

Studi Potensi Antioksidan, Antidiabetes dan Toksisitas dari Ekstrak Metanol Daun Mahang-mahangan (*Macaranga alorobinsonii* Whitmore)

Greesty F. Swandiny^{1*}, Swasono R. Tamat¹, Akhmad Darmawan², Gian Primahana²

¹Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta

²Pusat Penelitian Kimia LIPI-Puspiptek, Serpong

*E-mail korespondensi: greestyfinotory@univpancasila.ac.id

ABSTRAK

Tumbuhan *Macaranga* yang disebut Mahang-mahangan diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antikanker dan antioksidan. Salah satu jenis *Macaranga* yang belum banyak diteliti adalah dari spesies *Macaranga Alorobinsonii*. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji bioaktivitas Daun *Macaranga alorobinsonii*. Daun *Macaranga alorobinsonii* diekstraksi dengan menggunakan metanol, kemudian ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji penapisan fitokimia didapatkan hasil mengandung flavonoid, tanin dan saponin. Hasil penelitian pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH terhadap ekstrak kental metanol didapat nilai IC₅₀ sebesar 21,75 ppm dibandingkan kontrol positif Vitamin C dengan nilai IC₅₀ sebesar 2,18 ppm. Dari hasil uji aktivitas antioksidan tersebut menunjukkan bahwa ekstrak yang menjadi sampel uji pada penelitian ini bersifat kuat. Sedangkan uji aktivitas antidiabetes dengan metode penghambatan α -glukosidase terhadap ekstrak kental metanol didapat nilai IC₅₀ sebesar 21,75 ppm dibandingkan kontrol positif Acarbose dengan nilai IC₅₀ 10,51 ppm menunjukkan bahwa ekstrak bersifat aktif. Kemudian dari hasil uji toksisitas BSLT didapat LC₅₀ sebesar 38,78 ppm bersifat aktif.

Kata Kunci: antidiabetes, antioksidan, *Macaranga alorobinsonii*, toksisitas BSLT

Study of Antioxidant Potential, Antidiabetic and Toxicity of Mahang Leaves Methanol Extract (*Macaranga alorobinsonii* Whitmore)

ABSTRACT

Macaranga plant called Mahang-mahangan is known to have bioactivity as an anticancer and antioxidant. One type of *Macaranga* that has not been widely studied is from the *Macaranga Alorobinsonii* species. This study aims to assess the bioactivity of *Macaranga alorobinsonii* leaves. *Macaranga alorobinsonii* leaves were extracted using methanol, then the thick extract obtained by phytochemical screening test showed that it contained flavonoids, tannins and saponins. The results of testing the antioxidant activity with the DPPH method on methanol thick extracts obtained an IC₅₀ value of 21.75 ppm compared to positive control of Vitamin C with IC₅₀ value of 2.18 ppm. From the test results the antioxidant activity showed that the extract which became the test sample in this study was strong. Whereas the antidiabetic activity test with the α -glucosidase inhibition method on methanol thick extract obtained IC₅₀ value of 21.75 ppm compared to the positive control of Acarbose with IC₅₀ value of 10.51 ppm indicating that the extract was active. Then from the results of the BSLT toxicity test obtained LC₅₀ of 38.78 ppm was active.

Keywords: antidiabetic, antioxidant, *Macaranga alorobinsonii*, toxicity

PENDAHULUAN

Salah satu penyakit degeneratif yang saat ini menjadi penyakit yang banyak diderita masyarakat Indonesia adalah diabetes melitus (DM). Indonesia menempati urutan keempat dunia setelah Amerika Serikat, India dan Cina. Pengobatan diabetes mellitus akibat resistensi insulin antara lain dengan menggunakan

obat hipoglikemik, penghambat kerja enzim α -glukosidase dan diet yang membatasi konsumsi gula (Susana et al, 2010).

Salah satu tanaman yang dapat dijadikan obat antidiabetes alami adalah dari suku Euphorbiaceae. Hasil penelitian Djarwarningsih di tahun 2007 menyimpulkan bahwa berdasarkan data yang pernah terdapat 148 jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat tradisional dari

