



9 772686 250000

e-ISSN : 2686-2506



Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase Metabolit Kapang Endofit Yang Diisolasi Dari Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Ani Pahriyani*, Priyo Wahyudi, Devi Marita

FFS Universitas Muhammadiyah Prof.DR.HAMKA, Jakarta

*Email korespondensi : anipahriyani@uhamka.ac.id

(Submit 15/03/2019, Revisi 05/09/2019, Diterima 20/12/2019)

Abstrak

Rimpang kunyit (*Curcuma longa*) merupakan salah satu tanaman yang dapat menghambat α -glukosidase. Produksi obat herbal memiliki kendala dalam menjaga tingkat produksi metabolit sekunder. Produksi metabolit sekunder menjadi peluang besar bagi mikroba endofit. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi kapang endofit dari rimpang kunyit dan mengetahui aktivitas metabolitnya sebagai inhibitor α -glukosidase. Isolasi rimpang kunyit dilakukan dengan metode tanam langsung (*direct plant*) yang diletakkan di atas media PDA. Diperoleh empat isolat kapang endofit dan setiap isolat dikultivasi dengan medium PDY. Supernatan yang diperoleh diekstraksi dengan etil asetat dan butanol. Ekstrak metabolit yang diperoleh digunakan untuk uji inhibitor α -glukosidase. Hasil reaksi enzimatik berupa p-nitrofenol diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 415 nm. Empat kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit menghasilkan metabolit yang dapat menghambat α -glukosidase. Aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak butanol metabolit IRK3D yaitu 51,99%.

Kata kunci: kapang endofit, rimpang kunyit, inhibitor α -glukosidase, *microplate reader*, akarbosa

Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Daftar Pustaka

Pendahuluan

Diabetes melitus adalah peningkatan glukosa darah dengan tidak ada atau kurang memadainya sekresi insulin serta dengan atau tanpa gangguan efek insulin. Diabetes melitus tipe 2 ditandai oleh resistensi jaringan terhadap efek insulin dikombinasikan dengan defisiensi relatif sekresi insulin¹. Salah satu antidiabetik oral untuk diabetes melitus tipe 2 adalah inhibitor α -glukosidase. Inhibitor α -glukosidase adalah obat yang menurunkan absorpsi pati, dekstrin, dan disakarida dengan cara menghambat kerja α -glukosidase². Obat yang termasuk golongan inhibitor α -glukosidase adalah akarbosa, namun memiliki efek samping seperti flatulensi, diare dan nyeri abdomen¹. Oleh karena itu

diperlukan alternatif pengobatan di antaranya dengan memanfaatkan tanaman obat³. Mikroba endofit umumnya berupa bakteri dan kapang⁴.

Salah satu tanaman obat yang dapat menginhibisi α -glukosidase adalah rimpang⁵. Produksi metabolit sekunder menjadi peluang besar bagi mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya. Mikroba endofit adalah mikroba yang hidup di dalam jaringan tanaman pada periode tertentu dan mampu hidup dengan membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya³. Salah satu sumber bahan baku obat yang telah diisolasi mikroba endofitnya adalah kunyit⁶. Lumenta *et al.* (2014) telah meneliti adanya kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit⁷. Penelitian lain yang telah dilakukan pada ekstrak rimpang kunyit adalah aktivitasnya dalam menghambat enzim α -glukosidase dan menunjukkan IC_{50} yaitu 28,4 μ g/ml⁵. Berdasarkan penelitian tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas inhibitor α -glukosidase metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit.

Metode

A. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Etanol 70% (Merck), natrium hipoklorit (NaOCl 5,25%), akuades, n-heksan, etil asetat, n-butanol, enzim α -glukosidase yang berasal dari *Saccharomyces cerevisiae* rekombinan (Sigma-Aldrich G5003), *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (Sigma-Aldrich N1377), *Bovine Serum Albumin*, KH_2PO_4 (Merck), NaOH, PDA (*Potat Dextrose Agar*). PDB (*Potato Dextrose Broth*), YE (*Yeast Extract*), akuades bebas CO_2 , Na_2CO_3 (Merck), $CaCO_3$ (Merck), akarbosa (Glucobay). Bahan uji yang digunakan adalah rimpang kunyit yang diambil dari perkebunan kunyit, Jatiasih, Jawa Barat.

