

Senyawa Antidiabetes Fraksi Aktif Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.)

Hamsidar Hasan^{1*}, Endah Nurrohwiata Djuwarno², Hasrita Samudi³, Widy Susanti
Abdulkadir⁴, Faramita Hiola⁵

^{1,2,3,4,5} Jurusan Farmasi Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@ung.ac.id

ABSTRAK

Antidiabetes merupakan senyawa yang berperan untuk mengobati penyakit diabetes melitus. Diabetes melitus merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah. Penggunaan obat tradisional relatif lebih murah dan aman jika dibandingkan dengan obat sintesis. Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah Tanaman Ketapang (*Terminalia catappa* L.). Dalam tanaman tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol mempunyai efektivitas antidiabetes terhadap kadar glukosa darah dan golongan senyawa yang berperan sebagai antidiabetes. Metode penelitian yang digunakan yaitu maserasi bertingkat, skrining fitokimia, analisis kromatografi lapis tipis, dilakukan uji antidiabetes, ekstrak yang memiliki efektivitas antidiabetes paling efektif kemudian diteruskan ke tahap fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom gravitasi, analisis kromatografi lapis tipis preparatif, selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometri Uv-Vis dan FTIR. Hasil penelitian menunjukkan spektrum UV-Vis panjang gelombang maksimum fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) adalah 410.50 nm dan spektrum FTIR memiliki gugus fungsi O-H (hidroksil), C=O (karbonil), C-H alifatik, C-O (eter) dan CH₃. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa senyawa antidiabetes yang berperan dalam fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) adalah golongan senyawa flavonoid.

Kata Kunci:

Antidiabetes, Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.); Spektrofotometri UV-Vis; FTIR

Diterima:
21-06-2022

Disetujui:
27-07-2022

Online:
01-08-2022

ABSTRACT

Antidiabetic is a compound that has a vital role in treating diabetes mellitus. Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder that is characterized by an increase in blood sugar levels. The use of traditional medicine is relatively cheaper and safer compared to synthetic drugs. One of the plants that is often used in traditional herbal medicine is ketapang (*Terminalia catappa* L.) because it contains a secondary metabolite compound that acts as an antidiabetic. Thus, this present study aimed to determine the n-hexane, ethyl acetate, and methanol extracts that had antidiabetic efficacy on blood sugar levels and compound group that acts as antidiabetic. The research employed methods of multiple maceration, phytochemical screening, thin layer chromatography, and antidiabetic test, while the most effective antidiabetic efficacy was then continued to the fractionation stage using vacuum liquid chromatography and gravity column chromatography. Furthermore, the preparative thin layer chromatography (PTLC) analysis, UV-Vis spectrometry and FTIR were carried out. The research findings revealed that the maximum wavelength of active fraction in ketapang (*Terminalia catappa* L.) leaves was 410.50 nm, and

FTIR spectrum had functional groups of O-H (hydroxyl) C=O (carbonyl Co (aliphatic), C-O (ether) and CH₃. Based on the finding, it could be concluded, that antidiabetic compound that plays a role in active fraction of ketapang (*Terminalia Catappa* L.) leaves was a flavonoid compound.

Copyright © 2022 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Antidiabetic; Ketapang; *Terminalia catappa* L. Leaves ; Spectrometry UV-Vis; FTIR

Received:

2022 -06-21

Accepted:

2022 -07-27

Online:

2022 -08-01

1. Pendahuluan

Tumbuhan adalah bahan alam yang memiliki banyak kandungan senyawa metabolit sekunder, hal ini yang mendasari banyak peneliti untuk mengeksplorasi senyawa-senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa metabolit sekunder inilah yang dimanfaatkan sebagai obat baik itu sebagai senyawa racun untuk pertahanan, zat atraktan (zat penarik) terhadap sesama jenisnya, sebagai zat pewarna atau bisa juga untuk mengobati suatu penyakit tertentu. Dari senyawa metabolit sekunder tersebut lebih dari 400 jenis tanaman yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai obat tradisional [1] dalam Jurnal Tri Reksa dkk, 2019).

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah pohon ketapang (*Terminalia catappa* L.). Pohon ketapang (*Terminalia catappa* L.) merupakan salah satu tanaman anggota famili *Combretaceae* yang banyak ditemukan di daerah Pasifik terutama di Indonesia [2]. Masyarakat umumnya memanfaatkan tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) ini sebagai obat antidiabetes. Penggunaan tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai obat antidiabetes sudah terjadi secara turun temurun terutama bagian daun, kulit batang, biji dan buah dari tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) ini. Karena dalam tanaman tersebut mengandung senyawa metabolit sekunder sebagai antidiabetes seperti flavonoid, alkaloid, tanin steroid dan terpenoid [3].