suku Euphorbiaceae (Madagula, 2014). Pada penelitian ini akan diteliti potensi ekstrak kasar dan senyawa kimia hasil isolasi dari suku Euphorbiaceae sebagai senyawa bioaktif antidiabetes dan antioksidan yaitu *Macaranga allorobinsonii* Whitmore (*M. allorobinsonii*). Penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak kasar dari daun spesies *Macaranga* memiliki potensi sebagai sumber antioksidan selain itu pada spesies *Macaranga* yang lain yaitu *Macaranga tanarius*, senyawa hasil isolasi memiliki aktivitas inhibisi yang baik terhadap enzim α -glukosidase. Penelitian yang dilakukan ini juga dilatarbelakangi karena sudah berhasil diisolasi sebanyak 203 senyawa metabolit sekunder dari golongan flavonoid sebanyak 94 senyawa, stilbenoid sebanyak 16 senyawa, tanin 47 senyawa, terpenoid 12 senyawa, kumarin 2 senyawa, steroid 3 senyawa dan senyawa lainnya 29 senyawa dari genus *Macaranga* lainnya yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker, antimikroba, dan antioksidan dan antidiabetes (Heyne, 1987).

Macaranga merupakan salah satu genus dari famili Euphorbiaceae, memiliki fungsi ekologi yang unik, serta telah menjadi bagian masyarakat dalam pengobatan tradisional. Dilihat dari segi kegunaan, tumbuhan *Macaranga* telah banyak dimanfaatkan untuk berbagai keperluan seperti bahan bangunan (tiang, atap, dll) serta beberapa pengobatan tradisional. Beberapa penggunaan tumbuh ini untuk obat tradisional, menurut Heyne antara lain digunakan sebagai obat diare, luka, dan batuk.

Pada awalnya kajian fitokimia yang dilakukan terhadap tanaman *Macaranga* berhasil mengisolasi senyawa golongan terpenoid yaitu senyawa macarangenol (Tseng, 2001), namun demikian, dimulai dari senyawa chromenoflavones yang berhasil diisolasi dari *M. Indica* (Kawakari, 2001) belakangan ini tampak bahwa senyawa-senyawa turunan fenol juga merupakan kandungan metabolit sekunder utama tumbuhan *Macaranga*. Senyawa turunan fenol tersebut meliputi golongan flavonoid, antara lain dari jenis flavanon, dihidroflavonol dan flavonol, serta golongan stilbenoid. Sampai saat ini telah ditemukan sekitar 60 senyawa fenolik hasil kajian fitokimia dari tumbuhan *Macaranga* yang terdapat di Indonesia, dimana turunan flavanon tampaknya merupakan jenis flavonoid yang sering ditemukan. Namun demikian, terdapat keistimewaan dan keunikan dari senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid pada kelompok tumbuhan ini dibandingkan dengan senyawa-senyawa flavonoid dan stilbenoid pada kelompok tumbuhan lain, yaitu adanya substituen dari berbagai jenis terpenoid, yang meliputi turunan isoprenil (C_5), geranil (C_{10}), dan geranilgeranil (C_{20}). Selain keunikan pada golongan flavonoid, turunan stilbenoid yang berhasil ditemukan pada tumbuhan *Macaranga* juga memiliki substituen terpen yang termasuk langka, yaitu suatu monoterpen siklik. Data kimiawi tersebut menunjukkan bahwa keragaman struktur turunan fenol pada *Macaranga* dapat dikelompokkan dalam berbagai

jenis turunan flavonoid dan stilbenoid dengan berbagai substituen hidroksil, isoprenil, monoterpen, dan diterpen.

Selain menarik secara fitokimia, senyawa-senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan *Macaranga* juga dilaporkan memiliki potensi sebagai senyawa bioaktif. Sejak kurun waktu dekade terakhir ini berbagai target biologis telah diujikan terhadap senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi dari kelompok tumbuhan ini, yaitu meliputi uji antioksidan, pengatur pertumbuhan tanaman, sitotoksik terhadap sel kanker, dan sebagai inhibitor enzim COX-2 yang juga dikaitkan dengan kanker. Sebagai contoh, sejumlah senyawa turunan fenol yang diisolasi dari *Macaranga confiera*, terutama dari jenis flavonol, memperlihatkan sifat inhibisi yang tinggi terhadap enzim COX-2. Sifat antioksidan yang tinggi juga diperlihatkan oleh senyawa turunan flavonoid dari tumbuhan *Macaranga denticulata* (Nirmala, 2009) Flavonoid dapat bersifat antidiabetes karena flavonoid mampu berperan sebagai senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah kerusakan sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Berdasarkan kajian di atas maka peneliti melakukan penelitian terhadap *M.allorobinsonii* dengan pengujian aktivitas antioksidan, antidiabetes dan uji toksisitas dengan BSLT.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan tumbuhan yang diteliti pada penelitian ini adalah daun *Macaranga allorobinsonii* Whitmore, metanol 96%, HCl 2 N, pereaksi Bourchadot, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendroff, etanol, serbuk Mg, dietil eter, aqua dest, Vitamin C, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), metanol p.a, DMSO, kalium fosfat monobasa, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (PNP), enzim α -glukosidase, dapar fosfat pH 7,0, substrat *p*-NPG, Acarbose, dan air laut sintesis.