B. Metode Penelitian

1. Isolasi Kapang Endofit

Rimpang kunyit dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada tanaman. Setelah itu dipotong melintang dan dilakukan sterilisasi permukaan. Potongan-potongan tersebut direndam dalam larutan etanol 70% selama 1 menit, dilanjutkan dalam larutan NaOCl 5,25% selama 5 menit kemudian dibilas dengan etanol 70% selama 30 detik, lalu dibelah 1 x 1 cm secara melintang menjadi sama besar untuk masing-masing bagian, diletakkan di atas media PDA dengan posisi permukaan belahan menempel pada medium agar. Setelah itu diinkubasi selama 5-10 hari pada suhu 27-30 °C⁸.

2. Kultivasi Isolat Kapang Endofit

Isolat kapang endofit yang diperoleh dimasukkan ke dalam medium kultivasi cair PDY sebanyak 20 ml dalam tabung besar. Kultivasi dengan *rotary shaker* selama 7 hari dengan kecepatan 120 rpm. Hasil kultivasi disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit dan disaring. Supernatan dipisahkan dari biomassa, biomassa dikeringkan dan dihitung bobot massanya⁸.

3. Uji Aktivitas Inhibitor α -glukosidase

a. Pengujian Ekstrak Metabolit Kapang Endofit Rimpang Kunyit

Sebanyak 10 μ l ekstrak ditambahkan 120 μ l dapar fosat (pH 6,8) dan 20 μ l enzim α -glukosidase 0,2 U/ml lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu ditambahkan 20 μ l substrat p-NPG, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37 °C. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan Na_2CO_3 sebanyak 80 μ l. Hasil reaksi enzimatik diukur absorbansinya dengan *microplate reader* pada panjang

gelombang 415 nm. Pada uji sampel (ekstrak), blanko dilakukan tanpa penambahan enzim, semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi⁹.

b. Pengujian Akarbosa

Sebanyak 10 µl akarbosa ditambahkan 120 µl dapar fosat (pH 6,8) dan 20 µl enzim α-glukosidase 0,2 U/ml lalu diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu ditambahkan 20 µl substrat p-NPG, lalu diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C. Reaksi enzimatik dihentikan dengan penambahan Na₂CO₃ sebanyak 80 µl. Hasil reaksi enzimatik diukur absorbansinya dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 415 nm. Pada uji sampel (akarbosa), blanko dilakukan tanpa penambahan enzim, semua pengujian dilakukan tiga kali replikasi⁹.

c. Persentase Inhibisi

Aktivitas inhibitor α-glukosidase dari sampel dapat dihitung dengan rumus pada persamaan :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\% \quad (1)$$

Hasil Dan Pembahasan

A. Hasil Isolasi dan Pemurnian Kapang Endofit

Tanaman kunyit diambil dari perkebunan kunyit, Jatiasih, Jawa Barat. Tanaman kunyit yang diisolasi yaitu bagian rimpang yang berdasarkan penelitian sebelumnya memiliki aktivitas penghambatan α-glukosidase. Isolat kapang endofit yang diperoleh dari proses isolasi sebanyak 6 isolat. Pada cawan pertama, didapatkan isolat murni dengan kode isolat IRK1A (isolat rimpang kunyit cawan ke-1 bagian A). Di cawan ke-2 terdapat isolat dengan morfologi yang berbeda, sehingga diperoleh 2 isolat murni dengan kode isolat IRK2A (isolat rimpang kunyit cawan ke-2 bagian A) dan IRK2B (isolat rimpang kunyit cawan ke-2 bagian B). Pada cawan ketiga, terdapat 4 isolat murni dengan kode IRK3A, IRK3B, IRK3C, dan IRK3D. Keempat isolat tersebut memiliki morfologi yang sama, sehingga dipilih 1 isolat dengan diameter terbesar yaitu IRK3D (isolat rimpang kunyit cawan ke-3 bagian D). Berdasarkan hasil pemurnian tersebut, diperoleh 4 isolat kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit. Hasil selengkapnya dapat dilihat dari gambar 1 dan 2.

