



Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) secara In Vitro

*In Vitro Determination of Antioxidant and Antidiabetic Activity of Matoa Leaf Extract (*Pometia pinnata* J. R. Forst. & G. Forst.)*

Lestyowulandari*, Ari Satia Nugraha, dan Ulfa Aliyatul Himmah

Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia

*E-mail: lestyowulandari@unej.ac.id

Kata kunci:
Daun matoa;
Ekstraksi; DPPH; -
amilase.

Keywords:
Matoa leaves;
Extraction; DPPH;
-amilase

Received:
11-05-2020
Revised:
16-11-2020
Accepted:
06-05-2021

Jurnal Kefarmasian
Indonesia,
2021;11(2):132-141

DOI:
<https://doi.org/10.22435/jki.v11i2.3196>

Abstrak

Matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional pada penyakit diabetes melitus akibat terjadinya ketidakseimbangan antara jumlah *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan di dalam tubuh. Oleh karena itu dilakukan penelitian secara *in vitro* untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antidiabetes pada ekstrak daun matoa. Ekstraksi daun matoa dilakukan menggunakan metode ultrasonikasi selama 30 menit dengan pelarut metanol, etanol, dan etil asetat. Aktivitas antioksidan diamati melalui hambatan radikal bebas DPPH, sedangkan potensi antidiabetes diukur melalui penghambatan kerja enzim -amilase. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya metabolit sekunder berupa flavonoid, polifenol, tanin, alkaloid dan terpenoid. Hasil penelitian ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat daun matoa menunjukkan adanya aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai IC_{50} berturut-turut sebesar $6,416 \pm 0,176$ ppm, $8,622 \pm 0,066$ ppm, dan $170,637 \pm 4,441$ ppm, namun masih kurang potensial dibandingkan vitamin C sebagai pembanding yaitu sebesar $1,646 \pm 0,015$ ppm. Penghambatan enzim -amilase menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $91,037 \pm 0,750$ ppm, $105,166 \pm 2,423$ ppm, dan $785,436 \pm 11,740$ ppm pada masing-masing ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat, sedangkan nilai IC_{50} akarbose sebagai pembanding adalah sebesar $23,479 \pm 0,347$ ppm. Analisis data statistika korelasi *pearson* menunjukkan adanya korelasi atau hubungan yang positif antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun matoa yang dilihat dari nilai R yaitu sebesar 0,998. Semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka potensi hambatan terhadap enzim -amilase juga semakin tinggi.

Abstract

Matoa (Pometia pinnata J.R. Forst. & G. Forst.) Matoa (Pometia pinnata J.R. Forst. & G. Forst.) is one of the plants that is used as a traditional medicine for diabetes mellitus due to an imbalance between the amount of ROS and antioxidants in the body. Therefore, it was carried out in vitro to see the antioxidant and antidiabetic activity in matoa leaf extract. The extraction of matoa leaves was carried out using the ultrasonication method for 30 minutes with methanol, ethanol, and ethyl acetate as solvents. Antioxidant activity is release through DPPH free radical inhibition, through the antidiabetic potential released by inhibiting the work of the -amylase enzyme. Phytochemical test results showed the presence of secondary metabolites in the form of flavonoids, polyphenols, tannins, alkaloids, and terpenoids. The results of the research on methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts of matoa leaves showed high antioxidant activity with IC_{50} values of 6.416 ± 0.176 ppm, 8.622 ± 0.066 ppm, and 170.637 ± 4.441 ppm, respectively, but they were less potent than vitamin C as a comparison which is 1.646 ± 0.015 ppm. Inhibition of the -amylase enzyme showed IC_{50} values of 91.037 ± 0.750 ppm, $105,166 \pm 2,423$ ppm, and $785,436 \pm 11,740$ ppm in each of the methanol, ethanol, and ethyl acetate extracts while the IC_{50} value of acarbose as a comparison was $23,479 \pm 0.347$ ppm. The statistical data analysis of Pearson correlation showed that it had a positive relationship between the antioxidant and antidiabetic activity of matoa leaf extract as seen from the R-value of 0.998. The higher antioxidant activity, so the higher potential for inhibition of -amylase enzyme.