Metode

Pengumpulan bahan tumbuhan. Bahan tumbuhan yang akan diteliti pada penelitian ini adalah sampel daun dari spesies *Macaranga alorobinsonii* Indonesia.

Pengeringan dan penghalusan bahan tumbuhan. Sampel daun yang telah dipilih selanjutnya dibersihkan dari kotoran, dan dikeringkan di udara terbuka di bawah sinar matahari, kemudian digerus menjadi bagian kecil-kecil hingga halus. Serbuk yang homogen dengan derajat kehalusan 4/18 yang dipersyaratkan oleh Materia Medika Indonesia.

Pembuatan ekstrak metanol 96%. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 1L metanol 96% sebagai pelarut. Ekstraksi dilakukan tiga kali 24 jam. Setiap 1 x 24 jam maserat dipisahkan dan diganti dengan metanol 96% yang baru. Maserat dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C sampai tidak ada lagi pelarut yang dibebaskan, kemudian ekstrak basah dikeringkan di dalam oven pada suhu 40-50°C sampai

bobot tetap, sehingga didapatkan ekstrak kering metanol.

Penapisan fitokimia terhadap serbuk simplisia dan ekstrak dari *Macaranga allorobinsonii* Whitmore. (Farnsworth, 1966).

Uji alkaloid. Sebanyak 500 mg sampel uji ditambah mL HCl 2N dan 9 mL aquadest kemudian campuran dipanaskan di dalam penangas air dan didinginkan kemudian massa yang tidak larut dipisahkan dari filtratnya. Sejumlah 1 mL filtrat ditambah 2 tetes pereaksi *Bourchadat*. Jika terbentuk endapan coklat sampai hitam menandakan bahwa sampel mengandung alkaloid. Dalam wadah yang berbeda 1 mL filtrat ditambah 2 tetes pereaksi *Meyer*, jika terbentuk endapan menggumpal berwarna kuning atau putih yang larut dalam MeOH menandakan adanya senyawa alkaloid. Kemudian dalam wadah uji yang berbeda diambil 1 mL filtrat dan ditambahkan 2 tetes pereaksi *Dragendorf*, terbentuk endapan berwarna jingga coklat menandakan adanya alkaloid.

Uji flavonoid. Sejumlah 500 mg sampel uji dilarutkan dengan 4 mL etanol. Sejumlah 2 mL sampel uji tersebut ditambahkan 0,1 g serbuk Mg dan 0,4 mL campuran HCl 37% dan etanol 95% (1:1). Terbentuknya warna merah jingga sampai merah ungu menandakan adanya flavonoida, sedangkan jika terbentuk warna kuning jingga menunjukkan adanya kalkon, flavon, auron dalam sampel uji.

Uji steroid dan terpenoid. Sejumlah 10 mg sampel ekstrak ditambah dengan 5 mL dietileter kemudian diuapkan dalam cawan penguap. Residu yang dihasilkan ditambahkan dengan 2 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah-hijau dan atau violet biru menunjukkan adanya sterol atau terpenoida dalam sampel uji.

Uji tanin. Sejumlah 500 mg sampel uji ditambah dengan 15 mL aquadest panas. Campuran kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 5 menit. Setelah 5 menit campuran kemudian disaring, filtrat ditambahkan dengan 5 tetes FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna hijau violet menunjukkan adanya tanin dalam sampel uji.

Uji saponin. Sejumlah 10 mg ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 150 mL aquadest panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik. Terbentuknya busa pada lapisan atas yang stabil menunjukkan adanya saponin dalam sampel uji.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode peredaman radikal bebas menggunakan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) (Handayani, 2008)

- i. Pembuatan larutan 1 mM DPPH
Larutan 1 mM DPPH dibuat dari 39,5 mg DPPH (BM 394,32) yang dilarutkan dalam