Hal ini didukung penelitian yang dilakukan oleh [4] membuktikan bahwa daun ketapang dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes dengan meningkatkan regenerasi sel β pankreas dan dapat menurunkan berat badan tikus diabetes.

Aktivitas antidiabetes dari ketapang kurang lebih berhubungan dengan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder didalamnya. Hal ini yang menjadi ketertarikan bagi peneliti untuk mengetahui senyawa tersebut. Berdasarkan uraian di atas tentang tanaman ketapang (*Terminalia catappa* L.) sebagai antidiabetes, dan belum adanya penelitian sebelumnya mengenai senyawa antidiabetes dari daun ketapang (*Terminalia catappa* L.), maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang senyawa antidiabetes fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa* L.).

2. Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium untuk mengetahui ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol daun ketapang (*Terminalia catappa* L.) mempunyai efektivitas antidiabetes terhadap kadar glukosa darah dan melihat golongan senyawa yang memiliki efektivitas antidiabetes fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa* L.).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu Bejana maserasi (Pyrex), disposable syringe 1, 3, dan 5 ml, evaporator, glukometer, spektrofotometry Uv-Vis, spektrofotometry IR. Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu Aloksan, aluminium foil, asam sulfat, etanol 70%, etil asetat, FeCl₃, glibenklamid, handskun, HCl pekat, kloroform, kuersetin, mencit jantan (mus musculus), metanol, Na-CMC, NaCl, n-heksan, plat KLT, reagen mayer, sampel daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*), silika gel, silika F 254, silika G 60, tisu.

Ekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Simplisia Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*), yang telah dihaluskan ditimbang 400 gram kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Sampel terlebih dahulu dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan n-heksan sebanyak 3000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu, kemudian sampel simplisia daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) diangin-anginkan dan dilanjutkan dengan pelarut yang kedua yaitu etil asetat. Sampel terlebih dahulu dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan etil asetat sebanyak 2000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu, kemudian sampel simplisia daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) diangin-anginkan dan dilanjutkan dengan pelarut yang ketiga yaitu metanol. Sampel terlebih dahulu dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian ditambahkan metanol sebanyak 2000 mL hingga semua sampel terendam sempurna kemudian diekstraksi. Selanjutnya sampel didiamkan selama 3 x 24 jam. Setelah 3 x 24 jam perendaman ekstrak disaring untuk memisahkan filtrat dan residu. Setelah itu masing-masing ekstrak n-heksan, etil asetat dan metanol dievaporasi menggunakan alat Rotary Evaporator sampai terbentuk ekstrak kental, kemudian ekstrak dihitung persen rendamennya menggunakan rumus sebagai berikut [6].

$$\text{Rendamen (\%)} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Simplisia Awal}} \times 100 \% \dots \dots \dots (1)$$

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun ketapang ditambahkan HCl sebanyak 5 tetes dan ditambahkan pereaksi dragendroff. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan berubah menjadi warna orange [16].

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun ketapang ditambahkan HCl sebanyak 5 tetes dan ditambahkan serbuk magnesium. Adanya senyawa flavonoid ditunjukkan dengan berubah menjadi warna hijau, merah, kuning dan ungu [16].

Uji Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun ketapang ditambahkan aquades kemudian dipanaskan dan dikocok. Adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan adanya busa [16].

Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak daun ketapang ditambahkan etil asetat sebanyak 2 mL dan ditambahkan pereaksi liberman. Adanya senyawa steroid ditunjukkan warna hijau dan senyawa terpenoid ditunjukkan warna merah [16].

Uji Tanin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak ditambahkan aquades kemudian dipanaskan dan ditambahkan FeCl₃. Adanya senyawa tanin ditunjukkan dengan warna hijau, biru [16].

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kental masing-masing daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel dan fase gerak eluen n-heksan dan etil asetat pada berbagai perbandingan. Masing-masing KLT divisualisasi di bawah lampu UV 366 nm. Setelah didapatkan noda yang diinginkan dilanjutkan dengan menghitung nilai R_f-nya menggunakan rumus [18].

$$R_f = \frac{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Komponen}}{\text{Jarak Yang Ditempuh Oleh Pelarut}} \dots\dots\dots(2)$$

Uji Efektivitas Antidiabetes

Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%

Ditimbang sebanyak 0,5 gram Na-CMC, kemudian dimasukkan perlahan-lahan pada gelas kimia yang berisi 100 mL aquades panas sambil terus diaduk menggunakan batang pengaduk hingga larutan tersebut berbentuk koloidal.

