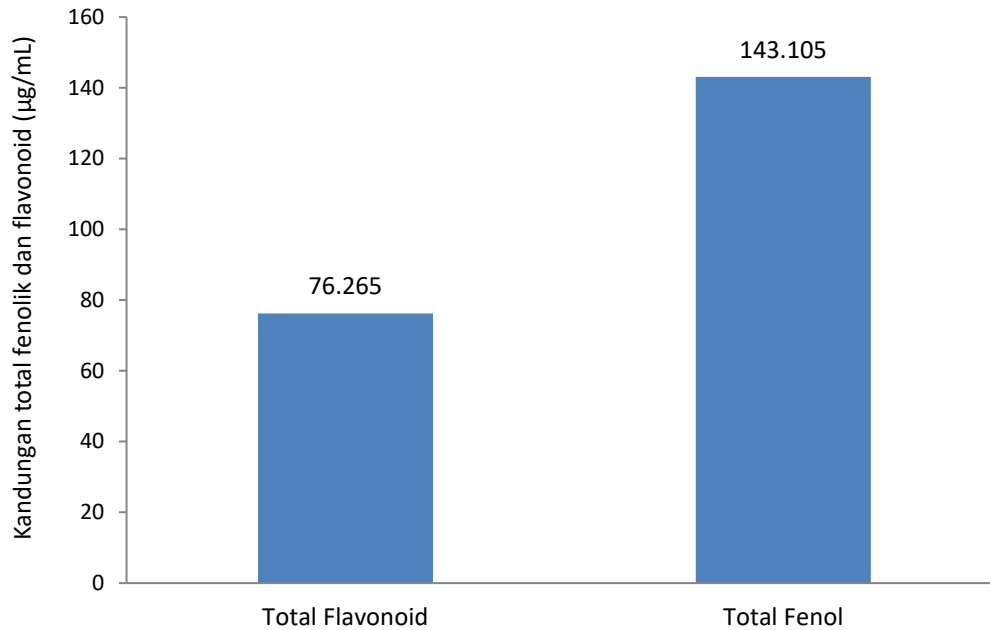
Kadar total fenol dan flavonoid dihitung berdasarkan rumus regresi yang diperoleh dari kurva baku asam galat dan kuersetin sedangkan penurunan kadar glukosa di hitung berdasarkan rumus regresi dari kurva baku glukosa.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Penetapan kadar total fenol dan flavonoid**

Penetapan kadar total fenol dan flavonoid dilakukan karena pada penelitian sebelumnya yang dilakukan uji skrining fitokimia, ekstrak daun leilem dengan pelarut etanol mengandung metabolit sekunder diantaranya adalah fenol dan flavonoid. Kedua senyawa tersebut berdasarkan penelitian-

penelitian sebelumnya memiliki banyak sekali efek farmakologis diantaranya sebagai antioksidan dan juga senyawa flavonoid diduga memiliki kerja yang hampir sama dengan insulin.