100 mL metanol dan ditempatkan dalam botol gelap

- ii. Pembuatan larutan blanko
Larutan blanko dibuat dari 1 ml larutan DPPH (1mM) ditambahkan metanol p.a. sampai volume 5,0 mL
- iii. Persiapan larutan uji
Lebih kurang ditimbang 10 mg sampel menggunakan timbangan analitik, dilarutkan dengan metanol pro analisis (p.a) sampai 10 mL (1000 bpj). Larutan ini merupakan larutan induk. Kemudian dipipet 50 µL, 100 µL, 150 µL, 200 µL dan 250 µL larutan induk tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5 mL mendapatkan konsentrasi sampel 10 bpj, 20 bpj, 30 bpj, 40 bpj dan 50 bpj.
- iv. Persiapan larutan pembanding (Vitamin C)
Lebih kurang ditimbang 10 mg Vitamin C, lalu dilarutkan dengan metanol p.a sampai 10 mL (1000bpj). Larutan ini merupakan larutan induk. Kemudian dipipet 15 µL, 30 µL, 45 µL, 60 µL dan 75 µL larutan induk tersebut ke dalam tabung reaksi yang telah ditara 5 mL untuk mendapatkan konsentrasi sampel 3 bpj, 6 bpj, 9 bpj, 12 bpj, dan 15 bpj.
- v. Uji aktivitas antioksidan
Larutan uji dan kontrol positif dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,5 mM kemudian ditambah metanol pro analisis hingga 5 mL, lalu dihomogenkan. Larutan blanko, larutan uji, larutan kontrol positif segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, kemudian serapan dibaca pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas antioksidan diukur sebagai penurunan serapan larutan DPPH

Uji aktivitas antidiabetes dengan metode penghambatan enzim α -glukosidase (Saijyo, 2008)

- a) Optimasi Penentuan Aktivitas Enzim α -Glukosidase
 - i. Pembuatan larutan dapar fosfat 0,01 M pH 7,0
Sebanyak 13,61 g kalium fosfat monobasa ditimbang dan dilarutkan dalam 500 mL air suling (Larutan A). Kemudian sebanyak 17,43 g kalium fosfat dibasa ditimbang dan dilarutkan dalam 500 mL air suling (Larutan B). Dari larutan A diambil 39 mL dan dari larutan B diambil 61 mL kemudian diencerkan hingga 200 mL dengan air suling, lalu cek pH (7,0). Sebanyak 5 mL larutan di atas ditambah 45 mL air suling, sampai pH 7,0.

- ii. Pembuatan larutan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida 0,5 mM
Sebanyak 3,1 mg *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (PNP) ditimbang secara seksama dan dilarutkan dalam 20 mL dapar fosfat pH 7,0.
 - iii. Pembuatan larutan enzim α -glukosidase
Sebanyak 1,0 mg α -glukosidase ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL dapar fosfat 0,01 M, kemudian larutan dipipet 12 μ L dan diencerkan hingga 30 mL menggunakan dapar fosfat 0,01 M.
 - iv. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum
Sebanyak 10 μ L DMSO dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 490 μ L dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μ L substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosid (PNP) 20 mM. Campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Ke dalam campuran yang telah diinkubasi tersebut ditambahkan 250 μ L enzim α -glukosidase dengan konsentrasi 0,3 unit/mL. Sementara itu, pada blanko ditambahkan buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 250 μ L. Campuran tersebut kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi selesai, ditambahkan 1000 μ L Na₂CO₃ 200 mM. Setelah itu serapan campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 350-750 nm, dan ditetapkan panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.
 - v. Penentuan konsentrasi optimum enzim α -glukosidase
Kedalam tabung reaksi ditambahkan 10 μ L DMSO dan 490 μ L dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μ L substrat *p*-NPG 10 mM. campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian ke dalam campuran ditambahkan 250 μ L enzim α -glukosidase dengan variasi konsentrasi masing-masing 0,3 unit/mL; 0,15 unit/mL; 0,075 unit/mL; dan 0,0375 unit/mL. Sedangkan untuk blanko terdiri dari 250 μ L dapar fosfat pH 7,0. Campuran kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah itu, ke dalam campuran ditambahkan 1000 μ L Na₂CO₃ 200 mM. Serapan campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya.
 - vi. Penentuan konsentrasi optimum substrat *p*-PNP
Ke dalam tabung reaksi ditambahkan 10 μ L DMSO dan 490 μ L dapar fosfat pH 7,0 dan 250 μ L substrat *p*-NPG dengan konsentrasi masing-masing 25 mM, 20 mM, 10 mM, 5 mM, dan 2,5 mM. Campuran tersebut diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, kemudian ke dalam campuran ditambahkan 250 μ L enzim α -glukosidase konsentrasi optimum. Sedangkan larutan blanko dibuat dengan menambahkan dapar fosfat pH 7,0. Campuran kemudian diinkubasi kembali selama 15 menit pada suhu 37°C. Setelah proses inkubasi selesai, ke dalam campuran ditambahkan 1000 μ L Na₂CO₃ 200 mM. Serapan campuran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang serapan maksimum.
- b) Uji Antidiabetes dengan Menggunakan α -Glukosidase
 - i. Pembuatan larutan stock monobasic posfat (pH 7,0)
Sebanyak 15,4 g KH₂PO₄·H₂O ditimbang secara seksama dan dilarutkan dalam 1 L air suling.
 - ii. Pembuatan larutan stock dibasic posfat (pH 7,0)
Sebanyak 21,0 g K₂HPO₄·2H₂O ditimbang secara seksama dan dilarutkan dalam 1 L air suling.
 - iii. Pembuatan larutan 0,1 M buffer posfat (pH 7,0)
Sebanyak 117 mL monobasic posfat stock ditambahkan 183 mL dibasic posfat stock ditambahkan 300 mL air suling kemudian dicampur.
 - iv. Pembuatan larutan 0,01 M buffer posfat (pH 7,0)
Sebanyak 5 mL 0,1M buffer posfat (pH 7,0) ditambahkan 45 mL air suling kemudian dicampur.
 - v. Pembuatan larutan 0,5 mM *p*-nitrofenil- β -D-glukopiranosida
Sebanyak 15,1 mg *p*-nitrofenil- β -D-glukopiranosida ditimbang secara seksama dan dilarutkan dalam 100 mL 0,1M buffer posfat (pH 7,0).
 - vi. Pembuatan larutan enzim α -glukosidase
Sebanyak 1,0 mg α -glukosidase ditimbang dan dilarutkan dalam 1 mL 0,01M buffer posfat (pH 7,0), kemudian dipipet 120 μ L dan ditambahkan 29,988 mL 0,01M buffer posfat (pH 7,0).
 - vii. Pembuatan larutan 0,2M Na₂CO₃