Pembuatan Suspensi Aloksan

Ditimbang aloksan dengan BB mencit 20 g sebanyak 0,08, BB mencit 21 g sebanyak 0,09 g, BB mencit 22 g sebanyak 0,09 g, BB mencit 23 g sebanyak 0,1, BB mencit 24 g sebanyak 0,1 g, BB mencit 25 g sebanyak 0,1 g, BB mencit 26 g sebanyak 0,11 g, BB mencit 27 g sebanyak 0,11 g, BB mencit 28 g sebanyak 0,12 g, BB mencit 30 g sebanyak 0,11 g dan BB mencit 31 g sebanyak 0,13 g kemudian dimasukkan ke dalam NaCl 25 mL sedikit demi sedikit sambil dilakukan pengadukan.

Pembuatan Suspensi Glibenklamid

Serbuk Glibenklamid ditimbang sebanyak 6,38 mg/28 mg BB mencit dengan dosis yang digunakan diperoleh dari konversi dosis manusia ke mencit, kemudian disuspensikan kedalam Na-CMC 0,5% sedikit demi sedikit sambil diaduk perlahan, kemudian dicukupkan volumenya hingga 100 ml.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Aktif Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Dibuat suspensi ekstrak aktif daun Ketapang 1% b/v, 3% b/v dan 5% b/v dengan cara ditimbang masing-masing 1 gram, 3 gram dan 5 gram ekstrak aktif kemudian dimasukkan kedalam lumpang lalu ditambahkan larutan koloidal Na-CMC 0,5% digerus hingga tercampur secara homogen kemudian dicukupkan volumenya sampai 100 mL.

Fraksinasi Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Cair Vakum

Ekstrak kental metanol sampel daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KCV) menggunakan silika gel sebagai fase diam sedangkan fase geraknya eluen dari hasil KLT. Hasilnya kemudian di evaporasi dan ditimbang.

Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi

Hasil dari fraksinasi KCV yang telah ditimbang kemudian di lihat noda pada KLT dan digabung hasil fraksinya jika terdapat noda yang sama. Fraksi tersebut dibawa ke KKG untuk di fraksinasi kembali dengan fase diam silika gel dan fase geraknya eluen yang sama dari hasil KCV.

Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Fraksi yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes selanjutnya dipisahkan dengan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P) menggunakan eluen hasil orientasi dari KLT. Plat yang telah dielus kemudian dikeluarkan dari dalam chamber lalu dikeringkan. Plat KLT selanjutnya diamati noda-noda menggunakan lampu UV 366 nm. Noda yang dihasilkan kemudian dikerok dan dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan pelarut metanol untuk kemudian digunakan pada Spektrofotometri Uv-Vis dan IR.

Spektrofotometri UV-Vis

Fraksi hasil kromatografi lapis tipis preparatif yang sudah dipisahkan dengan silika kemudian dimasukkan ke dalam kuvet lalu diukur Panjang gelombang maupun absorbansinya pada spektrofotometri UV- Vis.

Spektrofotometri FTIR

Fraksi hasil kromatografi lapis tipis preparatif yang sudah dipisahkan dengan silika kemudian diukur pada spektrofotometri FTIR. Isolat diteteskan pada pellet KBr, dikeringkan kemudian dianalisis dengan spektrofotometri inframerah pada rentang gelombang 4000 - 400 cm^{-1} .

3. Hasil dan Pembahasan Ekstraksi Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) diperoleh dari Desa Tolomato, Kecamatan Suwawa Tengah, Kabupaten Bone Bolango, Provinsi Gorontalo. Daun ketapang yang

telah diambil dicuci bersih, dirajang, dikeringkan dan dihaluskan agar memperoleh serbuk simplisia.

Tabel 1. Hasil Penelitian Berat Ekstrak dan Rendamen

Ekstrak	Berat Sampel (g)	Volume Pelarut (mL)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
N-Heksan	400	3000	59,7	14,92
Etil Asetat	320,5	2000	48,7	15,19
Metanol	289	2000	39,5	13,66

Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil dari proses ekstraksi daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) sebanyak 400 g dengan menggunakan pelarut n-heksan sebanyak 3000 mL diperoleh hasil ekstrak kental sebanyak 59,7 g dengan persentase rendamen sebanyak 14,92 %, sebanyak 320,5 g dengan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 2000 mL diperoleh hasil ekstrak kental 48,7 g dengan persentase sebanyak 15,19 % dan sebanyak 289 g dengan menggunakan pelarut metanol sebanyak 2000 mL diperoleh hasil ekstrak 39,5 g dengan persentase rendamen 13,66%. Persen rendamen yang didapatkan masuk dalam range persen rendamen yaitu 10-15%, hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) berlangsung secara optimal [5].

Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Skrining fitokimia sebagai tahap awal untuk memberikan gambaran ada atau tidaknya golongan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes yang terkandung dalam tanaman yang diteliti.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Ketapang

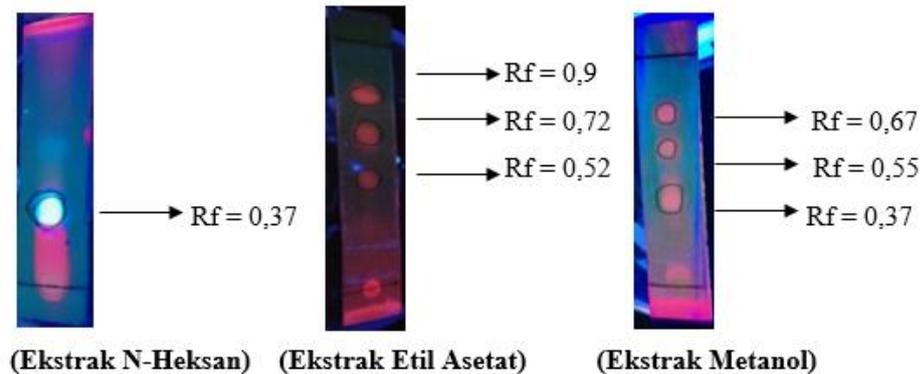
Ekstrak	Hasil Senyawa				
	Alkaloid (HCl+ dragendrfof)	Flavonoid (HCl+Mg)	Tannin (FeCl ₃)	Soponin (air panas +HCl)	Steroid/terpenoid (H ₂ SO ₄ + as. asetat anhidrat)
N-Heksan	-	-	-	-	+
Etil asetat	-	+	+	-	+
Metanol	-	+	+	-	+

Tabel 2 menunjukkan data hasil uji skrining fitokimia dari hasil ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) memperoleh hasil bahwa Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin dan terpenoid. Hal ini diperkuat oleh [6] yang menyatakan bahwa ekstrak daun ketapang mengandung senyawa flavonoid, steroid, tanin dan triterpenoid.

Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Pengujian kualitatif senyawa antidiabetes ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT),

dimana pengujian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder dari ekstrak daun ketapang (*Terminalia catappa L.*). Masing-masing ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan eluen *n*-heksan : etil asetat dengan perbandingan 9:1 8:2, 7:3, dan 6:4. Setelah dilakukan proses elusi kemudian dilihat bercak noda pada lampu UV 366 nm.



Gambar 1. Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis : eluen *n*-heksan : etil asetat dengan perbandingan 9:1 8:2, 7:3, dan 6:4

Hasil Uji Efektivitas Antidiabetes

Berdasarkan hasil data pengukuran kadar glukosa darah pada gambar 2 menunjukkan adanya perbedaan pada hasil pengukuran darah pada masing-masing kelompok. Perbedaan ini didasarkan pada penurunan kadar glukosa darah yang berbeda-beda pada setiap kelompok uji.

Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang diberikan Na-CMC 0,5% b/v mencit sebagai kelompok kontrol negatif tidak memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada mencit jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini dikarenakan menurut [7] pemberian Na-CMC hanya sebagai kontrol negatif pada penelitian ini dan Na-CMC tidak memiliki efek antidiabetes atau tidak memberikan efek apapun pada mencit sehingga tidak mampu untuk menurunkan kadar glukosa darah.

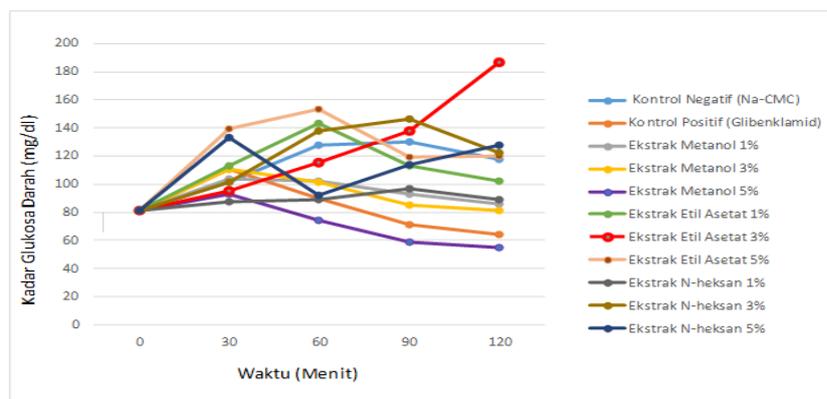
Kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diberikan suspensi glibenklamid. Pada kelompok kontrol positif ini terjadi penurunan kadar glukosa darah mencit yaitu sebesar 30%. Glibenklamid merupakan obat antidiabetes yang termasuk dalam golongan sulfonilurea yang memiliki efek terapeutik dapat menurunkan kadar glukosa darah, sehingga glibenklamid sering dijadikan sebagai obat pembanding dalam penelitian [8]. Glibenklamid bekerja menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas. Mekanisme ini bergantung pada sel beta pankreas. Sulfonilurea menempel pada reseptor yang spesifik di sel beta pankreas dan menyekat pemasukan kalium melalui kanal *ATP-dependent* [9]. Kelompok kontrol positif glibenklamid mengalami penurunan kadar glukosa darah hingga 64 mg/dl.