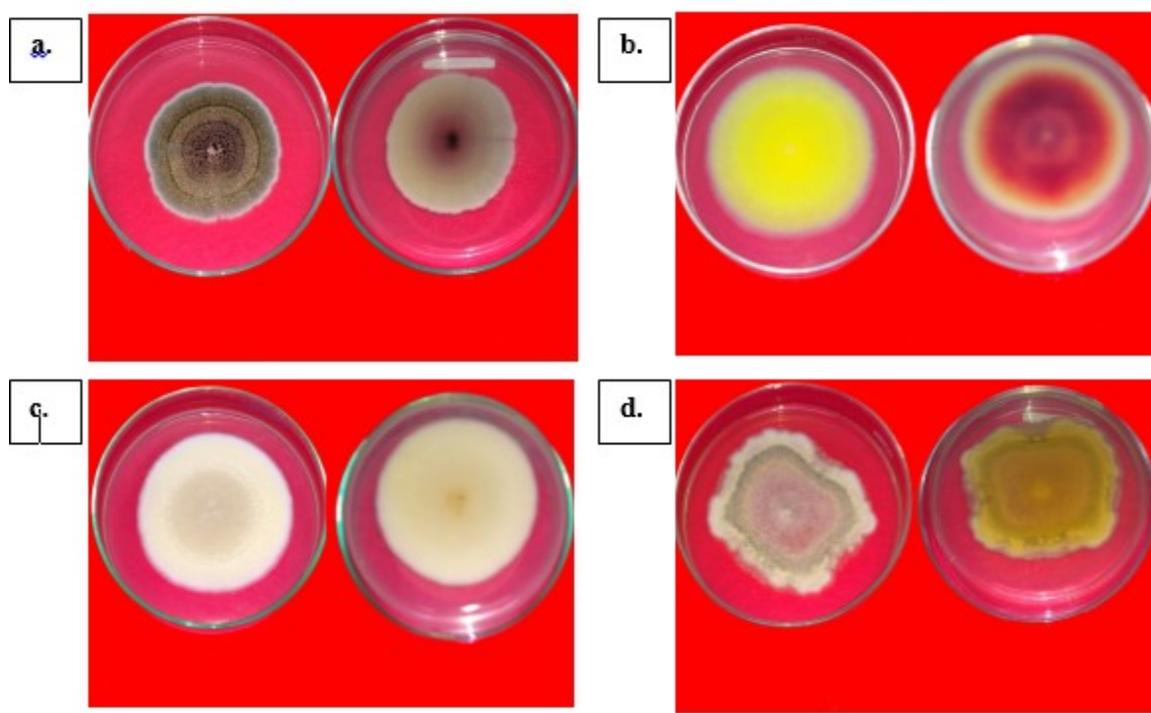


Gambar 1. Hasil Isolasi Kapang Endofit yang Diisolasi dari Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*). (a) hasil isolasi cawan ke-1, (b) hasil isolasi cawan ke-2, (c) hasil isolasi cawan ke-3

B. Hasil Kultivasi Kapang Endofit

Pada penelitian ini kultivasi metabolit kapang endofit dilakukan dalam skala kecil dengan menggunakan medium PDY sebanyak 20 ml. Penambahan CaCO₃ bertujuan untuk mengatur pH medium agar berada pada pH 6, karena pH 6 merupakan pH

optimal untuk pertumbuhan kapang dan produksi metabolit sekunder¹⁰. Setelah beberapa hari terlihat kapas-kapas kecil berwarna putih melayang-layang dalam medium. Bentuk-bentuk seperti kapas tersebut adalah spora atau konidia tunggal yang sudah tumbuh menjadi miselium.