- Lebih kurang ditimbang 4,2396 g Na_2CO_3 , lalu dilarutkan dengan air suling sampai 200 mL.
- viii. Pembuatan larutan sampel (500 ppm)
Sebanyak 1 mg sampel ditimbang, lalu dilarutkan dengan DMSO 2 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi larutan uji 3,75 μL , 7,5 μL , 11,25 μL , 15 μL dan 18,75 μL . Sehingga masing-masing memiliki nilai konsentrasi 3,75 ppm, 7,5 ppm, 11,25 ppm, 15 ppm dan 18,75 ppm.
 - ix. Pembuatan larutan acarbose
Sebanyak 1 mg acarbose ditimbang, lalu dilarutkan dengan DMSO 2 mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi larutan uji 3,75 μL , 7,5 μL , 11,25 μL , 15 μL dan 18,75 μL . Sehingga masing-masing memiliki nilai konsentrasi 3,75 ppm, 7,5 ppm, 11,25 ppm, 15 ppm dan 18,75 ppm.
 - x. Pembuatan larutan uji
Pipet 475 μL 0,1M buffer posfat (pH 7,0) kemudian tambahkan 250 μL 0,5mM p-nitrofenil- β -D-glukopiranoze, dan 25 μL larutan sampel ke dalam tabung reaksi.
 - xi. Pembuatan larutan blangko
Pipet 475 μL 0,1M buffer posfat (pH 7,0) kemudian tambahkan 250 μL 0,5mM p-nitrofenil- β -D-glukopiranoze, 250 μL 0,01M buffer posfat (pH 7,0), dan 25 μL DMSO ke dalam tabung reaksi.
 - xii. Pembuatan larutan acarbose (kontrol positif)
Pipet 475 μL 0,1M buffer posfat (pH 7,0) kemudian tambahkan 250 μL 0,5mM p-nitrofenil- β -D-glukopiranoze, 250 μL enzim α -glukosidase dan 25 μL acarbose ke dalam tabung reaksi.
 - xiii. Uji aktivitas antidiabetes
Larutan blangko, larutan uji, dan larutan kontrol positif segera diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C, keluarkan pada menit ke 15 kemudian tambahkan 250 μL enzim α -glukosidase pada larutan uji dan larutan kontrol positif. Masukkan kembali kedalam inkubator, 15 menit kemudian dikeluarkan dan hentikan reaksi dengan penambahan 1 mL 0,2M Na_2CO_3 . Jumlah p-nitrofenol yang dilepaskan diukur pada panjang gelombang 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.
- laut sedangkan sekat kedua berisi air laut yang ditambahkan beberapa mg telur larva, bagian telur larva ditutup dengan aluminium foil dan diberi penyinaran dengan lampu.
- ii. Persiapan larutan uji
Sebanyak 4 mg ekstrak metanol, fase n-heksana, etil asetat, n-butanol, air dan fraksi-fraksi hasil kromatografi ditambahkan 5 μL DMSO dan dibuat dalam konsentrasi 10, 100 dan 1000 ppm dalam air laut.
 - iii. Uji toksisitas ekstrak dan fraksi terhadap *A. salina* Leach
Diambil sebanyak 100 μL air laut yang mengandung larva udang berumur 24 jam sebanyak 10-11 ekor diletakkan di dalam wadah uji. Kedalam wadah uji yang telah terisi larva udang ditambahkan ekstrak atau fraksi sebanyak 100 μL dengan konsentersasi 10, 100, 500 dan 1000 ppm. Setiap konsentrasi dilakukan sebanyak 3 kali (dalam 3 lubang) kemudian diamati dalam waktu 24 jam. Setelah diperoleh jumlah larva mati dan hidup, data yang diperoleh dianalisis menggunakan PROBIT mortalitas untuk ditentukan nilai LC_{50} .
 - iv. Analisis Data Uji Toksisitas Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)
Perhitungan angka mati merupakan penjumlahan jumlah larva yang mati pada 3 lubang pada setiap konsentersasi sedangkan angka hidup merupakan penjumlahan larva yang hidup pada 3 lubang pada setiap konsentrasi. Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Nilai LC_{50} merupakan konsentrasi dimana zat menyebabkan kematian 50% yang diperoleh dengan memakai persamaan regresi linier $y = a + bx$. Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai $\text{LC}_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dari simplisia daun *Macaranga allorobinsonii* diperoleh dengan cara maserasi dengan menggunakan pelarut metanol 96% sebanyak 10 L selama 24 jam dan dilakukan pengulangan sebanyak 2x. Pemilihan metanol dalam poses maserasi dikarenakan ukuran molekul metanol yang kecil dapat masuk kedalam dinding sel. Dengan masuknya metanol kedalam dinding sel maka akan terjadi proses lisis pada sehingga senyawa-senyawa yang terdapat dalam dinding sel akan tertarik keluar. Ekstrak hasil penyarian kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-50 °C. Dari penelitian yang dilakukan penyarian yang dilakukan menghasilkan ekstrak pekat sebanyak 3 L yang setelah dikeringkan didapatkan ekstrak kental sebanyak 253,3 gram dengan rendemen sebesar 16,89%.