Kelompok perlakuan (ekstrak metanol) dengan pemberian ekstrak metanol daun Ketapang dengan dosis 1% b/v, 3% b/v dan 5% b/v. Pada dosis 1% b/v mengalami penurunan glukosa darah sebesar 24%, dosis 3% mengalami penurunan glukosa darah sebesar 36% dan kelompok dosis 5% mengalami penurunan glukosa darah sebesar 52%. Hal ini diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder yang bertindak sebagai antidiabetes atau penurun kadar glukosa darah pada tanaman Ketapang adalah

flavonoid dan tanin [3]. Mekanisme flavonoid sebagai antidiabetes yaitu dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas. Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat [10]. Mekanisme kerja tanin sebagai antidiabetes yaitu dengan cara menghambat proses glikolisis dan absorpsi glukosa sehingga kadar glukosa darah menurun [11].

Tabel 3. Hasil Uji Antidiabetes Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Kelompok	Hewan Uji (mg/dl)	KGD Sebelum Induksi (mg/dl)	KGD Sesudah Induksi (mg/dl)	KGD Setelah Perlakuan			
				30 (menit)	60 (menit)	90 (menit)	120 (menit)
Kelompok Kontrol Negatif	1	78	91	72	100	118	118
	2	105	110	121	127	121	113
	3	91	94	110	157	151	124
Kelompok Kontrol Positif	1	116	116	116	121	78	74
	2	82	85	118	87	67	60
	3	89	72	100	72	68	58
Kelompok Ekstrak Metanol 1%	1	76	96	91	85	78	71
	2	113	116	105	105	87	76
	3	118	127	118	118	115	110
Kelompok Ekstrak Metanol 3%	1	96	127	124	124	100	103
	2	87	140	121	100	78	70
	3	70	110	89	80	76	70
Kelompok Ekstrak Metanol 5%	1	124	124	113	78	70	70
	2	82	105	62	70	53	47
	3	97	118	103	74	53	47
Kelompok Ekstrak Etil Asetat 1%	1	87	105	87	60	78	89
	2	62	97	91	138	110	94
	3	76	134	161	232	151	124
Kelompok Ekstrak Etil Asetat 3%	1	45	91	68	89	105	116
	2	38	127	91	103	130	183
	3	33	127	127	154	178	261
Kelompok Ekstrak Etil Asetat 5%	1	36	154	211	202	179	130
	2	30	103	96	154	110	187
	3	29	118	110	103	68	43
Kelompok Ekstrak N-heksan 1%	1	70	85	85	82	94	96
	2	71	78	76	71	87	78
	3	91	102	100	103	110	94
Kelompok Ekstrak N-heksan 3%	1	76	85	94	110	105	113
	2	82	100	87	151	154	138
	3	89	113	121	154	178	116
Kelompok Ekstrak N-heksan 5%	1	96	105	195	113	120	131
	2	76	132	118	110	161	178
	3	91	118	85	53	60	74



Gambar 2. Hasil Uji Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Ketapang

Kelompok perlakuan (ekstrak etil asetat) dengan pemberian ekstrak etil asetat daun Ketapang dengan dosis 1%, 3% dan 5%. Pada kelompok dosis 1% mengalami penurunan kadar glukosa darah sebesar 9%, dosis 3% tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah dan kelompok dosis 5% mengalami penurunan sebesar 4%. Tetapi pada kelompok ini tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah secara signifikan, hal ini dikarenakan etil asetat merupakan senyawa semipolar yang dimana dapat menarik senyawa polar dan senyawa nonpolar pada ekstrak etil asetat daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) senyawa yang didapatkan dalam jumlah yang kecil. Penurunan kadar glukosa darah ini diduga karena adanya senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid. Mekanisme flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan merangsang pelepasan insulin pada sel beta pankreas untuk disekresikan ke dalam darah [12]. Tanin memiliki aktivitas penurunan gula darah dengan cara penghambatan kerja α -glukosidase sehingga penyerapan gula dan laju peningkatan gula pada sistem pencernaan masih tidak terlalu tinggi [13]. Sedangkan terpenoid bekerja dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan merangsang pengeluaran insulin dan membantu penyerapan glukosa dengan cara merangsang GLUT-4 di dalam sel [14].

