

UJI AKTIVITAS ANTIGLIKASI GRANUL EFFERVESCENT KOMBINASI EKSTRAK BROKOLI (*Brassica oleracea var. Italica*) DAN BUAH PARE (*Momordica charantia L*)

Suharyanto*, Dzaki Fikri, Hartono

Program Studi D-III Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo - Baki, Bangorwo,
Kwarasan, Grogol, Sukoharjo, Jawa Tengah 57552, Indonesia

*suharyanto@stikesnasional.ac.id

ABSTRAK

Glikasi adalah reaksi non-enzimatik antara gugus amino bebas dan gugus karbonil gula pereduksi membentuk Advanced Glycation End Products sebagai produk akhir. Terjadinya glikasi disebabkan oleh hiperglikemia. Antiglikasi merupakan zat yang dapat menghambat terjadinya reaksi glikasi. Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) dan buah Pare dapat menghambat pembentukan AGEs sehingga berpotensi sebagai Antiglikasi dari bahan alam. Penggunaan bahan alam sebagai zat aktif dalam pembuatan produk harus diformulasikan dengan baik supaya dapat meningkatkan ketertarikan dan kemudahan dalam penggunaannya oleh masyarakat. Formulasi *granul effervescent* menghasilkan efek karbonisasi yang memberikan kesegaran dan dapat menutupi rasa khas dari kedua bahan ini. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui Aktivitas Antiglikasi Granul Effervescent Kombinasi Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) dan Buah Pare (*Momordica charantia L*). Metode penelitian dilakukan dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%. Hasil ekstrak kental yang telah didapatkan dilanjutkan dengan formulasi granul effervescent dengan tiga kombinasi yang berbeda-beda yaitu formula satu 5%, formula dua 7,5% dan formula tiga 10%. Penentuan Aktivitas Antiglikasi dilakukan dengan metode Spektrofotometri pada panjang gelombang 450 nm dengan IC_{50} sebagai besaran penunjuk. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa antiglikasi formula 1 didapatkan IC_{50} 120,325 ppm, formula dua IC_{50} 95,3184 ppm dan formula tiga dengan IC_{50} 82,8158 ppm.

Kata kunci: brokoli; effervescent; glikasi; pare

ANTIGLYCATION ACTIVITY TESTING OF GRANULES COMBINING BROCOLI EXTRACT (*Brassica oleracea var. Italica*) and BITTER MELON FRUIT (*Momordica charantia L*)

ABSTRACT

Glycation is a non-enzymatic reaction between free amino groups and the carbonyl groups of reducing sugars, leading to the formation of Advanced Glycation End Products (AGEs) as the final product. The occurrence of glycation is caused by hyperglycemia. Antiglycation refers to substances that can inhibit the glycation reaction. Broccoli (*Brassica oleracea var. Italica*) extract and bitter melon (*Momordica charantia*) can inhibit the formation of AGEs, making them potential natural antiglycation agents. The use of natural materials as active ingredients in product development must be well formulated to enhance their appeal and ease of use by the public. The formulation of effervescent granules results in a carbonization effect that provides freshness and can mask the distinctive taste of these two ingredients. The aim of this study is to determine the antiglycation activity of effervescent granules combining Broccoli (*Brassica oleracea var. Italica*) extract and Bitter Melon (*Momordica charantia L*). The research method was carried out by maceration using 70% ethanol. The thick extract obtained was then used to formulate effervescent granules with three different combinations: formula one with 5%, formula two with 7.5%, and formula three with 10%. The antiglycation activity was determined using a spectrophotometric method at a wavelength of 450 nm with IC_{50} as the indicator. Based on the results, the antiglycation activity of formula 1 had an IC_{50} of 120.325 ppm, formula two had an IC_{50} of 95.3184 ppm, and formula three had an IC_{50} of 82.8158 ppm.

