

EFEKTIVITAS PENURUNAN KADAR GLUKOSA EKSTRAK KASAR DAN TERPURIFIKASI DAUN UMBI BIT (*BETA VULGARIS L.*) SECARA IN VITRO

Yohana Tri Wahyuningsih*, Diah Pratimasari, Novena Yety Lindawati

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional, Jl. Raya Solo - Baki, Bangorwo, Kwarasan, Kec. Grogol, Kabupaten Sukoharjo, Jawa Tengah 57552, Indonesia
*yoha.jonas27@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan gangguan metabolik yang mengakibatkan kadar glukosa melebihi batas normal. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa yaitu adanya peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Kandungan polifenol dari tanaman diduga berhubungan dengan aktivitas antioksidan dan aktivitas antidiabetes. Semakin tinggi kandungan polifenol maka semakin kuat aktivitas antioksidan dan antidiabetesnya. Salah satu tanaman yang mempunyai kandungan polifenol adalah tanaman umbi bit (*Beta vulgaris L.*) pada bagian daun. Daun umbi bit dimaserasi dengan pelarut etanol 70%. Maserat yang telah diuapkan disebut Ekstrak Kasar Daun Umbi Bit (EKDUB). Ekstrak kasar difraksinasi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat diperoleh Ekstrak Terpurifikasi Daun Umbi Bit (ETDUB). Uji kadar fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu. Uji efektivitas penurunan kadar glukosa dengan metode Nelson Somogyi. Kadar fenolik total ETDUB 58,815 mg GAE/g sampel sedangkan EKDUB 49,908 mg GAE/g sampel. Nilai EC_{50} EKDUB sebesar 22,73 ppm sedangkan ETDUB 18,34 ppm. Semakin tinggi kadar fenolik total semakin tinggi kemampuan ekstrak menurunkan kadar glukosa.

Kata kunci: daun bit; diabetes melitus; fenolik total; purifikasi

IN VITRO EFFECTIVENESS OF GLUCOSE CONTENT DECREASE IN CRUDE AND PURIFIED EXTRACT OF BEETROOT (*BETA VULGARIS L.*) LEAVES

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a disease caused by metabolic disorders so that glucose levels exceed normal limits. One of the factors that can cause an increase in glucose levels is an increase in free radicals in the body. The polyphenol content of plant is thought to be related to antioxidant activity and antidiabetic activity. The higher the polyphenol content, the stronger the antioxidant and antidiabetic activity. One of the plants that contain polyphenol is beetroot (*Beta vulgaris L.*) on the leaves. Beetroot leaves were macerated with 70% ethanol as solvent. The evaporated maserate is called crude extract (EKDUB). The crude extract was fractionated with n-hexane and ethyl acetate as the solvent to obtain a purified extract (ETDUB). Test total phenolic content using the Folin-Ciocalteu method. Test the effectiveness for lowering glucose levels using the Nelson Somogyi method. The standardization test of specific and non-specific parameters of ETDUB and EKDUB has met the requirements except for the water content test of EKDUB which is 11,243% which does not meet the requirements. Total phenolic levels of ETDUB was 58,815 mg GAE/g sample while EKDUB was 49.908 mg GAE/g sample. EC_{50} EKDUB value was 22.73 ppm while in ETDUB was 18.34 ppm. The ability of purified extract in lowering glucose levels is better than crude extract. The higher the total phenolic content in the extract, the higher the ability of the extract to lower glucose levels.*

Keywords: beet leaves; diabetes mellitus; total phenolic; purification

PENDAHULUAN

Obat tradisional merupakan pengobatan yang saat ini diminati oleh masyarakat. Pengobatan menggunakan tanaman obat semakin diminati karena memberikan efek samping yang relative sedikit. Hal ini dikarenakan pada tanaman obat mengandung senyawa metabolit sekunder yang dapat memberikan efek preventif dan promotif pada tubuh (Aribowo, dkk, 2021).