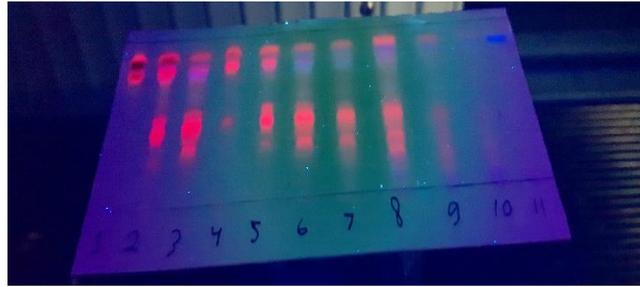
Kelompok perlakuan (ekstrak n-heksan) dengan pemberian ekstrak n-heksan daun Ketapang dengan dosis 1%, 3% dan 5%. Pada kelompok perlakuan ini tidak terjadi penurunan kadar glukosa darah, hal ini dikarenakan n-heksan bersifat nonpolar sehingga kandungan senyawa pada ekstrak n-heksan adalah senyawa-senyawa nonpolar yang dimana secara signifikan yang paling banyak bersifat sebagai antidiabetes adalah senyawa polar. Dapat dilihat pada hasil skrining fitokimia dan monitoring KLT ekstrak n-heksan daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*) positif mengandung steroid, steroid merupakan senyawa nonpolar. Steroid bisa sebagai antidiabetes bekerja dengan cara menstimulasi keluarnya insulin dari pankreas sehingga akan menurunkan glukosa darah [15]. Ekstrak n-heksan kandungan senyawa steroid dalam jumlah yang kecil sehingga tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah. Jenis pelarut yang berbeda akan mempengaruhi kandungan senyawa dan memberikan efektivitas yang berbeda dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut [16].

Dari hasil pengukuran penurunan kadar glukosa darah terhadap ekstrak daun ketapang dan dilakukan analisis secara *One Way Anova* menggunakan SPSS 16 untuk mengetahui perbedaan signifikan antara ketiga ekstrak dengan kontrol positif yang digunakan yaitu glibenklamid terhadap penurunan kadar glukosa tersebut. Hasil uji analisis *One Way Anova* pada dengan tingkat kepercayaan 95% diperoleh ekstrak metanol tidak terjadi perbedaan signifikan dengan kontrol positif glibenklamid yang artinya ekstrak metanol efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Fraksinasi Ekstrak Dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) memiliki efektivitas antidiabetes paling efektif. Ekstrak metanol ini

selanjutnya akan di fraksinasi untuk memudahkan dalam mengidentifikasi senyawa spesifik yang bersifat sebagai antidiabetes pada daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) dengan menggunakan metode KCV (Kromatografi Cair Vakum). KCV adalah metode fraksinasi dengan cara memisahkan ekstrak kental menjadi beberapa fraksi yang lebih sederhana dengan cara pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fase diam dan fase geraknya dan dibantu dengan sebuah pompa vakum [17]. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 GF254 dan fase gerak adalah 11 perbandingan eluen n-heksan : etil asetat (n-heksan 50, 45:5, 40:10, 35:15, 30:20, 25:25, 20:30, 15:35, 10:40, 5:45, etil asetat 50) dalam 50 mL.



Gambar 3. Hasil Fraksinasi KCV Ekstrak Metanol Daun Ketapang (UV 354)

Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh adalah 11 fraksi yang kemudian hasil fraksi tersebut ditotolkan pada plat KLT untuk diamati visualisasi bercak nodanya pada lampu UV 366 nm. Visualisasi bercak noda dan warna yang sama digabung menjadi 1 fraksi, kemudian dievaporasi dan ditimbang.

Fraksinasi Fraksi Aktif dengan Metode Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)

Hasil fraksinasi KCV ditimbang jika hasilnya dibawah dari 0,2 g maka dilakukan fraksinasi kedua yaitu dengan metode KKG (Kromatografi Kolom Gravitasi). KKG (Kromatografi Kolom Gravitasi) merupakan suatu metode pemisahan fisik, dimana komponennya dipisahkan dan didistribusikan diantara dua fase dan menggunakan kolom sebagai alatnya [18]. Fase gerak yang digunakan dalam metode ini adalah eluen n-heksan : etil (8:2) dalam 200 mL dan fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 G.

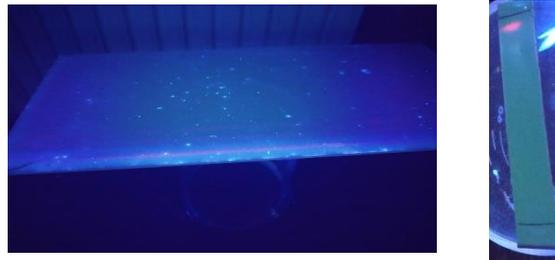


Gambar 4. Hasil Fraksinasi KKG Fraksi Aktif Daun Ketapang (UV 354)

Gambar 3 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh adalah 18 fraksi yang kemudian hasil fraksi tersebut ditotolkan pada plat KLT untuk diamati visualisasi bercak nodanya pada lampu UV 366 nm. Visualisasi bercak noda dan warna yang sama digabung menjadi menjadi 5 fraksi. Kemudian di evaporasi dan ditimbang.