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula dalam darah sebagai akibat dari tubuh yang kekurangan insulin. Penyakit ini sering disebut sebagai penyakit kronis progresif dan penyebab utama kematian secara global setelah penyakit kardiovaskular. Menurut data dari *Internationale Diabetes Federation* (IDF), jumlah penderita DM pada tahun 2017 telah mencapai 425 juta jiwa yang diperkirakan akan mengalami peningkatan sejumlah 629 juta jiwa pada tahun 2045. Indonesia berada pada posisi ketujuh setelah negara India, Cina, Amerika Serikat, Meksiko, Brazil dan Rusia.¹

Salah satu penyebab utama terjadinya kondisi diabetes adalah adanya oksidan (radikal bebas) yang dihasilkan dari pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) sehingga penderita diabetes memerlukan asupan antioksidan dalam jumlah besar untuk dapat menangkal radikal tersebut.² Adanya perpaduan antara antioksidan dan inhibitor enzim α -amilase diharapkan dapat memberikan efek farmakologis yang sinergis. Enzim α -amilase memiliki peranan penting dalam pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida hingga siap untuk diabsorpsi. Penghambatan oleh enzim ini dapat menunda serta memperlama waktu cerna karbohidrat, sehingga laju absorpsi glukosa dan peningkatan kadar plasma glukosa postprandial akibat resistensi insulin dan kerusakan sel β -pankreas dapat dicegah.³

Matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) yang merupakan tanaman dari famili Sapindaceae telah banyak digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat etnis tertentu sebagai antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, antivirus terhadap HIV-1N, dan antioksidan.^{4,5,6} Hasil penelitian menunjukkan daun matoa mengandung senyawa golongan flavonoid, tanin, polifenol, alkaloid dan terpenoid.⁷ Senyawa organik yang terisolasi dari daun matoa adalah golongan flavon (auron).⁸ Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan

untuk menentukan aktivitas antioksidan dan antidiabetes dari masing-masing ekstrak daun matoa melalui metode DPPH dan hambatan kerja enzim α -amilase dengan senyawa pembanding berupa vitamin C dan akarbosa.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan adalah timbangan digital, pH meter, ultrasonik, kertas saring, mikropipet (*Socorex*), *disposable cuvette*, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800) dan seperangkat alat gelas terstandar.

Bahan utama yang digunakan adalah daun matoa yang didapatkan dari Desa Sarimulyo, Banyuwangi, Jawa Timur metanol (Brataco, Indonesia), etanol 96% (Brataco, Indonesia), etil asetat (Brataco, Indonesia), DPPH (Sigma-Aldrich, USA), Vitamin C (Sigma-Aldrich, USA), dapar fosfat pH 6,9 NaOH (Merck KGaA, Jerman), enzim α -amilase (Sigma-Aldrich, USA), Na_2HPO_4 (Merck KGaA, USA), NaH_2PO_4 (Merck KGaA, USA), $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Pudak, Indonesia), substrat pati kentang (Merck KGaA, Jerman), Akarbosa (Sigma-Aldrich, USA), 3,5-dinitrosalisilat (Sigma-Aldrich, USA), akuabides steril (Ikapharmindo Putramas, Indonesia).

Prosedur Kerja

Penyiapan sampel

Bagian daun matoa yang berwarna hijau tua dengan tekstur yang tidak terlalu keras dikumpulkan, dibersihkan, dirajang dan dikeringkan. Setelah kering kemudian digiling dan diayak dengan mesh ukuran 20 agar diperoleh hasil serbuk yang seragam. Serbuk ditimbang sejumlah 0,4 g, dilarutkan masing-masingnya ke dalam 10 mL pelarut (metanol, etanol, dan etil asetat), kemudian diultrasonikasi selama 30 menit dan didiamkan selama 24 jam pada suhu ruang. Ekstrak diencerkan

menjadi beberapa konsentrasi untuk penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes.