Keywords: glycation; broccoli; glycation; effervescent

PENDAHULUAN

Aktivitas glikasi adalah proses non-enzimatik yang melibatkan pengikatan molekul glukosa pada protein. Produk akhir glikasi adalah AGEs yang berpotensi merusak struktur dan fungsi protein tubuh, (Singh et al., 2014). Kondisi ini dapat ditanggulangi dengan cara diet (Jung et al., 2017). Brokoli mengandung senyawa bioaktif seperti sulforafan yang merupakan antioksidan dan antiinflamasi (Houghton et al., 2009). Dari penelitian Koyama, K., & Kida, K., 2019, menunjukkan bahwa ekstrak brokoli dapat menghambat pembentukan AGEs. Sedangkan Rungapamestry et al. 2007 melaporkan bahwa tikus yang diberi diet tinggi brokoli menunjukkan penurunan signifikan dalam pembentukan AGEs. Tumbuhan pare banyak ditanam oleh masyarakat awam. Sifat hipoglikemik dari pare menunjukkan sifat antiglikasi yang signifikan (Hsu et al., 2011). Granul effervescent adalah bentuk sediaan farmasi dan suplemen yang dirancang untuk larut dengan cepat dalam cairan (Hussein et al., 2015). Keunggulan Granul Effervescent: lebih cepat dalam cairan dibandingkan bentuk sediaan padat (Wong et al., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk menguji Aktivitas Antiglikasi Granul Effervescent kombinasi Ekstrak Brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) dan Buah Pare (*Momordica charantia L.*). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa Pare Dapat mengurangi risiko glikasi. Dengan mengontrol kadar glukosa darah, pare membantu mencegah pembentukan AGEs secara berlebihan (Rahman, S., Akhtar, S., Jamal, S. (2017). Sedangkan dari penelitian Hossain et al., 2017 menunjukkan bahwa pare memiliki aktivitas antiglikasi yang signifikan dengan menghambat pembentukan AGEs pada model protein in vitro. Penelitian ini juga menemukan bahwa konsumsi rutin ekstrak pare pada model hewan diabetes mengurangi pembentukan AGEs. Pada penelitian ini akan dikembangkan metode antiglikasi kombinasi ekstrak etanolik Brokoli dan Pare dengan memformulasi dalam sediaan granul effervescent. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas Antiglikasi Granul effervescent kombinasi ekstrak brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*).

METODE

Penyiapan Bahan

Sebanyak 3 kg sayuran brokoli dan 3 kg buah pare dilakukan sortasi basah dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih. Brokoli dan pare yang sudah bersih dipotong menjadi bagian yang kecil dan tipis, lalu dikeringkan di bawah sinar matahari. Simplisia kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan ukuran 40 Mesh.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk simplisia brokoli (*Brassica oleracea var. Italica*) dan buah pare (*Momordica charantia L.*) masing-masing ditimbang 100 gram, dimasukkan ke dalam toples maserasi dan ditambahkan etanol 70% dengan perbandingan (1:7,5) selama 3 hari, sambil sesekali diaduk. Hasil dari maserasi dilakukan penyaringan dan diperoleh filtrat pertama. Ampas direndam kembali menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 1:2,5 selama 2 hari dan disaring kembali hingga diperoleh filtrat kedua. Kedua filtrat dicampur kemudian dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan granul effervescent

Sediaan granul effervescent dengan 3 formula yang menggunakan bahan aktif kombinasi ekstrak brokoli dan buah pare. Tiga formula disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1.
Formula

| Bahan | Formula 1 (%) | Formula 2 (%) | Formula 3 (%) |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|
| Brokoli | 2,5 | 3,75 | 5 |
| Pare | 2,5 | 3,75 | 5 |
| NaHCO ₃ | 10 | 10 | 10 |
| As.Tartrat | 20 | 20 | 20 |
| As.Sitrat | 35 | 35 | 35 |
| Aspartam | 4 | 4 | 4 |
| Laktosa | 22 | 19,5 | 17 |
| PVP | 4 | 4 | 4 |

Analisis Kualitatif

Analisis kualitatif dilakukan dengan uji Fitokimia terhadap masing-masing ekstrak sayuran brokoli dan buah pare yang meliputi uji fenolik dan flavonoid..Uji Fenolik dilakukan dengan menimbang 100 mg ekstrak kental ditambahkan 3-4 tetes larutan FeCl₃. Senyawa fenol akan memberikan warna hijau hingga biru hitam dengan penambahan larutan garam besi (III) klorida (Hanani, 2017). Uji Flavanoid dilakukan dengan menimbang 100 mg ekstrak kental ditambahkan beberapa tetes HCl pekat dan juga ditambahkan sedikit serbuk Mg. Hasil positif jika terbentuk warna merah hingga orange. (Estikawati & Lindawati, 2019)