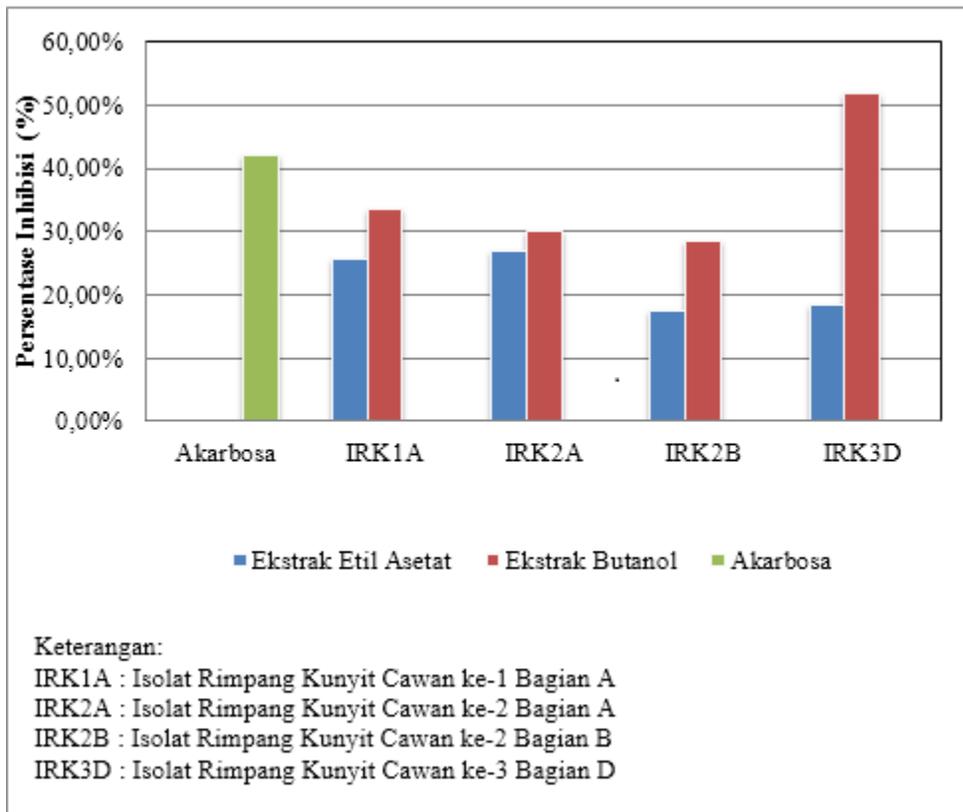
Gambar 2. Hasil Isolasi Kapang Endofit dari Rimpang Kunyit : (a) IRK1A; (b) IRK2A; (c) IRK2B; (d) IRK3D

C. Hasil Ekstraksi Metabolit Kapang Endofit

Pada penelitian ini ekstraksi menggunakan pelarut organik yaitu etil asetat yang bersifat semi polar dan n-butanol yang bersifat polar. Hal tersebut karena senyawa penghambat enzim α -glukosidase pada umumnya adalah senyawa semi polar hingga polar¹¹. Proses ekstraksi dilakukan dengan mengukur volume supernatan yang diperoleh dengan ditambahkan pelarut 1 : 3. Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen zat aktif dari suatu bahan menggunakan pelarut dengan tujuan untuk mendapatkan komponen aktif tertentu. Ekstraksi dengan perbedaan tingkat kepolaran pelarut maka akan menghasilkan volume ekstrak yang berbeda pula⁸. Dalam penelitian ini pelarut medium yang digunakan adalah air, sehingga tidak dapat digunakan etanol sebagai pelarut karena etanol bercampur dengan air¹².

D. Hasil Uji Aktivitas Inhibitor α -Glukosidase

Aktivitas inhibitor α -glukosidase diamati dengan membandingkan antara absorbansi sampel dan blanko. Pada kontrol normal, akarbosa, ekstrak etil asetat, dan ekstrak n-butanol metabolit kapang endofit rimpang kunyit digunakan larutan blanko sebagai faktor koreksi. Pada saat penambahan larutan enzim dan substrat, *microplate* 96 sumuran diletakkan di dalam *ice bath* karena suhu rendah mendekati titik beku tidak merusak enzim, namun enzim tidak dapat bekerja¹³. Untuk enzim-enzim yang bekerja di dalam atau pada tubuh manusia, suhu optimal umumnya sekitar suhu normal tubuh yaitu sekitar 37°C. Pada akhir pengujian ditambahkan Na_2CO_3 yang bertujuan untuk menghentikan reaksi enzimatik karena terjadi perubahan pH optimumnya, sehingga aktivitas katalitiknya akan hilang¹⁴.



Gambar 3. Persentase Inhibisi Metabolit Kapang Endofit Rimpang Kunyit dalam Menghambat α -Glukosidase

Berdasarkan gambar 3, keempat ekstrak metabolit isolat menunjukkan adanya aktivitas inhibitor α -glukosidase. Terlihat perbedaan persen inhibisi yang cukup berbeda antara metabolit yang diekstraksi dengan etil asetat dan metabolit yang diekstraksi dengan butanol. Ekstrak etil asetat metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit menunjukkan persen inhibisi 17,58% hingga 27,03%. Ekstrak butanol metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit menunjukkan persen inhibisi 28,63% hingga 51,99%. Ekstrak butanol metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit. Aktivitas penghambatan tertinggi ekstrak etil asetat metabolit ditunjukkan oleh isolat IRK2A yaitu 27,03%, sedangkan aktivitas penghambatan tertinggi dari ekstrak butanol metabolit ditunjukkan oleh isolat IRK3D yaitu 51,99%.