Skrining fitokimia

Identifikasi senyawa polifenol

Ekstrak ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dieluasi dengan pelarut toluen, aseton, dan asam format dengan perbandingan 6:6:1, kemudian disemprot dengan penampak noda FeCl_3 . Adanya kandungan polifenol ditandai dengan timbulnya noda berwarna abu-abu kehitaman⁹

Identifikasi senyawa flavonoid

Sampel ditotolkan pada lempeng KLT kemudian dieluasi dengan butanol, asam asetat glasial, air, dan metanol dengan rasio 4:1:5:1, kemudian disemprot dengan sitroborat. Adanya kandungan flavonoid ditandai dengan timbulnya noda berwarna kuning intensif.⁹

Identifikasi senyawa terpenoid

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan beberapa tetes etanol, diaduk sampai larut dan ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dieluasi dengan heksana-etil asetat (4:1), disemprot dengan anisaldehyda asam sulfat, dan dipanaskan pada suhu 105°C selama 5-10 menit. Adanya kandungan terpenoid ditandai dengan timbulnya warna ungu.⁹

Identifikasi senyawa alkaloid

Ekstrak ditotolkan pada lempeng dan dieluasi dengan etil asetat, metanol, dan air dengan rasio 9:2:2, kemudian disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Adanya kandungan alkaloid ditandai dengan timbulnya warna jingga kecoklatan.¹⁰

Identifikasi senyawa tanin

Ekstrak ditambahkan dengan FeCl_3 . Perubahan warna hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.⁹

Penentuan aktivitas antioksidan

Pembuatan reagen DPPH

Sebanyak 2 mg DPPH dilarutkan

dengan metanol dalam labu ukur 50 mL untuk mendapatkan larutan dengan konsentrasi 0,1 mM atau 40 ppm.¹¹

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Sebanyak 1,2 mL larutan DPPH 0,1 mM dan 0,3 mL metanol dicampur dan dihomogenkan dalam kuvet, kemudian didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan spektrofotometer Uv-Vis pada panjang gelombang 400-600 nm.¹²

Pembuatan larutan uji sampel

Larutan uji dari konsentrasi 40.000 ppm dilakukan pengenceran hingga didapatkan konsentrasi 10-100 ppm (seri konsentrasi sampel ekstrak metanol dan etanol) dan 100-1000 ppm (seri konsentrasi sampel ekstrak etil asetat), sesuai dengan hasil optimasi.

Pembuatan larutan pembanding vitamin C

Sebanyak 20 mg vitamin C dilarutkan ke dalam 10 mL metanol sehingga didapatkan konsentrasi 2000 ppm, kemudian larutan dipipet sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL untuk mendapatkan konsentrasi larutan pembanding 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 ppm.

Penentuan aktivitas antioksidan

Larutan uji ekstrak dan vitamin C pada masing-masing konsentrasi dipipet sejumlah 0,3 mL dan ditambahkan 1,2 mL DPPH 0,1 mM, kemudian didiamkan selama 20 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang 514 nm.

Pengukuran aktivitas penghambatan dapat ditentukan dari % inhibisi dan IC_{50} melalui rumus berikut:

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

Nilai IC_{50} dihitung masing-masing menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = a + bx$, dimana IC_{50} sebagai sumbu x dan % inhibisi 50 sebagai sumbu y.¹¹

Penentuan aktivitas antidiabetes

Pembuatan reagen DNS (Asam 3,5 dinitrosalisilat)

Sejumlah 30 g kalium natrium tartrat dilarutkan dalam 20 mL NaOH 2 M, kemudian dipanaskan dan diaduk. Secara terpisah, sejumlah 1,095 g DNS dilarutkan ke dalam labu ukur 50 mL. Kedua larutan dicampur dan ditambahkan akuabides hingga 100 mL.¹³

Pembuatan larutan uji sampel

Larutan uji dari konsentrasi 40.000 ppm dilakukan pengenceran hingga didapatkan konsentrasi 400-1100 ppm (seri konsentrasi sampel ekstrak metanol), 500-1200 ppm (seri konsentrasi sampel ekstrak etanol), dan 4000-11000 ppm (seri konsentrasi sampel ekstrak etil asetat), sesuai dengan hasil optimasi.

Pembuatan larutan pembanding akarbosa

Sebanyak 5 mg akarbosa dilarutkan ke dalam 10 mL larutan dapar, kemudian diencerkan hingga didapat seri konsentrasi 100, 125, 150, 175, 200, 225, 250, 275, 300 dan 325 ppm.