Analisis Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLT-P) Fraksi Aktif Daun Ketapang (*Terminalia catappa L.*)

Fraksi aktif yang didapatkan dari metode KKG adalah fraksi aktif yang bersifat sebagai antidiabetes paling efektif kemudian dilakukan pengujian kualitatif menggunakan KLTP (Kromatografi Lapis Tipis Preparatif). KLTP merupakan suatu proses isolasi yang prosesnya terjadi karena adanya perbedaan daya serap dan daya partisi, selain itu dilihat dari kelarutan komponen-komponen kimia yang dimana akan bergerak mengikuti tingkat kepolaran dari eluen yang didasarkan pada daya serap adsorben terhadap komponen kimia yang tidak sama, sehingga komponen ini bergerak dengan kecepatan yang berbeda pula. Hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan [19].

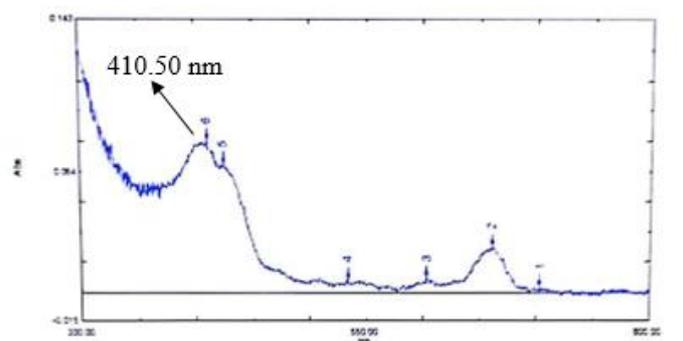


Gambar 5. Hasil Analisis KLTP Fraksi Aktif Daun Ketapang (UV 354)

Gambar 5 menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh yaitu noda tunggal, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat dari fraksi relatif murni. Hal tersebut diperkuat kemurniannya dengan dilakukan analisis KLT dari Isolat fraksi aktif tersebut dan diperoleh hasil visualisasi noda tunggal yang dilihat pada lampu UV 366 nm. Noda tersebut kemudian dikerok dan dimasukkan kedalam vial dan ditambahkan pelarut metanol untuk kemudian digunakan pada Spektrofotometri Uv-Vis dan FTIR.

Elusidasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Elusidasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menentukan panjang gelombang dari senyawa antidiabetes daun ketapang (*Terminalia catappa L.*). Pengukuran serapan panjang gelombang dilakukan *running* pada panjang gelombang 300-800 nm.



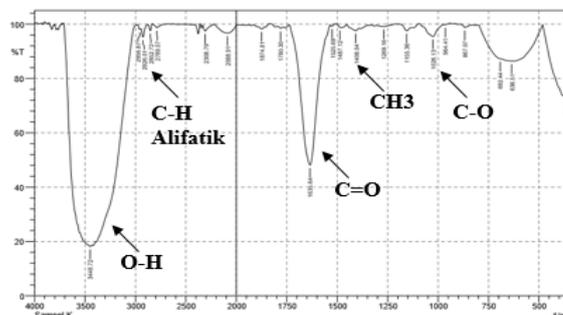
Gambar 6. Hasil Elusidasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Gambar 6. menunjukkan panjang gelombang maksimum berada pada panjang gelombang 410.50 nm. Dari hasil tersebut diduga senyawa antidiabetes fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) adalah senyawa golongan flavonoid, karena menurut [20] panjang gelombang maksimum dari kuersetin yaitu 370-450 nm. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang banyak terdapat pada tanaman. Senyawa ini

memiliki aktivitas farmakologi yang sangat beragam, seperti antioksidan, menurunkan kadar gula darah, antiinflamasi, antiplatelet dan antikanker [21].

Elusidasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri FTIR

Elusidasi menggunakan spektrofotometri Inframerah digunakan untuk menentukan gugus fungsi dari senyawa antidiabetes fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa L.*)



Gambar 7. Hasil Elusidasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometri FTIR

Gambar 7 menunjukkan hasil pengukuran spektrum FTIR diperoleh serapan pada bilangan gelombang 3448.72 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus O-H (hidroksil) terikat. Menurut [22] gugus O-H (hidroksil) terikat berada pada serapan $3600\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ yang membentuk pita lebar, hal ini didukung oleh adanya serapan pada bilangan gelombang 1026.13 cm^{-1} yang menunjukkan adanya C-O. Serapan pada bilangan gelombang 1635.64 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O (karbonil) terkonjugasi. Serapan bilangan gelombang pada 1408.04 cm^{-1} menunjukkan adanya CH₃ dan serapan bilangan gelombang pada 2826.01 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C-H alifatik. sehingga besar kemungkinan senyawa yang berada dalam fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) adalah golongan senyawa flavonoid.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa. Ekstrak metanol 3% daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) mempunyai efektivitas antidiabetes terhadap kadar glukosa darah. Golongan senyawa berperan sebagai antidiabetes yang terkandung dalam fraksi aktif daun ketapang (*Terminalia catappa L.*) adalah golongan senyawa flavonoid.