Analisis Kuantitatif

Aktivitas antiglikasi dari kombinasi brokoli dan pare dalam bentuk effervescent dapat diuji menggunakan BSA-Glukosa Assay, di mana ekstrak diuji terhadap kemampuan menghambat pembentukan AGEs yang diinduksi oleh glukosa dan Bovine Serum Albumin (BSA) untuk menentukan penghambatan pembentukan AGEs. (Fahey, J. W., et al. (2010)

Analisis kuantitatif dilakukan dengan menentukan kandungan karbonil protein pada BSA terglikasi dengan metode DNPH secara spektrofotometri visibel.

Pembuatan Larutan BSA (Bovine Serum Albumin) 15 mg/ml

Sebanyak 75 mg BSA dilarutkan dalam 5 mL larutan buffer fosfat pH 7 (Suryanto & Taroreh, 2020).

Pembuatan Larutan Glukosa 1 M

Sebanyak 0,9 gram Glukosa dilarutkan dalam 5 mL larutan buffer fosfat (Suryanto & Taroreh, 2020).

Pembuatan Natrium Azida 0,02%

Sebanyak 0,001 gram Natrium Azida dilarutkan dalam 5 mL larutan buffer fosfat (Suryanto & Taroreh, 2020).

Pembuatan NaOH 6 M

Sebanyak 1,2 gram NaOH dilarutkan dalam 5 mL aquades (Suryanto & Taroreh, 2020).

Pembuatan larutan DNPH (10 mM dalam 2,5 M HCl)

Sebanyak 0,5 mL DNPH dilarutkan dalam 2,1 mL HCl 2,5 M, dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas.

Pembuatan BSA Terglikasi

Pembuatan BSA terglikasi dilakukan dengan memasukkan larutan BSA 15mg/mL, glukosa 1 M, natrium azida 0,02% dan NaOH 6 M masing-masing sebanyak 5 mL ke dalam labu ukur 50,0 mL dan dicukupkan dengan menggunakan buffer fosfat. Hasil ini akan diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 hari dalam keadaan gelap.

Penentuan *Operating Time*

Diambil sebanyak 0,25 mL dari larutan BSA terglikasi yang sudah diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 hari, kemudian ditambahkan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) (10 mM dalam 2,5 M HCl) sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 10,0 mL. Serapan diukur menggunakan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang maksimum teoritis 450 nm dengan interval waktu 1 menit hingga didapat waktu optimum yang stabil (Kondo *et al.*, 2018).

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Diambil sebanyak 0,25 mL dari larutan BSA terglikasi yang sudah diinkubasi pada suhu 37°C selama 14 hari, kemudian ditambahkan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) (10 mM dalam 2,5 M HCl) sebanyak 0,1 mL dan dicukupkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 10,0 mL. Didiamkan sesuai waktu *operating time* dan serapan diukur pada panjang gelombang 400-500 nm.

Pembuatan dan Pengukuran Kontrol Positif

Pembuatan kontrol positif dilakukan dengan mengambil 0,25 mL dari hasil BSA terglikasi, kemudian ditambahkan dengan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) (10 mM dalam 2,5 M HCl) sebanyak 0,1 mL dan di cukupkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 10,0 mL. Setelah itu diinkubasi selama waktu *operating time*. Hasil dibaca dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimal (Adisakwattana *et al.*, 2012).