Pembuatan substrat pati 0,5%

Sebanyak 0,05 g pati dilarutkan dalam 10 mL larutan dapar fosfat pH 6,9 kemudian dipanaskan diatas hot plate pada suhu 100°C hingga substrat jernih.¹³

Pembuatan enzim -amilase 0,5 U/mL

Sebanyak 20 mg enzim dilarutkan dengan 10 mL larutan dapar fosfat pH 6,9 sehingga didapatkan konsentrasi 20 U/mL. Sejumlah 25 µL larutan direaksikan dengan inhibitor, substrat, dan DNS untuk mendapatkan konsentrasi 0,5 U/mL yang merupakan hasil optimasi.¹³

Penentuan aktivitas hambatan enzim -amilase didasarkan pada jumlah gula pereduksi yang dihasilkan dari hidrolisis pati dengan metode penambahan DNS.¹⁴ Sejumlah 100 µL inhibitor (ekstrak uji dari masing-masing pelarut dan akarbosa) dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dapar serta enzim, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C. Selanjutnya ditambahkan pati 100

µL dan diinkubasi kembali pada waktu dan suhu yang sama. Reaksi dihentikan dengan penambahan DNS 400 µL dan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang 540 nm, sesuai hasil optimasi sebelumnya.¹³ Persen inhibisi enzim -amilase dihitung dengan cara membandingkan serapan sampel sebelum penambahan ekstrak dengan setelah penambahan ekstrak.¹⁵

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi uji}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai IC₅₀ dihitung masing-masing menggunakan rumus persamaan regresi linier $y = a + bx$, dimana IC₅₀ sebagai sumbu x dan % inhibisi 50 sebagai sumbu y.

Analisis data

Uji statistik dilakukan menggunakan *one way ANOVA* (p 0,05) dengan melihat normalitas melalui uji *Shapiro-wilk* (p>0,05) dan uji homogenitas (p>0,05), kemudian dilakukan uji LSD untuk mengetahui perbedaan antar kelompok uji. Hubungan antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes diuji dengan korelasi *pearson* berdasarkan rumusan hipotesis berikut:^{16,17}

Ho: tidak ada hubungan antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes secara signifikan

Ha: ada hubungan antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes secara signifikan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan adalah ultrasonikasi dengan menggunakan pelarut metanol, etanol, dan etil asetat berdasarkan perbedaan tingkat kepolaran. Metode ultrasonikasi memiliki keuntungan yang dapat mempercepat waktu ekstraksi, memberikan efisiensi lebih besar dan memberikan laju perpindahan masa yang lebih cepat.¹⁸ Hasil ekstraksi selanjutnya digunakan untuk penetapan fitokimia, penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes. Penggunaan ekstrak cair dikarenakan memiliki keuntungan jika dibandingkan dengan ekstrak kental dan

kering, yaitu lebih praktis, ekonomis, dan dapat menghindari terjadinya kerusakan metabolit akibat panas pada saat proses rotary evaporator.¹⁹

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui atau memberikan gambaran terkait kandungan senyawa yang ada dalam suatu simplisia. Pada penelitian sebelumnya ekstrak daun matoa dengan pelarut etanol, n-heksana, dan etil asetat memiliki kandungan berupa senyawa flavonoid, polifenol, alkaloid, terpenoid, steroid, tanin dan saponin.²⁰ Skrining tersebut sejalan dengan penelitian ini, dimana ekstrak daun matoa dengan pelarut metanol, etanol, dan etil asetat menunjukkan adanya kandungan senyawa

berupa flavonoid, polifenol, terpenoid, alkaloid dan tanin, yang disajikan pada Tabel 1. Akan tetapi kandungan alkaloid dalam ekstrak etil asetat tidak terdeteksi, yang dimungkinkan terdapat senyawa alkaloid golongan tertentu yang tidak terekstrak atau kadarnya terlalu kecil sehingga tidak mampu memberikan respon dalam bioaktivitas antioksidan.⁹

Metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan adalah metode DPPH, dikarenakan analisis yang digunakan cepat, sederhana, praktis, akurat dan memerlukan sedikit sampel.²² Pengukuran DPPH 0,1 mM dilakukan pada panjang gelombang 514 nm, sesuai

panjang gelombang teoritis DPPH, yaitu antara 514-520 nm.^{20,21}

Besarnya aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ pada masing-masing ekstrak metanol, etanol, etil asetat daun matoa dan vitamin C sebagai pembanding (Tabel 2). Kekuatan aktivitas antioksidan tersebut dapat dikelompokkan berdasarkan tingkat potensinya, dimana vitamin C, ekstrak metanol, dan etanol daun matoa tergolong sangat aktif dengan nilai IC₅₀ <50 ppm, sedangkan ekstrak etil asetat tergolong memiliki antioksidan yang sedang dengan nilai IC₅₀ antara 101-250 ppm.¹¹

Aktivitas antioksidan terjadi melalui reaksi radikal DPPH dengan atom hidrogen yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning.²² Antioksidan alami dapat ditemukan pada tanaman matoa, salah satunya yaitu senyawa fenolik atau polifenol berupa flavonoid yang bersifat polar sehingga ekstrak metanol dan etanol daun matoa mempunyai potensi antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Hal ini terjadi karena etil asetat merupakan pelarut semipolar yang mampu menarik sebagian besar senyawa metabolit, baik senyawa polar maupun semipolar. Selain itu dimungkinkan terdapat faktor lain seperti efek sinergis antar senyawa fenolik

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia ekstrak daun matoa

Golongan senyawa	Metode uji	Penampak noda	Hasil uji			Keterangan (hasil positif)
			Metanol	Etanol	Etil asetat	
Tanin	FeCl ₃	-	++	++	+	Noda hitam kehijauan. ⁹
Polifenol	KLT	FeCl ₃	++	++	+	Noda berwarna abu-abu kehitaman. ⁹
Alkaloid	KLT	Dragendorf	+	+	-	Noda berwarna coklat atau jingga kecoklatan. ¹⁰
Flavonoid	KLT	Sitroborat (dipanaskan)	++	++	+	Noda berwarna kuning. ⁹
Terpenoid	KLT	Anisaldehyd asam sulfat (dipanaskan)	++	++	++	Noda berwarna ungu. ⁹

Keterangan: mengandung senyawa (++) Terlihat jelas; (+) Terlihat samar; (-) Tidak terlihat

dengan senyawa lain yang dapat memengaruhi perubahan bentuk kimia, struktural, dan fungsional dari aktivitas antiradikal flavonoid, namun potensi tersebut masih lebih rendah dibandingkan vitamin C sebagai pembandingnya.^{23,24}

Penentuan aktivitas antidiabetes ekstrak daun matoa dilakukan menggunakan metode penghambatan enzim α -amilase dengan penambahan reagen DNS (Asam 3,5 dinitrosalisilat) yang mampu memecah pati menjadi gula sederhana seperti glukosa dan maltosa. Pengukuran aktivitas antidiabetes dilakukan pada panjang gelombang 540 nm dengan jumlah masing-masing larutan sesuai pada Tabel 3. Terdapat reaksi antara DNS dengan gula reduksi dalam suasana basa suhu 90-100°C. Reaksi ini merupakan reaksi redoks pada gugus aldehid gula yang tereduksi

menjadi gugus karboksil. Asam 3,5 dinitrosalisilat yang bertindak sebagai oksidator akan direduksi oleh gula pereduksi atau komponen pereduksi lainnya seperti glukosa menjadi 3-amino-5-nitrosalisilat. Semakin tinggi kadar gula pereduksi yang terdapat dalam sampel, maka semakin banyak molekul asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang terbentuk, sehingga absorbansi sampel akan semakin tinggi, dan aktivitas hambatan enzim α -amilase semakin kecil. Hal ini yang menyebabkan larutan yang awalnya berwarna kuning berubah menjadi warna jingga kemerahan. Faktor koreksi blanko dan sampel juga dilakukan untuk memastikan bahwa natrium karbonat sudah mampu menghambat kerja enzim secara keseluruhan.²⁵