Senyawa polifenol merupakan kelompok senyawa terbesar yang terkandung dalam tumbuhan. Senyawa polifenol merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki efek farmakologi sebagai antioksidan, antipenuaan, anti-inflamasi, anti-virus, dan lainnya (Hepni, 2019). Tanaman umbi bit merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat bagi kesehatan, namun pemanfaatannya belum maksimal. Pada penelitian (Maraie, dkk, 2014), ekstrak daun umbi bit mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya glikosida, saponin, flavonoid, fenolik, dan tannin. Hal ini diperkuat dari penelitian (Aprilia, dkk, 2021) yang menyatakan bahwa ekstrak daun umbi bit mengandung flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, dan tannin.

Daun umbi bit perlu diteliti lebih lanjut karena kandungan senyawa metabolit sekundernya mempunyai efek farmakologi yang cukup banyak. Kandungan senyawa polifenol pada tanaman diduga berkaitan dengan aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Senyawa polifenol dan antioksidan mampu menangkap radikal bebas, mampu melindungi sel dari kondisi stress oksidatif, menurunkan TNF- α sehingga dapat mencegah berkembangnya diabetes melitus beserta komplikasinya (Widowati, 2008); (Pichaya Chowtivannakul, dkk, 2016); (Hilma, dkk, 2020). Kandungan senyawa polifenol pada daun umbi bit perlu diteliti lebih lanjut untuk mengetahui seberapa besar kemampuan ekstrak daun umbi bit untuk menurunkan kadar glukosa.

Ekstrak yang mengandung zat *ballast* seperti resin dan juga klorofil, pada penelitian sebelumnya terbukti dapat mempengaruhi kemampuan aktivitas antibakteri pada ekstrak daun sirih (Widyaningias, dkk, 2014). Tahap purifikasi pada ekstrak mampu meningkatkan jumlah rendemen ekstrak bee propolis yang mengandung senyawa flavonoid (Puspitasari, dkk, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fenolik total pada daun umbi bit serta kemampuan ekstrak kasar maupun terpurifikasi daun umbi bit dalam menurunkan kadar glukosa.

METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain loyang, oven (Memmert), blender (Philips), ayakan mesh 20, timbangan digital (ACIS/AD-300i), toples maserasi, alat – alat gelas (Iwaki dan Pyrex), rotary evaporator (IKA), waterbath (Memmert), spektrofotometer UV – Vis 1254 (Shimadzu), kuvet (Hellma), timbangan analitik (Ohaus), corong pisah. Bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain daun umbi bit merah (*Beta vulgaris L.*), etanol 70% (teknis), n-heksana (Merck), akuades, etil asetat (teknis), kloroform (teknis), etanol 96% (Merck), etanol 30% (teknis), standar asam galat (Merck), Na₂CO₃ (Merck), reagen Folin-Ciocalteu (Merck), reagen Nelson A, reagen Nelson B, reagen aminomolibdat, standar glukosa.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Hasil determinasi tanaman umbi bit yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta menyatakan bahwa sampel daun umbi bit yang digunakan benar-benar tanaman *Beta vulgaris var. rubra (L)* Moq.

2. Pembuatan Ekstrak Kasar dan Terpurifikasi Daun Umbi Bit

Tabel 1. Rendemen EKDUB dan ETDUB

| Sampel | % Rendemen |
|--------|------------|
| EKDUB | 21,63% |
| ETDUB | 7,24% |

3. Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Skrining Fitokimia

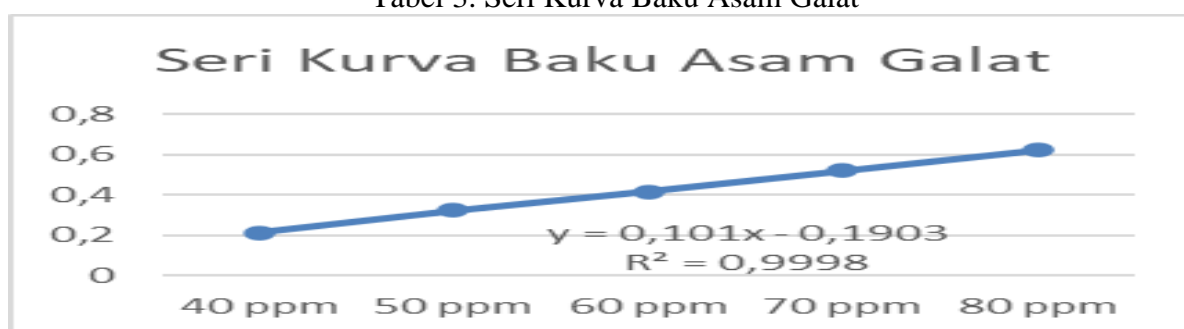
| Senyawa metabolit sekunder | EKDUB | ETDUB |
|----------------------------|-----------|-----------|
| Polifenol | + | + |
| Flavonoid | + | + |
| Saponin | + | ++ |
| Alkaloid | + | + |
| Terpenoid dan steroid | + steroid | + steroid |
| Tanin | + | + |

Keterangan: + terdeteksi; ++ terdeteksi kuat

4. Penetapan Kadar Fenolik Total

Hasil operating time diperoleh pada menit 36 – 38 dengan panjang gelombang maksimum 764,0 nm yang sesuai dengan penelitian (Andriani&Murtisiwi, 2018)

Tabel 3. Seri Kurva Baku Asam Galat



Rumus regresi linear yang didapatkan adalah $Y=0,0101x - 0,1903$ dengan nilai $R=0,9998$. Pengukuran kadar fenolik total terhadap sampel EKDUB dan ETDUB diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 4. Kadar Fenolik Total EKDUB dan ETDUB

| Sampel | Berat Sampel (mg) | Kadar Fenol Total (mg GAE/g sampel) | % KV |
|--------|-------------------|-------------------------------------|--------|
| EKDUB | 10,0 mg | 49,901 | 0,2187 |
| | | 49,802 | |
| | | 50,020 | |
| | Rata-rata | 49,908 | |
| ETDUB | 10,0 mg | 58,772 | 0,2851 |
| | | 59,000 | |
| | | 58,673 | |
| | Rata-rata | 58,815 | |

5. Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa

Pengukuran operating time diperoleh pada menit 24 – 27 dengan panjang gelombang maksimum 751,5 nm sesuai dengan hasil penelitian (Ramadhani, dkk, 2021) dengan Panjang gelombang maksimal 752 nm.

Tabel 5.
Penurunan Kadar Glukosa

| Sampel | Konsentrasi (ppm) | Rata - rata %Penurunan Kadar Glukosa | Persamaan Regresi Linear | EC ₅₀ |
|--------|-------------------|--------------------------------------|--------------------------|------------------|
| EKDUB | 10 | 15,130 | Y=2,7492X-12,492 | 22,73 ppm |
| | 15 | 28,608 | | |
| | 20 | 42,380 | | |
| | 25 | 56,349 | | |
| | 30 | 69,988 | | |
| ETDUB | 5 | 12,598 | Y=2,7928X-1,206 | 18,34 ppm |
| | 10 | 26,961 | | |
| | 15 | 40,742 | | |
| | 20 | 54,459 | | |
| | 25 | 68,671 | | |

Tahap determinasi bertujuan untuk memastikan sampel yang digunakan benar benar daun umbi bit merah. Menurut Haguluha, 2007 dalam Prawoto dan Juang, 2016, pemanenan dapat dilakukan pada pagi hari atau sore hari pada waktu terdingin untuk menghindari terjadinya kerusakan akibat transpirasi. Daun umbi bit kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50oC. Pemanasan pada suhu diatas 60oC dapat mengakibatkan senyawa fenolik total pada daun umbi bit mengalami perubahan struktur dan menghasilkan rendemen yang rendah (Yuliantari, dkk, 2017). Sampilisia kering diblender dan diayak menggunakan ayakan mesh 20.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Pemilihan pelarut ini karena mampu melarutkan senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid (Andriani&Murtisiwi, 2018). Maserat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (EKDUB) dengan rendemen sebesar 21,63%.