Penentuan Aktivitas Antiglikasi dari Granul Effervecent Kombinasi Ekstrak Brokoli dan Pare

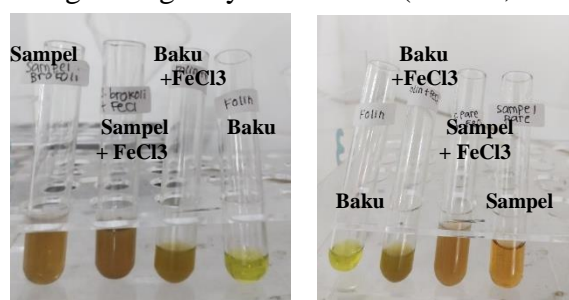
Larutan sampel induk masing-masing Formulasi dalam buffer fosfat, dibuat konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10,0 mL dan ditambahkan 0,25 mL dari hasil BSA terglikasi yang telah diinkubasi selama 14 hari. Ditambahkan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) alkalin sebanyak 0,1 ml dan dtambahkan dengan buffer fosfat dalam labu ukur 10,0 mL sampai tanda batas. Kemuadian diinkubasi selama waktu *operating time*. Hasil dibaca dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang maksimal kemudian dihitung penurunan glikasi (Adisakwattana *et al.*, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kualitatif

Uji Fenolik

Uji fitokimia fenolik dilakukan dengan membandingkan antara kontrol yaitu baku fenol yang ditambahkan dengan pereaksi $FeCl_3$ dengan sampel dengan $FeCl_3$. Apabila dalam sampel mengandung fenol, maka senyawa $FeCl_3$ akan bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol. Hasil pengujian menunjukkan perubahan warna menjadi hijau, warna coklat kehijauan dengan penambahan larutan garam $FeCl_3$ hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa fenolik (Hanani, 2017).



Brokoli

Pare

Gambar 1. Hasil uji fenolik pada brokoli dan Pare

Uji Flavanoid

Uji skrining fitokimia flavonoid menunjukkan bahwa ekstrak brokoli dan pare positif mengandung senyawa flavonoid. Pengujian dilakukan dengan membandingkan antara kontrol baku fenol yang ditambahkan dengan pereaksi HCl pekat dan serbuk Mg dengan sampel yg sudah ditambahkan HCl pekat dan serbuk Mg terjadi perubahan menjadi jingga. Reduksi dengan Mg dan HCl menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna orange kemerahan pada flavonoid. Tingkat kepekatan warna hasil uji menunjukkan jumlah yg cukup tinggi.



Gambar 2. Hasil uji flavanoid pada brokoli dan Pare

Dari gambar1 dan gambar 2 brokoli dan pare mengandung senyawa fenolik dan flavanoid. Hasil ini sesuai denan penelitian sebelumnya bahwa dalam brokoli ditemukan kandungan fenolik yang tinggi. (Kusznierewicz, B., et al. 2008), sedangkan pare mengandung fenolik dan flavonoid dalam jumlah signifikan(Horax,R.et al. ,2010).Kandungan flavonoid dan fenolik menunjukkan peningkatan stabilitas dan bioavailabilitas walaupun sudah diformulasikan (Das, S., et al. 2016)

Analisis Kuantitatif

Penentuan *Operating Time* dan Panjang gelombang maksimu

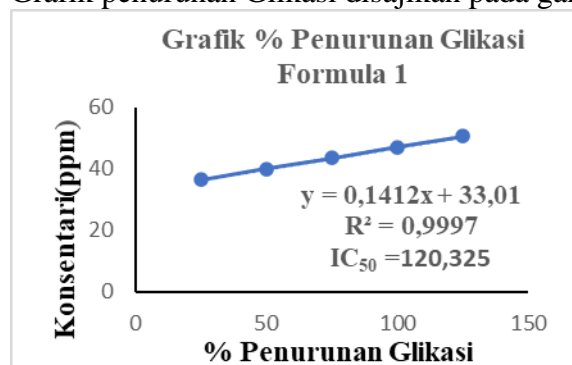
Dari penelitian didapatkan operating time sebesar 49 menit danpanjang gelombang 420 nm. Hasil ini tidak jauh berbeda dari penelitian Kondo *et al.*, 2018,yang menemukan panjang gelombang maksimum dicapai pada 450 nm.