Tabel 2. Hasil aktivitas antioksidan ekstrak daun matoa

Sampel	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata IC ₅₀ ± SD (ppm)	CV (%)
Ekstrak Metanol	6,41	6,42±0,18	2,74
	6,59		
	6,24		
Ekstrak Etanol	8,55	8,62±0,07	0,76
	8,65		
	8,67		
Ekstrak Etil Asetat	170,49	170,64±4,44	2,60
	166,27		
	175,15		
Vitamin C	1,64	1,65±0,02	0,91
	1,66		

Tabel 3. Volume larutan uji aktivitas antidiabetes

Sampel	Volume Larutan (µL)				
	Dapar	Ekstrak	Enzim	Akarbosa	DNS
Larutan ekstrak	375	100	25	-	400
Blanko larutan ekstrak	400	100	-	-	400
Larutan akarbosa	375	-	25	100	400
Blanko akarbosa	400	-	-	100	400
Kontrol negatif	475	-	25	-	400
Blanko kontrol negatif	500	-	-	-	400

Tabel 4. Hasil aktivitas antidiabetes ekstrak daun matoa

Larutan Uji	IC ₅₀ (ppm)	Rata-rata IC ₅₀ ± SD (ppm)	CV (%)
Ekstrak metanol	90,38	91,04±0,75	1,48
	91,85		
	90,88		
Ekstrak etanol	105,90	105,17±2,42	0,82
	107,14		
	102,46		
Ekstrak etil asetat	773,08	785,44±11,74	2,30
	786,79		
	796,44		
Akarbosa	23,71	23,48±0,35	1,49
	23,08		
	23,64		

Besarnya aktivitas antidiabetes ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ pada masing-masing ekstrak metanol, etanol, etil asetat daun matoa dan akarbosa sebagai pembanding (Tabel 4). Semakin besar konsentrasi pengenceran ekstrak maka semakin besar nilai hambatan -amilase sehingga jika semakin besar nilai IC₅₀ yang didapatkan maka kemampuan dalam menghambat enzim -amilase akan semakin kecil.¹⁴ Adanya perbedaan antara IC₅₀ ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat disebabkan oleh senyawa yang dapat berperan sebagai antidiabetes berdasarkan hasil skrining fitokimia, dimana senyawa dari golongan polifenol, flavonoid, dan tanin lebih mudah larut dalam pelarut polar seperti metanol dan etanol dibandingkan pelarut etil asetat.

IC₅₀ dari masing-masing ekstrak daun matoa lebih besar dibandingkan dengan standar akarbosa. Hal ini dikarenakan akarbosa merupakan senyawa murni yang telah terbukti memiliki aktivitas hambatan enzim -amilase yang sangat kuat dibandingkan dengan ekstrak daun matoa, yang didalamnya masih terdapat golongan senyawa lain. Mekanisme penghambatan akarbosa termasuk ke dalam inhibitor kompetitif, dimana cincin *pseudosugar* dan ikatan nitrogen glikosidik dapat meniru keadaan transisi saat pemutusan reaksi enzimatis.³

Senyawa polifenol memiliki potensi sebagai antidiabetes dalam meningkatkan

sekresi GLP-1 yang secara tidak langsung dapat merangsang pulau langerhans dalam meregenerasi sel.²⁶ Flavonoid juga dapat meningkatkan kapasitas antioksidan sel melalui reaksi enzimatik dan nonenzimatik dengan cara menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan *Cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) pada sel -pankreas. Proses oksidasi yang terhambat tersebut akan mencegah terjadinya pembentukan ROS dan peroksidasi lipid yang dapat menyebabkan apoptosis dan nekroptosis sehingga sel dapat menjalankan fungsi fisiologisnya secara normal dalam proses produksi insulin dan penurunan kadar glukosa darah.²⁷

Pada analisa data statistika yang dilakukan menggunakan SPSS 22 menyatakan bahwa nilai IC₅₀ dari masing-masing aktivitas antioksidan dan antidiabetes terdistribusi secara normal dan homogen dengan nilai sig >0,05.^{16,17} Sedangkan hasil *one way* ANOVA terkait penggunaan pelarut yang berbeda dari ekstrak daun matoa dengan standar vitamin C (aktivitas antioksidan) dan akarbosa (aktivitas antidiabetes) menurut taraf kepercayaan 95% menunjukkan nilai sig <0,05. Selanjutnya untuk korelasi *pearson* antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes (Tabel 5) menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna atau sangat realiable, dilihat dari jumlah sampel atau N sebesar 12 dengan nilai sig 2.tailed 0,05 dan koefisien korelasinya (p = 0,000