Gambar 1. Kadar total fenol dan flavonoid

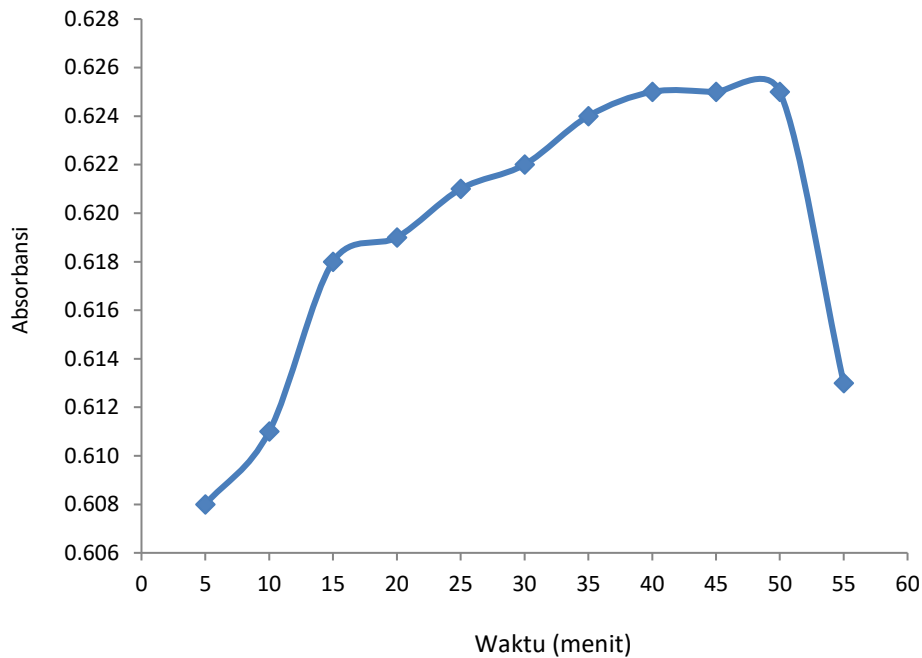
Penentuan kadar total fenol dilakukan dengan menggunakan metode Folin Ciocalteu atas reaksinya yang membentuk kompleks molybdenum tungstate yang menghasilkan perubahan warna larutan menjadi biru. Semakin pekat warna biru yang terbentuk semakin besar konsentrasi fenolik dalam ekstrak. Sedangkan untuk penentuan total flavonoid dilakukan dengan metode menggunakan larutan  $\text{AlCl}_3$  yang membentuk kompleks asam yang stabil dengan flavon atau flavonol. Pada penelitian ini kandungan fenol pada ekstrak etanol daun leilem adalah 143,105  $\mu\text{g/mL}$  dan untuk total flavonoid adalah 76,265  $\mu\text{g/mL}$ . Kandungan total fenol dan flavonoid ini diduga yang memiliki peran aktif menghasilkan efek farmakologi dari daun leilem sebagai antioksidan dan dalam menurunkan kadar glukosa.

### Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis yang memberikan nilai absorbansi paling tinggi. Penentuan panjang gelombang maksimum untuk mengetahui panjang gelombang yang akan dijadikan patokan dalam pengujian. Penentuan variasi dari panjang gelombang maksimum didasarkan atas warna komplementer dari larutan yang terbentuk saat pengujian. Penentuan panjang gelombang maksimum juga dilakukan karena panjang gelombang suatu senyawa akan berbeda bila ditentukan pada alat yang berbeda dan juga kondisi atau situasi yang berbeda. Pertimbangan pemilihan panjang gelombang 700-800 dikarenakan warna larutan yang terbentuk saat bereaksi dengan reagen adalah warna hijau dan juga panjang gelombang maksimum dari glukosa dengan pereaksi Nelson adalah pada kisaran panjang gelombang tersebut. Scanning panjang gelombang dilakukan dan diperoleh panjang gelombang maksimum dari larutan adalah 752 nm.

### Penentuan operating time

Penentuan operating time dilakukan pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 752 nm dengan selang waktu 5 menit, di mulai dari menit ke-5 sampai menit ke-50. Penentuan operating time dilakukan untuk mengetahui waktu pengukuran optimum yang masih stabil, dimana pada waktu tersebut reagen dan sampel sudah bereaksi dengan baik sehingga menghasilkan absorbansi yang paling tinggi.