Penetapan Panjang gelombang

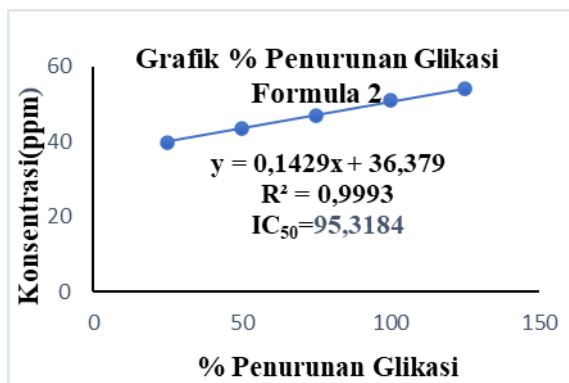
Panjang Gelombang Maksimum adalah panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum.Pada penelitian ini dipeoleh panjang gelombang maksimum sebesar 420 nm.

Uji aktivitas antiglikasi

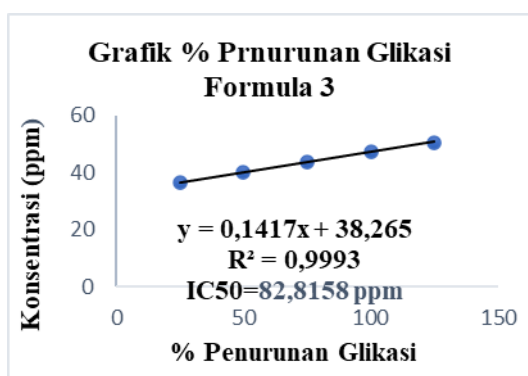
Grafik penurunan Glikasi disajikan pada gambar 3 gambar 4 dan 5



Gambar 3 : % Penurunan Gilaksi Formula 1



Gambar 4 : % Penurunan Gilaksi Formula 2



Gambar 5 : % Penurunan Gilaksi Formula 3

Hasil penelitian yang disajikan dalam gambar 3, 4 dan 5 menunjukkan hubungan antara konsentrasi sampel dengan penurunan Glikasi sangat linear yang ditunjukkan harga koefisien korelasi yang mendekati angka 1.(Kutner, M. et.al.,2004). Dari gambar 3,gaambar 4 dan 5 nampak bahwa kombinasi ekstrak brokoli dan pare dalam sediaan effervescent dari ketiga perbandingan mempunyai aktivitas anti glikasi hal ini ditunjukkan pula dengan nilai IC_{50} dari formula 1 formula 2 dan 3. IC_{50} mengukur konsentrasi senyawa yang diperlukan untuk menghambat 50% pembentukan produk akhir glikasi tingkat lanjut (AGEs) dalam suatu system (Hussain et al,2017).

Semkin rendah nilai IC_{50} menunjukkan semakin potensial suatu senyawa menghambat terjadinya glikasi.(Junjun Liu ,et al,2021). Dari ketiga formula kombinasi terbaik ada pada formula 3 dengan IC_{50} sebesar 82,8158 ppm. Walaupun dengan perbandingan yang sama dengan ekstrak pare diduga ekstrak brokoli memiliki kandungan flavoaid yang lebih tinggi yang bersifat antioksidan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa ekstrak brokoli menunjukkan aktivitas antiglikasi yang signifikan, yang dikaitkan dengan kandungan antioksidan yang tinggi.(Esa, N. M., Ling, T. B., & Peng, L. S. .,2013). Disamping itu senyawa Sulforaphane ,antioksidan dalam flavanoid menghambat reaksi glikasi dan ini tidak dimiliki oleh pare. (Fahey, J. W.,et.al. ,2010). Namun baik brokoli maupun pare cukup efektif dapat digunakan sebagai anti glikasi. Kombinasi dari Brokoli dan Pare dalam sediaan effervescent memiliki efek sinergis dalam menghambat pembentukan AGEs (Ali, F., et al. ,2016). Keuntungan sediaan effervescent dapat meningkatkan bioavailabilitas untuk menghantarkan senyawa bioaktif seperti sulforaphane dan flavonoid.(Bhatia, M., et al. ,2013)