Referensi

- [1] Dewick, P.M. 2009. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. Second edition. London: John Wiley and sons.
- [2] Afiukwa, C. A., Ugwu, P. C. O., Ebenyi L. N., Oketa, H. A., Idenyi, J. N. dan Emmanuel, C. O. 2015. *Phytochemical analysis of two wild edible mushrooms, Auricularia Polytricha and Pleurotus Ostreatus, common in Ohaukwu area of Ebonyi state*. Nigeria: Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences 4(2): 1065-1070. Amin, M.N., M.M. Rahman, K. W Rahman, R. Ahmed, M. S Hossain and M. B.
- [3] Kim JS, Ju JB, Choi CW, dan Kim SC. 2006. *Hypoglycemic and Antihyperlipidemic Effect of Four Korean Medicinal Plants in Alloxan Induced Diabetic Rats*. Am J of Biochemistry and Biotechnology, Vol 2(4), 154-160.

- [4] Ahmed. 2005. *Large Scale Plant In Vitro From Leaf Derived Callus of Pineapple (Ananas comosus (L) Merr.cv. Galant Kew)*, *Internasional Journal of Botany I(2)* : 128-132.
- [6] Herli MA, Isna Wardaniati. 2019. *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Ketapang Yang Tumbuh di Sekitar Univ. Abdurrahman, Pekanbaru.* *Journal Of Pharmacy & Science* 2(2):1-8
- [7] Latuconsina, N.H., Fatmawati Citraningtyas, G. 2014. *Uji Efektivitas Diuretik Ekstrak Etanol Biji Salak (Salacca zallaca) Pada Tikus Putih Galur Wistar (Rattus norvegicus).* *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat.*
- [8] Basit, A., Riaz, M. and Fawwad, R., 2012, *Glimepiride: evidence-based facts, trends, and observations*, Dovepress, 463-470.
- [9] Sola D, Rossi L, Schianca GPC, Maffioli P, Bigliocca M, Mella R, 2015. *Sulfonylureas and their use in clinical practice.* *Arch Med Sci.* (4): 840-848.
- [10] Setianingsih, et al. 2018. *2018191Dampak Penggunaan Gadget Pada Anak Usia Prasekolah Dapat Meningkatkan Resiko Gangguan Pemusatan Perhatian dan Hiperaktivitas.* Klaten: STIKes Muhammadiyah Klaten
- [11] Fadhillah, M. (2016). *Gambaran Tingkat Risiko dan Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Risiko Diabetes Melitus Tipe 2 di Buaran Serpong.* *Journal Kedokteran Yarsi.* Tangerang: Universitas Syarif Hidayatullah.
- [12] Atiqoh, H., Wardani, R. & Meikawati, W., 2011, *Uji Antidiabetik Infusa Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Glukosa,* *J Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 7(1), 43-50
- [13] Yuda, A.A.G.P., Rolan Rusli, Arsyik Ibrahim. 2015. *Kandungan Metabolit Sekunder Dan Efek Penurunan Glukosa Darah Ekstrak Biji Rambutan(Nephelium lappaceum L.) Pada Mencit (Mus musculus),* *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(3).
- [14] Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja .2007.*Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi Keenam*, 262, 269-271. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo, Bourne, H.R. dan Zastrow, Mark Von, 2007, *Drug Receptors & Pharmacodynamic*, Dakam : Katzung, Bertram G. (2007), *Basic & Clinical Pharmacology*, Tenth Edition, United States : Lange Medical Publications.
- [15] Agustin, D. D., & et al. (2015). *Kualitas Hidup Pasien Kanker Payudara dengan Terapi Kombinasi Fluorouracil , Doxor*
- [16] Prayoga, dkk. 2019. *Dentifikasi Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar Daun Pepe (Gymnema reticulatum br.) Pada Berbagai Jenis Pelarut.* Bali : Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Unud
- [17] Ghisalberti, E.L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products dalam Bioactive Natural Product: Detection, Isolation and Structural Determination 2nd Edition.* New York: CRC Press.
- [18] Sastrohamidjojo, Hardjono. 2002. *Kromatografi.* Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- [19] Nasution. 2010. *Berbagai Pendekatan dalam Proses Belajar dan Mengajar.* Jakarta: Bumi Aksara.
- [20] Gandjar, I. G. dan Rohman, A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis, Pustaka Pelajar.* Yogyakarta.
- [21] Gomes, Faustino Cardoso. 2014. *Manajemen Sumber Daya Manusia.* Andi. Yogyakarta.
- [22] Pavia Donald dkk. 2009. *Introduction To Spectroscopy.* Brooks/Cole CENGAGE Learning : Washington.