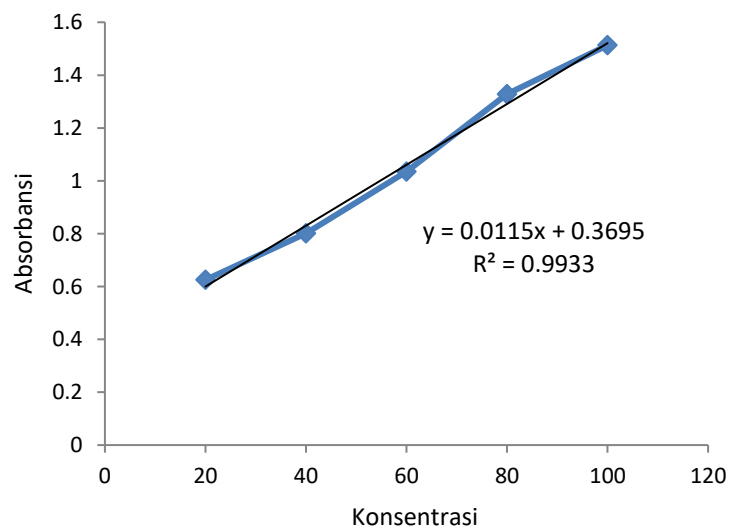


Gambar 2. Grafik waktu kestabilan glukosa

Berdasarkan penelitian, waktu optimum yang masih stabil ada pada menit ke 40-45. Diketahuinya waktu optimum yang stabil maka waktu inkubasi pun dapat menyesuaikan sehingga menghasilkan intensitas warna yang maksimal. Untuk itu pada penelitian ini lama inkubasi larutan sampel sebelum dibaca pada spektrofotometer adalah 45 menit.

### Kurva baku glukosa

Kurva baku atau kurva kalibrasi adalah salah satu metode standar yang dilakukan untuk penentuan suatu konsentrasi analit. Selain itu pembuatan kurva baku juga bertujuan untuk melihat kemampuan suatu metode analisis dapat memperoleh hasil uji yang sesuai dengan konsentrasi baku atau sampel pada kisaran konsentrasi tertentu (Rohman, 2007). Kurva baku dibuat dengan seri konsentrasi 20, 40, 60, 80 ppm. Larutan seri konsentrasi tersebut di baca pada panjang gelombang maksimum yaitu 752 nm.