SIMPULAN

Hasil terbaik ekstrak etanolik kombinasi Brokoli dan Pare dalam sediaan effervescent adalah Formula 3.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisakwattana, S., et al. (2012). "Asam Sinamat dan Turunannya Menghambat Glikasi Protein yang Dimediasi Fruktosa." *Jurnal Molekuler*, 13(2), 1778–1789.
- Ali, F., et al. (2016). "Synergistic effects of plant extract combinations on antiglycation and antioxidant activities." *Journal of Medicinal Plants Research*, 10(19), 264-273.
- Bhatia, M., et al. (2013). "Development and evaluation of effervescent tablets: A review." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(3), 59-66.
- Das, S., et al. (2016). "Formulation and evaluation of effervescent tablets containing flavonoids and phenolics from plant extracts." *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(3), 171-175.
- Estikawati, I., & Lindawati, N. Y. (2019). "Penetapan Kadar Flavonoid Total Buah Oyong (*Luffa Acutangula* (L.) Roxb.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis." *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, V(2).
- Esa, N. M., Ling, T. B., & Peng, L. S. (2013). "Antiglycation and antioxidant properties of broccoli (*Brassica oleracea* L.) extracts in vitro." *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 64(2), 280-286.
- Fahey, J. W. et al (2010). "Sulforaphane inhibits extracellular, but not intracellular, formation of advanced glycation end-products: relevance for diabetic complications." *Journal of Nutrition*, 140(9), 1717-1722.
- Hanani, H. (2017). Assessment of phenolic content and antioxidant activity of selected vegetables. *Food Chemistry*, 229, 309-316.
- Houghton, et al. (2009). "The role of sulforaphane in the management of oxidative stress." *Journal of Ethnopharmacology*, 123(3), 459-470.
- Horax, R., et al (2010). "Total phenolic contents and phenolic acid composition of three varieties of bitter melon (*Momordica charantia*) and antioxidant activities of their extracts." *Journal of Food Science*, 75(8), C620-C626.
- Hsu, et al. (2011). "Antidiabetic and antiglycation effects of *Momordica charantia* in an experimental model of diabetes." *Phytotherapy Research*, 25(4), 576-582.
- Hussein, et al. (2015). "Effervescent tablets: A review of preparation and quality control." *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 1-8.
- Hussain. et al.,(2017). Inhibitory effects of natural and synthetic compounds on advanced glycation end products (AGEs) formation and their potential therapeutic implications. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 10(7), 269-283.

- Junjun Liu ,et al,2021 Novel advances in inhibiting advanced glycation end product formation using natural compounds , Volume 140, 111750
- Jung, et al. (2017). "The role of dietary antioxidants in the prevention of diabetes and its complications." *Nutrition Reviews*, 75(3), 184-196.
- Kondo ,et al. (2018). "Aktivitas Antifotooksidasi Dan Penghambat Pembentukan AGEs (Advanced Glycation End-Products) Dari Fraksi Alga *Padina australis*." *Pharmakon*, 7(4), 51–61.
- Koyama, K., & Kida, K. (2019). Anti-glycation effects of broccoli sprouts extract and its major component sulforaphane in vitro. *Journal of Functional Foods*, 55, 60-68
- Kutner, M. H., Nachtsheim, C. J., Neter, J., & Li, W. (2004). *Applied linear statistical models* (5th ed.). McGraw-Hill.
- Kusznierewicz, B., et al. (2008). "The effect of heating and fermenting on antioxidant properties of white cabbage." *Food Chemistry*, 108(3), 853-861.
- Rahman, S., Akhtar, S., & Jamal, S. (2017). "Antiglycation potential of natural products and their therapeutic role in prevention of AGEs mediated diabetic complications." *Food and Chemical Toxicology*, 110, 420-433.
- Rungapamestry, et al (2007). "Effect of broccoli and its constituents on the formation of advanced glycation end-products in vitro." *Journal of Nutritional Biochemistry*, 18(7), 429-434.
- Singh, et al. (2014). "Advanced glycation end-products and their role in aging and diabetes." *Current Diabetes Reports*, 14(9), 537
- Suryanto, E., & Taroreh, M. (2020). "Aktivitas Antioksidatif Dan Anti-Glikasi Ekstrak Fenolik Bebas Dan Fenolik Terikat Dari Tongkol Jagung." *Chemistry Progress*, 13(2).
- Wong, T. C., et al. (2016). "The impact of effervescent formulations on drug dissolution and absorption." *Drug Delivery*, 23(4).