Uji toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) (Singh, 2015)

- i. Penetasan telur larva *Artemia salina* Leach
Penetasan telur larva dilakukan dalam suatu wadah yang diberi sekat, sekat pertama diisi air

Data DER-native dan rendemen ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstrak kental methanol 96% daun *Macaranga alorobinsonii* Whitmore

Sampel	Bobot ekstrak (g)	DER-Native	Rendemen (%)
Ekstrak kental metaanol 96%	253,3	5,93	16,89%

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa (*class of compound*) yang terkandung didalam simplisia dan ekstrak metanol 96% dari *Macaranga alorobinsonii*. Hasil uji penapisan fitokimia ditampilkan pada Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia pada simplisia dan ekstrak kental metanol 96% daun *M. alorobinsonii* menunjukkan bahwa pada ekstrak mengandung senyawa flavonoid, tanin dan saponin.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia Simplisia dan Ekstrak kental metanol 96% *Macaranga alorobinsonii*

No	Kandungan senyawa	Simplisia	Ekstrak kental
1	Alkaloida	-	-
2	Flavonoida	+++	+++
3	Terpenoida	-	-
4	Tanin	++	++
5	Saponin	+++	+++

Keterangan : - = negatif, + = positif lemah, ++ = positif, +++ = positif kuat

Uji Aktivitas Antioksidan terhadap Ekstrak dengan Metode DPPH

Sifat antioksidan dari suatu senyawa dapat ditentukan dengan menggunakan uji peredaman radikal bebas (DPPH) dengan vitamin C sebagai kontrol positif. Uji antioksidan dilakukan karena sifat antioksidan dari suatu senyawa memiliki kaitan dengan berbagai penyakit yang disebabkan oleh stress oksidatif. Hasil uji aktivitas antioksidan terhadap ekstrak kental metanol 96% *Macaranga alorobinsonii* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (ppm); n=3	Persamaan regresi	Nilai IC ₅₀ (ppm)	Kategori
Vitamin C	3,6,9,12,15	$y = 4,1141x + 41,013$	2,18	Kuat
Ekstrak kental	10,20,30,40	$y = 0,3105x + 43,245$	21,75	Kuat