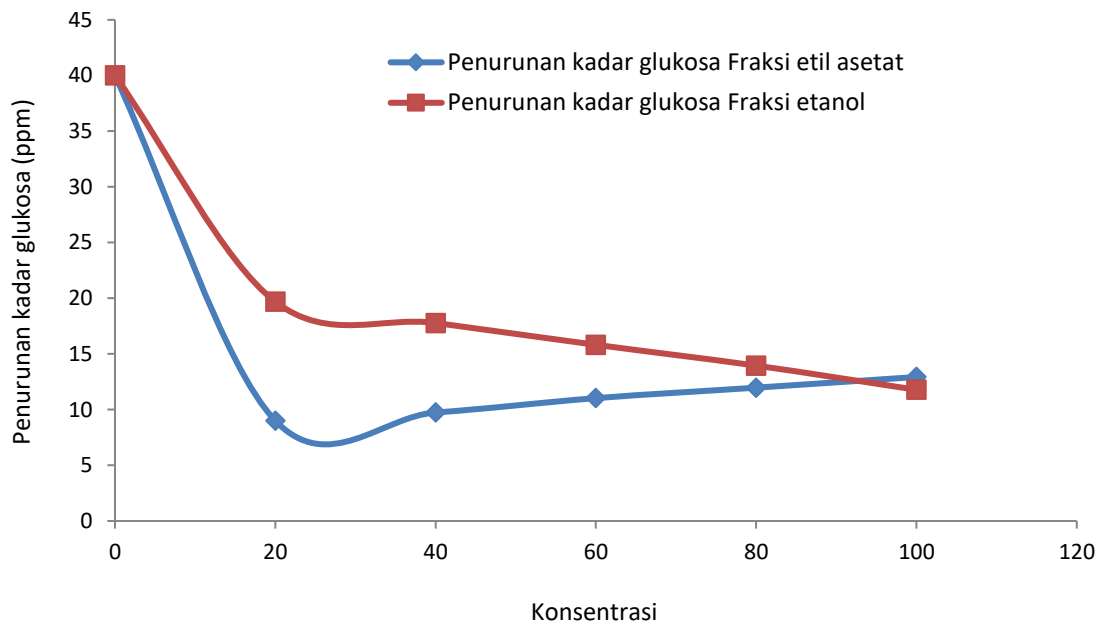


Gambar 3. Grafik kurva baku glukosa

Hasil pengukuran absorbansi pada seri konsentrasi kurva baku diperoleh bahwa semakin besar konsentrasi glukosa maka semakin besar nilai absorbansi yang diperoleh. Berdasarkan pengukuran tersebut dibuat grafik dengan memplotkan nilai absorbansi pada sumbu Y dan konsentrasi pada sumbu X dan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kurva baku yang dapat dikatakan linear dengan melihat pada nilai regresi yang dihasilkan pada kurva yaitu 0,9933, dimana suatu kurva baku dikatakan linear apabila nilai koefisien korelasi yang diperoleh adalah  $\leq 0,9970$  (Chan dkk, 2004). Dari hasil pengukuran seri konsentrasi kurva baku juga diperoleh persamaan regresi yaitu  $y = 0,0115x + 0,3695$ . Berdasarkan nilai-nilai yang diperoleh dari pengukuran kurva baku menunjukkan bahwa persamaan garis regresi tersebut dapat digunakan untuk penentuan kadar glukosa dengan spektrofotometri UV-Vis.

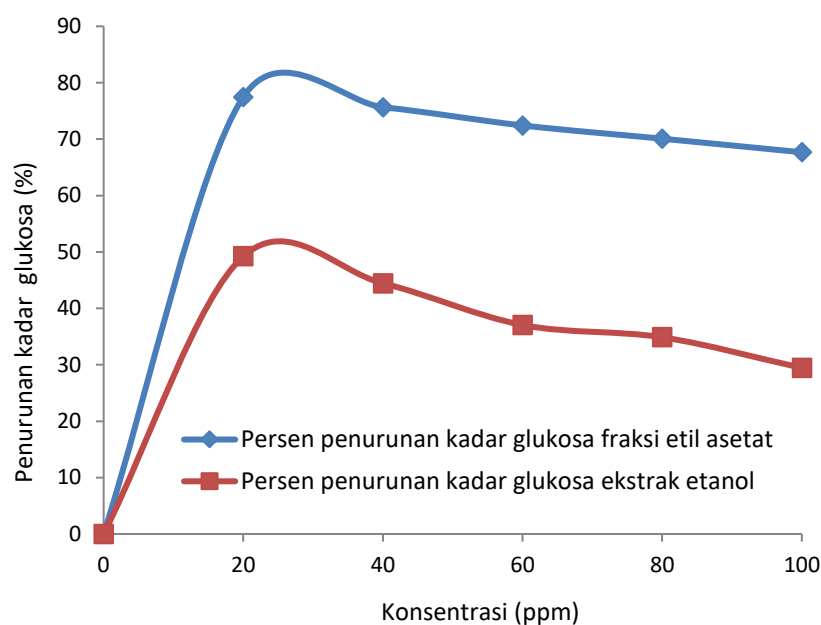
### Penurunan kadar glukosa oleh ekstrak etanol daun leilem

Penurunan kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan reagen Nelson Somogyi. Ada banyak metode atau reagen tertentu yang dapat digunakan untuk penentuan kadar gula dengan spektrofotometri namun berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Al-Kayyis pada tahun 2016 diperoleh bahwa reagen Nelson Somogyi lebih stabil pada pengukuran kadar gula pereduksi dibandingkan metode antrone. Reagen Nelson dipilih karena lebih spesifik untuk mengukur kadar gula pereduksi dalam penelitian ini yaitu glukosa yang ditambahkan pada sampel ekstrak sehingga gula-gula lain yang diperkirakan terdapat pada ekstrak tidak akan ikut terhitung.