Tabel 5. Hasil korelasi *pearson* aktivitas antioksidan dan antidiabetes

		IC ₅₀ Antioksidan	IC ₅₀ Antidiabetes
IC ₅₀ Antioksidan	Pearson Correlation	1	0,998
	sig. (2-tailed)		0,000
	N	12	12
IC ₅₀ Antidiabetes	Pearson Correlation	0,998	1
	sig. (2-tailed)	0,000	
	N	12	12

Tabel 6. Hasil koefisien regresi aktivitas antioksidan dan antidiabetes

Model	Koefisien		Beta	t	Sig.
	B	Std.error			
IC ₅₀ Antioksidan	56,493	64,232		0,880	0,400
	2,921	0,751	0,776	3,889	0,003

*Dependent variable: IC₅₀ Antidiabetes

0,05 dan R = 0,998), selain itu jika dilihat berdasarkan koefisien garis regresi (Tabel 6) maka nilai $t_{hitung} > t_{tabel}$ ($t_{hitung} = 3,889 > t_{tabel} = 0,602$), sehingga Ho pada hipotesis penelitian ditolak dan Ha diterima atau dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan yang positif dari rerata IC₅₀ keduanya.²⁸

Berdasarkan hasil diatas, dapat dinyatakan bahwa semakin besar kemampuan daya hambat radikal bebas (oksidan) maka semakin besar peningkatan daya hambat terhadap enzim -amilase pada pankreas manusia sehingga diharapkan dari ekstrak yang diuji dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah, khususnya pada penderita diabetes melitus tipe 2.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol, etanol, dan etil asetat daun matoa memiliki potensi sebagai antioksidan dan antidiabetes dikarenakan adanya metabolit sekunder berupa flavonoid, polifenol, tanin, alkaloid dan terpenoid. Berdasarkan analisis data korelasi *pearson* menunjukkan adanya hubungan yang positif antara aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun matoa yang dilihat dari nilai R yaitu sebesar 0,998. Semakin tinggi aktivitas antioksidan, maka potensi hambatan terhadap enzim -amilase juga semakin tinggi.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut terkait fraksinasi dan karakteristik senyawa yang lebih spesifik dari ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.)

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Jember serta kelompok riset pharmaceutical Analysis and chemometrics atas sarana, prasarana, dan kerjasamanya sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik dan lancar.

DAFTAR RUJUKAN

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 8th ed. Brussel Belgium: International Diabetes Federation; 2017.
2. Widowati W, Maesaroh, Fauziah N, Putu Erawijantari PP, Sandra F. Free radical scavenging and alpha/beta-glucosidases inhibitory activities of rambutan (*Nephelium lappaceum* L.) peel extract. The Indonesian Biomedical Journal. 2015;7(3):157–62. doi: 10.18585/inabj.v7i3.180
3. Sales PM, Souza PM, Simeoni LA, Silveira D. -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences 2012; 15(1):141–83. doi:10.18433/j35s3k