Keterangan : n adalah jumlah pengulangan eksperimen

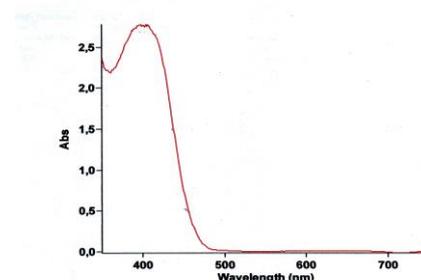
Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50, kuat (50-100 ppm), sedang (101-150 ppm), dan lemah (151-200 ppm). Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas antioksidan. (Badarinath, 2010).

Uji Aktivitas Antidiabetes terhadap Ekstrak dengan Metode Penghambatan Enzim α -Glukosidase

a) Optimasi penentuan enzim α -Glukosidase

i. Penentuan panjang gelombang optimum

Penentuan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk menentukan pada panjang gelombang berapakah aktivitas enzim α -glukosidase dapat terukur secara optimum. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada kisaran panjang gelombang 350 nm – 750 nm. Dari percobaan yang dilakukan pada Gambar V.1 terlihat bahwa panjang gelombang 404 nm memberikan serapan optimum sebesar 2,776. Pada panjang gelombang 404 nm akan digunakan untuk pengukuran aktivitas hambatan α -glukosidase.



Gambar 1. Kurva optimasi panjang gelombang optimum

ii. Penentuan konsentrasi optimum enzim

Penentuan konsentrasi optimum enzim dilakukan untuk mengetahui besarnya nilai kenaikan absorbansi yang masih dapat terukur. Hal ini dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi enzim pada 0,3 unit/mL; 0,15 unit/mL; 0,075 unit/mL dan 0,0375 unit/mL dengan konsentrasi substrat yang dibuat tetap. Hasil penentuan konsentrasi optimum enzim menunjukkan bahwa pada konsentrasi enzim sebesar 0,3 unit/mL memberikan serapan optimum sebesar 1,893. Konsentrasi enzim 0,3 unit/mL adalah konsentrasi optimum yang

selanjutnya akan digunakan untuk uji aktivitas hambatan α -glukosidase.

Tabel 4. Persen konsentrasi optimum enzim

Konsentrasi (unit/mL)	Absorbansi
0,0375	0,0383
0,075	0,0806
0,15	0,9834
0,3	1,8935

iii. Penentuan konsentrasi optimum substrat

Penentuan konsentserasi optimum substrat dilakukan dengan memvariasi konsentserasi substrat dengan konsentrasi enzim yang dibuat tetap. Konsentrasi enzim α -glukosidase yang digunakan adalah 0,3 unit/mL sesuai dengan kosnentrasi optimum pada percobaan seelumnya. Hasil pengukuran yang terlihat pada Tabel 5. menunjukkan bahwa enzim mencapai aktivitas maksimum pada konsentserasi substrat 10 mM dengan serapan sebesar 1,9648. Konsentrasi 10 mM merupakan konsentrasi optimum substrat

yang selanjutnya akan digunakan untuk uji aktivitas hambatan α -glukosidase.

Tabel 5. Penentuan konsentrasi optimum substrat

Konsentrasi	Absorbansi
2,5 Mm	0,7642
5 Mm	1,1439
10 Mm	1,9648
20 Mm	1,3758
25 Mm	1,7455

b) Uji Aktivitas Antidiabetes dengan Metode Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Uji aktivitas antidiabetes dapat dilakukan dengan menggunakan metode penghambatan terhadap enzim α -glukosidase. Untuk mengetahui potensi antidiabetes dari daun *M. allorobinsonii* maka dilakukan uji hambatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase terhadap ekstrak kental metanol 96%. Hasil pengukuran dapat terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase

Sampel	Konsentrasi (ppm); n=3	Persamaan regresi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Acarbose	3,75;7,5; 11,25;15;18,75	$y = 2,772x + 20,85$	10,51
Ekstrak kental	3,175; 6,25; 12,5; 25	$y = 3,7607x - 7,1787$	15,20

Keterangan : n adalah jumlah pengulangan eksperimen

Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Untuk mengetahui toksisitas ekstrak dilakukan uji toksisitas BSLT. Toksisitas ditentukan dengan

melihat nilai LC₅₀ yang dihitung berdasarkan analisis probit.