Gambar 4. Grafik penurunan kadar glukosa

Konsentrasi ekstrak etanol dan fraksi etil asetat yang digunakan pada penelitian ini yaitu 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm sedangkan untuk larutan glukosa yang ditambahkan pada larutan sampel adalah 40 ppm. Dapat dilihat pada grafik dimana semakin besar konsentrasi ekstrak etanol yang digunakan maka semakin kecil kadar glukosa yang terdeteksi, sedangkan untuk fraksi etil asetat semakin besar konsentrasi semakin kecil penurunan kadar glukosa yang terjadi dimana hal tersebut berbanding terbalik dengan ekstrak etanol. Dari hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat daun leilem dapat mengikat glukosa yang ditambahkan. Namun pada fraksi etil asetat penurunan kadar glukosa yang terjadi lebih baik dibandingkan dengan ekstrak etanol dan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengikat glukosa lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak etanol.



Gambar 5. Persentase penurunan kadar glukosa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat

Penurunan kadar glukosa yang diperoleh dihitung persentasenya sehingga dapat dilihat pada grafik bahwa pada konsentrasi 20 ppm ekstrak etanol daun leilem sudah dapat mengikat lebih dari 50% glukosa yang ditambahkan pada larutan sampel dan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100 ppm, glukosa yang terikat sudah lebih dari 70% atau ada pada angka 70,55%, sedangkan untuk fraksi etilasetat pada konsentrasi 20% sudah mampu mengikat glukosa sampai 77,47% namun pada konsentrasi semakin besar persen pengikatan glukosa menjadi kecil dimana pada konsentrasi 100 ppm fraksi etil asetat mampu mengikat glukosa sebanyak 67,67%. Pengikatan glukosa oleh ekstrak etanol daun leilem kemungkinan disebabkan karena adanya metabolit sekunder seperti flavonoid. Sisa gula yang tidak berikatan dengan flavonoid akan bereaksi dengan reagen Nelson membentuk endapan  $\text{Cu}_2\text{O}$  dan dengan penambahan reagen arsenomolibdat terbentuk kompleks molybdenum yang membuat larutan menjadi warna biru. Berdasarkan penelitian ini ekstrak etanol daun leilem dapat menurunkan kadar glukosa secara in-vitro namun dapat lebih dipastikan dengan melakukan penelitian secara in-vivo menggunakan hewan uji.

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun leilem mengandung fenol dan flavonoid dengan total fenol adalah 143,105  $\mu\text{g/mL}$  dan untuk total flavonoid adalah 76,265  $\mu\text{g/mL}$ . berdasarkan penelitian ekstrak etanol daun leilem dapat mengikat glukosa dimana pada konsentrasi 100 ppm ekstrak dapat mengikat glukosa sebanyak 70,55% dan pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi 20 ppm mampu mengikat glukosa sebanyak 77,47%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Kayyis, H. K., & Susanti, H. 2016. Perbandingan metode Somogyi-Nelson dan Anthrone-Sulfat pada penetapan kadar gula pereduksi dalam umbi cilembu (*Ipomea batatas L.*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13(2), 81-89.
- Chan, C.C., Herman, Lam, Y.C., Lee., & Zhang, X.M. 2004. *Analytical Method Validation and Instrument Performance Verification*. John Willey & Sons Inc Publication, New Jersey.
- Laratmase, R.V., Katja, D.G., & Momuat, L.I. 2024. Potensi antidiabetes ekstrak metanol dan fraksi dari kulit batang *Chisocheton sp.* (C.Dc) Harms pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). *Chemistry Progress*, 17(10), 40-48.

- Prawitasari & Sukmaya, D. 2019. Review: Diabetes melitus dan antioksidan. *Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(1), 47-51.
- Ramadhani, M.A., Kumala, H., Jusman, A., Hari, A., & Novel, F. 2021. Perbandingan aktivitas penurunan glukosa pada ekstrak dan nanoekstrak daun insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan metode *In-vitro*. *Journal of Research in Pharmacy*, 1(2), 28-36.
- Suoth, E.J., Datu, O., Jayanti, M., & Wehantow, F., 2022. Analisis fitokimia dan uji antioksidan ekstrak dan fraksi sediaan krim daum leilem. *Chemistry Progress*, 15(2), 56-62.