4. Suedee A, Tewtrakul S, Panichayupakaranant P. Anti-HIV-1 integrase compound from *Pometia pinnata* leaves. *Pharmaceutical Biology*. 2013;51(10):1256–61. doi:10.3109/13880209.2013.786098
5. Pratiwi N, Sutanto, Sri W. Perbandingan metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata*). Bogor: Universitas Pakuan; 2016. p 445-8.
6. Martiningsih NW, Widana GAB, Kristiyanti PLP. Srinings fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun matoa (*Pometia pinnata*) dengan metode DPPH. *Prosiding Seminar Nasional Fakultas Matematika dan Ilmu Pendidikan Alam Universitas Pendidikan Ganesha Press*; 2016. 332–8.
7. Lely N, Ayu AM, Adrimas. Efektivitas beberapa fraksi daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) sebagai antimikroba. *Jurnal Ilmiah Bakti Farmasi*. 2016;1(1):51–9.
8. Rahimah, Sayekti E, Jayuska A. Karakterisasi senyawa flavonoid hasil isolat dari fraksi etil asetat daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst & G. Forst). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2013;2(2):84–9.
9. Harborne JB. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisa tumbuhan. Cetakan II. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
10. Wagner, H, Bladt S, Zgainski EM. Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas. Cetakan II. Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 1996.
11. Sinala S, Dewi STR. Penentuan aktivitas antioksidan secara in vitro dari ekstrak etanol propolis dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Media Farmasi*. April 2019;XV(1):1-6. doi: 10.32382/mf.v15i1.820
12. Pamungkas DK, Retnaningtyas Y, Wulandari L. Pengujian aktivitas antioksidan kombinasi ekstrak metanol daun mangga gadung (*Mangifera indica* L.var. gadung) dan ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.). *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2017;5(1):46–9. doi: 10.19184/pk.v5i1.3949
13. Khairunnisa P. Pengembangan dan validasi metode uji aktivitas inhibitor -amilase dari ekstrak metanol daun kopi secara in vitro. Jember: Universitas Jember; 2017. p 45-52.
14. Pujiyanto S, Wijanarka W, Raharja B, Anggraeni V. Aktivitas inhibitor -amilase ekstrak etanol tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*. 2019;21(2):91–9. doi:10.14710/bioma.21.2.91-99
15. Mangesh AB, Somnath DB, Dheeraj SR, Ganesh HW, Sachin ST. In vitro studies on alpha amylase inhibitory activity of some indigenous plants. *Modern Applications in Pharmacy & Pharmacology*. 2018;1(4):1–5. doi:10.31031/MAPP.2018.01.000518.
16. Machali I. Statistik itu mudah: menggunakan SPSS sebagai alat bantu statistik. Arifin Z, editor. Yogyakarta: Lembaga Ladang Kata; 2015.
17. Muhson A. Pedoman praktikum analisis statistik. Yogyakarta: Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Yogyakarta; 2016.
18. Sahin S, Samli R. Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2013;20(1):595–602. doi:10.1016/j.ultsonch.2012.07.029
19. Hidayat MA, Kuswandi B, Aznam N, Sulistiowaty E. Kimia farmasi. obat sintetik dan obat herbal. Tangerang Selatan: Universitas Terbuka; 2012. 1-44.
20. Kuspradini H, Pasedan WF, Kusuma IW. Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak daun *Pometia pinnata*. *Jurnal Jamu Indonesia*. 2016;1(1):26–34. doi:10.29244/jji.v1i1.5
21. Jamuna S, Paulsamy S, Karthika K. Screening of in vitro antioxidant activity of methanolic leaf and root extracts of *Hypochoeris radicata* L. (asteraceae). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012;2(7):149-54. doi:10.7324/JAPS.2012.2722
22. Wijaya D, Yanti PP, Setya RA, Rizal M. Screening fitokimia dan aktivitas antioksidan daun eceng gondok (*Eichhornia crassipes*). *Jurnal Kimia Valensi*. 2015;1(1):65–9. doi:10.15408/jkv.v0i0.4965
23. Fitri A, Andriani M, Sudarman A, Toharmat T, Yonekurac L, Tamura H, et al. Screening of antioxidant activities and their bioavailability of tropical fruit byproducts from Indonesia. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2016;8(6):96–100.

24. Brunetti C, Di Ferdinando M, Fini A, Pollastri S, Tattini M. Flavonoids as antioxidants and developmental regulators: relative significance in plants and humans. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013;14(2):3540–55. doi:10.3390/ijms14023540.
25. Timerman AP. The isolation of invertase from Baker's yeast: an introduction to protein purification strategies. USA: inTech; 2012. 29-52 p. doi: 10.5772/27543
26. Avila JAD, García JR, Aguilar GAG, Rosa LA. The antidiabetic mechanisms of polyphenols related to increased glucagon-like peptide-1 (GLP1) and insulin signaling. *Molecules*. 2017;22(6):1–16. doi:10.3390/molecules22060903
27. Ghorbani A, Rashidi R, Shafiee RN. Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: a mechanistic review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;111:947–57. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.127
28. Purnomo H, Syamsul ES. *Statistika farmasi (aplikasi praktis dengan SPSS)*. Yogyakarta: Grafitia Indah; 2017.