Ekstrak terpurifikasi dibuat dengan cara ekstrak dilarutkan dengan etanol 30% untuk melarutkan semua senyawa polar yang terkandung dalam EKDUB. Proses ekstraksi cair-cair dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana untuk menarik senyawa yang tidak diharapkan seperti lemak, minyak, dan juga (Januarti, dkk, 2019). Fraksi diekstraksi kembali dengan pelarut etil asetat untuk memaksimalkan mengambil senyawa fenolik tanpa adanya senyawa gula (Puspitasari, dkk, 2015). Fraksi etil asetat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental (ETDUB) dengan rendemen sebesar 7,24%.

Tahap skrining fitokimia merupakan tahap awal untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Hasil uji skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder pada EKDUB dan ETDUB yang diperoleh cenderung sama. Hal ini dapat dikarenakan pada tahap ekstraksi, pemisahan belum maksimal. Senyawa fenolik alami pada tumbuhan berupa polifenol yang membentuk senyawa eter, ester maupun glikosida (Dhurhania, 2018). Glikosida merupakan suatu gabungan antara glikon (gula) dan aglikon (bukan gula). Senyawa glikon cenderung bersifat polar sedangkan aglikon bersifat nonpolar. Proses ekstraksi yang kurang maksimal mengakibatkan proses pemisahan glikon dari aglikon menjadi kurang maksimal. Oleh karena itu, pada ETDUB masih mengandung senyawa steroid yang bersifat nonpolar.

Penetapan kadar fenolik total diawali dengan mengukur operating time asam galat sebagai standar baku yang bereaksi dengan reagen Folin Ciocalteu membentuk kompleks molybdenum-tungsten yang berwarna biru. Kadar fenolik total pada ETDUB diperoleh hasil

lebih tinggi jika dibandingkan dengan EKDUB. Hal ini menunjukkan bahwa pada ETDUB mengandung senyawa fenolik total lebih tinggi jika dibandingkan pada EKDUB karena pada ETDUB telah mengalami proses purifikasi.

Penetapan efektivitas penurunan kadar glukosa diawali dengan pengukuran operating time dan panjang gelombang maksimal standar glukosa dengan reagen Nelson Somogyi membentuk kompleks molybdenum yang berwarna biru kehijauan. Pada penelitian (Al-kayyis dan Susanti, 2016), diperoleh hasil bahwa metode Nelson Somogyi memiliki hasil recovery, LOD, LOQ serta nilai RSD yang lebih baik dibandingkan metode Anthrone-Sulfat dalam menganalisis kadar gula pereduksi.

Nilai EC50 berdasarkan data tabel 5 menunjukkan bahwa EKDUB mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa 50% pada konsentrasi 22,73 ppm sedangkan ETDUB mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa 50% pada konsentrasi 18,34 ppm. Semakin kecil nilai EC50 maka semakin besar kemampuan ekstrak untuk menurunkan kadar glukosa. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ETDUB mempunyai kemampuan menurunkan kadar glukosa lebih baik jika dibandingkan dengan EKDUB. Hal ini dikarenakan pada ETDUB senyawa metabolit yang terkandung lebih murni dan tidak dipengaruhi komponen lain, misalnya klorofil, resin, lipid.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa kadar fenolik total EKDUB sebesar 49,908 mg GAE/g sampel sedangkan kadar fenolik total ETDUB lebih tinggi yaitu 58,815 mg GAE/g sampel. Nilai EC50 EKDUB sebesar 22,73 ppm dan nilai EC50 ETDUB 18,34 ppm. ETDUB mempunyai kemampuan lebih baik dalam aktivitas penurunan kadar glukosa jika dibandingkan dengan EKDUB.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-kayyis dan Susanti. (2016, November). Perbandingan Metode Somogyi-Nelson Dan Anthrone-Sulfat Pada Penetapan Kadar Gula Pereduksi Dalam Umbi Cilembu (*Ipomea batatas L.*). Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas, Vol. 13 No. 2(p-ISSN: 1693-5683; e-ISSN: 2527-7146), 81-89.
- Andriani&Murtisiwi. (2018). Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Bunga Telang (*clitoria ternatea l.*) Dengan Spektrofotometri uv vis. Cendekia Journal of Pharmacy, Vol. 2, No. 1, Mei 2018(E-ISSN 2599 – 2155), 32-38.
- Anggraini dan Damayanti. (2019, Juli). Studi Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Etanol Kubis (*Brassica oleracea L.*) Dan Tomat (*Solanum lycopersicum L.*) Secara In Vitro. As-Syifaa Jurnal Farmasi(ISSN : 2085-4714), 30-37.
- Aprilia, dkk. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi N-heksana, Etil Asetat, dan Air Daun Bit (*Beta vulgaris L.*) Terhadap Bakteri Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Sukoharjo: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Nasional.
- Aribowo, dkk. (2021, Juni). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Tanaman. Jurnal Health Sains, Vol. 2, No. 6, Juni 2021(p-ISSN: 2723-4339 e-ISSN: 2548-1398), 6.
- Ayoola,dkk. (2008). Phytochemical Screening and Antioxidant Activitiesof Some Selected Medicinal Plants Used for MalariaTherapy in Southwestern Nigeria. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 1019-1024.