Ekstrak butanol metabolit IRK3D menghasilkan persen inhibisi yang lebih tinggi yaitu 51,99% dibandingkan akarbosa 41,99%. Hal ini diduga bahwa senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak butanol metabolit IRK3D bersifat sinergis, sehingga memberikan aktivitas yang lebih baik dari akarbosa dalam menginhibisi α -glukosidase. Hasil ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% rimpang kunyit memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan akarbosa⁵. Pada penelitian ini hanya dilakukan uji kualitatif untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas metabolit kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit dalam menginhibisi α -glukosidase tanpa optimasi konsentrasi. Adanya keterbatasan penelitian yang hanya memproduksi metabolit kapang endofit rimpang kunyit dalam skala kecil, sehingga tidak menjangkau parameter lainnya termasuk identifikasi golongan senyawa kimia.

Kesimpulan

Empat kapang endofit yang diisolasi dari rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) menghasilkan metabolit yang dapat menghambat α -glukosidase dengan aktivitas tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak butanol metabolit IRK3D yaitu 51,99%.

Daftar Pustaka

1. Kennedy MSN, Masharani U. 2015. Pancreatic Hormones & Antidiabetic Drugs. Dalam: Katzung BG, Susan BM, Anthony JT (eds.). *Basic and Clinical Pharmacology*, Ed. 13, 2. McGraw Hill. New York. Hlm. 1066-1068.
2. Davis SN, Daryl KG. 2007. Senyawa Hipoglikemia Oral, dan Farmakologi Endokrin Pankreas. Dalam: Hardman JG dan Lee E. Limbird (eds.). *Goodman and Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, Ed. 10,4. Terjemah: Tim Alih Bahasa Sekolah armasi ITB. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 1655-1675.
3. Radji M. 2005. Peranan Bioteknologi dan Mikroba Endofit dalam Pengembangan Obat Herbal. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2(3): 113-126.
4. Kuncoro H, Sugijanto NE. 2011. Jamur Endofit, Biodiversitas, Potensi dan Prospek Penggunaannya sebagai Sumber Bahan Obat Baru. *Journal Tropical Pharmaceutical Chemistry*. 1(3): 250-265.
5. Hasimun P, Adnyana IK, Valentina R, Lisnasari E. 2016. Potential α -Glucosidase Inhibitor from Selected *Zingiberaceae* Family. *Asian Journal Pharmacy Clinical Research*. 9(1): 164-167.
6. Widowati T, Bustanussalam, Sukiman H, Simanjuntak P. 2016. Isolasi dan Identifikasi Kapang Endofit dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai Antioksidan. *Bioprol Industri*. 7(1) : 9-16.
7. Lumenta MI, Kepel BJ, Juliatri, Bara R. 2014. Uji Daya Hambat Jamur Endofit Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Dentire Journal*. 3(1): 13-20.
8. Kumala S, Pratiwi AA. 2014. Efek Antimikroba dari Kapang Endofit Ranting Tanaman Biduri. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 7(2): 111-120.
9. Zuhro F, Puspitasari E, Muslichah S, Hidayat MA. 2016. Aktivitas Inhibitor α -Gulkosidase Ekstrak Etanol Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 4(1) : 1-7.
10. Merlin JN, Christhudas IVSN, Kumar PP, Agastian P. 2013. Optimization of Growth and Bioactive Metbolite Production Fusarnem Solani. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 6(3): 98-103.
11. De Melo EB, Adriane DSG, Ivone C. 2006. Alpha-and β -Glucosidase Inhibitors: Chemical Structure and Biological Activity. *Tetrahedron*. 62(2006): 10277-10293.
12. Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia Jilid IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm. 746-755.
13. Sadikin M. 2001. Biokimia Eksperimen Laboratorium. Dalam : *Bagian Biokimia FKUI*. Biokimia Eksperimen Laboratorium. Penerbit Widya Medika. Jakarta. Hlm. 50-60.
14. Sinaga E. 2012. *Biokimia Dasar*. Penerbit. PT. ISFI Penerbitan. Jakarta. Hlm. 34-37.