Tabel 7. Hasil uji toksisitas BSLT

Bahan uji	Kons. (ppm) [K]	Log K	Data awal	Mati	Hidup	Mortalitas (%)	Probit Mortalitas	LC ₅₀
Ekstrak kental metanol 96%	1000	3	30	30	0	100,00	8,09	38,78
<i>Macaranga</i>	100	2	30	19	11	69,44	5,50	
<i>alorobinsonii</i>	10	1	30	6	24	14,63	3,96	

Dari hasil perhitungan nilai LC₅₀ maka tingkat toksisitas dari ekstrak kental metanol 96% daun *M. allorobinsonii* dapat terlihat nilai LC₅₀ sebesar 38,78 ppm. Dari hasil pengujian toksisitas BSLT ini menunjukkan bahwa ekstrak metanol bersifat aktif karena suatu ekstrak dikatakan aktif jika nilai LC₅₀ lebih kecil dari 1000 μ g/mL. (Mayer et al, 1982)

KESIMPULAN

Diabetes Mellitus adalah salah satu penyakit yang dapat disebabkan oleh stress oksidatif di dalam tubuh. Pengobatan alternative dengan bahan alam menggunakan daun *Macaranga allorobinsonii* menjadi alternative pilihan. Dengan data penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak uji memiliki

potensi antioksidan dan antidiabetes yang aktif, serta memiliki potensi toksisitas yang aktif. Kombinasi tersebut dapat dijadikan kandidat obat berbahan dasar alam.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terimakasih kepada tim Pusat Penelitian Kimia, LIPI-Puspiptek Serpong dan Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.

DAFTAR PUSTAKA

- A.V. Badarinath, K. Mallikarjuna RAo, C.Madhu Sudhana Chetty, S. Ramkanth, T.V.S Rajan, K.Gnanaprakash. (2010). A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisions, Correlations and Considerations. International Journal of PharmTrch Research CODEN (USA) : IJPRIF ISSN : 0974-4304. Vol. 2, No. 2, pp 1276-1285.
- B.N. Meyer, N.R. Feerigni, J.E. Putnam, L.B. Jacobson, D. E. Nicholas, J. L. McLaughlin, (1982). *Planta Medica* 45 31-34.
- Djarwarningsih, T. (2007). Jenis-jenis Euphorbiaceae (Jarak-jarakan) yang Berpotensi sebagai Obat Tradisional. *Puslit Biologi-LIPI Cibinong*.
- Farnsworth NR Phytochemical screening. (1966). Department of Pharmacognosy and Pharmacology Collage of Pharmacy. P. 26-62.
- Handayani Sri, Arty Indyah. (2008) Synthesis of Hydroxyl Radical Scavenger from Benzalacetone and its Derivatives. *Journal of Physical Science*; Vol. 19 (2), 61-68.
- Heyne K. (1987) *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid I, Yayasan Sarana Wanajaya, Jakarta.
- Kawakari, Tsiomi. (2001) Macaflavanones A-G, Prenylated Flavanones from the Leaves of *Macaranga tanarius*. *J. Nat. Prod.*;71 : 1872-1876.
- Madagula. J.J. (2014). Phytochemistry and Pharmacology of the Genus *Macaranga* : A Review.*J. of Med Plant Res.*; 8 (21) : 489-503.
- Saijyo Junichi, Suzuki Yousuke, Okuno Yoshiharu, Yamaki Hidehiko, Suzuki Takuya, Miyazawa Mitsuo. (2008). Alpha Glukosidase Inhibitory Action from *Bergenia ligulata*. *Journal of Oleo Science.*; 57, (8). 431-453.
- Singh Girija, Al-Kahraman Yasser, Mpadi Disah, Yasinzai Masoem. (2015) Synthesis, Antimicrobial and Brine Shrimp Lethality Assays of 3,3-diaryl-4-(1-methyl-1H-indol-3-yl)azetid-2-ones. *Journal of Heterocyclic Chemistry.*;vol 2, issue 2: 614-619.
- Susana B. Genta, Wilfredo M. Cabrera, María I. Mercadob, Alfredo Grauc, César A. Catalánb, Sara S. Sáncheza, (2010) Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smalanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions, *Chemico-Biological Interactions* 185 143–152
- Tseng, Mei Huim. (2001). Allelopathic Prenyl flavonones from the Fallen Leaven of *Macaranga*. *J. Nat. Prod.*; 64: 827-828.