- Dhurhania, A. N. (2018, Desember). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*). Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, Volume 5(E-ISSN: 2580-8303), No. 2.
- Hepni. (2019, Desember). Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Kumak (*Lactuca indica L.*). Jurnal Dunia Farmasi, Volume 4, No.1, Desember 2019, 17-22.
- Hilma, dkk. (2020, Februari). Pengukuran Total Fenolik, Flavonoid, Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Katemas (*Euphorbia heterophylla, L.*) Secara In Vitro dan In Silico Melalui Inhibisi Enzim α -Glukosidase. Vol. 16(2) 2020, (ISSN 1412-4092, e-ISSN 2443-4183), 240-249. doi:DOI: 10.20961/alchemy.16.2.40087.240-249
- Januarti, dkk. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav*) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research, 60-68.
- Maraie, dkk. (2014). Phytochemical Study Of The Iraqi Beta Vulgaris Leaves And Its Clinical Applications For The treatment Of Different Dermatological Diseases. World Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences, Volume 33, Issue 88, 05-19 (ISSN 2278 – 4357), 05-19.
- Martono, dkk. (2019). Fractionation and determination of phenolic and flavonoid compound from *Moringa oleifera* leaves. IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series 1307 (2019) 012014 (p. 1307). Salatiga: IOP Publishing Ltd.
- Pichaya Chowtivannakul, dkk. (2016). Antidiabetic and antioxidant activities of seed extract from *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Agriculture and Natural Resources, 50 (2016) , 357-361.
- Puspitasari, dkk. (2015). Comparison Of Methods Of Producing Bee Propolis Purified extract Based On Total Flavonoid Content Using Rutin As Standard. Traditional Medicine Journal, Vol. 20(2), p 76-81 (ISSN : 1410-5918), 76-81.
- Ramadhani, dkk. (2021). Perbandingan Aktivitas Penurunan Glukosa Pada Ekstrak Dan Nano Ekstrak Daun Insulin (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode In Vitro. Journal of Research in Pharmacy, Vol 1(2) : 28-36, Tahun 2021 (e-ISSN : 2774-9967), : 28-36.
- Widowati, W. (2008). Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. Maranatha Journal of Medicine and Health, Vol.7 No.2 Februari 2008:, 1-11.
- Widyaningtiast, dkk. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. Jurnal Farmasi Udayana (ISSN 2622-4607), 50-53.
- Yuliantari, dkk. (2017). Pengaruh Suhu dan Waktu Ekstraksi Terhadap Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Menggunakan Ultrasonik. Media Ilmiah Teknologi Pangan (Scientific Journal of Food Technology), Vol.4, No.1, 35-42, Maret 2017 (SSN:2477-2739 (ejournal)), 35-42.