

Inhibisi Enzim α -Glukosidase pada Senyawa Tectoquinone yang Diisolasi dari *Syzygium oblanceolatum* (C.B.Rob.) Merr

Muhammad Rizki Jaelani¹, Virsa Handayani¹, Ahmad Najib^{1*}

¹Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Sulawesi Selatan

*Corresponding author: ahmad.najib@umi.ac.id

ABSTRACT

Syzygium oblanceolatum (C.B.Rob.) Merr. Has several medicinal benefits, empirically its leaf decoction has been used as an antidiabetic. Several representatives of the *Syzygium* genus have been proposed to possess chemical compounds, nutraceutical values, and biological activities. In particular, previous studies have emphasized the abundance of bioactive chemicals, including flavonoids, phenolic acids, triterpenoids, and volatile compounds. The tectoquinone compound isolated from *Syzygium oblanceolatum* (C.B. Rob.) Merr based on its chemical structure is a substituted anthraquinone, namely 2-methylantraquinone. This study aims to determine the Tectoquinone compound as an α -glucosidase inhibitor and determine the IC_{50} value of the tectoquinone compound. The method of this research was α -glucosidase inhibition test using ELISA reader instrument by measuring the absorbance at the maximum wavelength of 405 nm using akarbosa comparator. The tectoquinone compound is known to have α -glucosidase inhibition activity but still has α -glucosidase enzyme inhibition activity but is in the weak category. The IC_{50} value of the tectoquinone compound by akarbosa comparator of 0.258532 $\mu\text{g/mL}$ is included in the very active category, while the IC_{50} value of the tectoquinone compound of 212.326 $\mu\text{g/mL}$ is included in the inactive or weak category.

Keywords: *Tectoquinone*; *Syzygium oblanceolatum*; α -glucosidase; IC_{50} .

ABSTRAK

Syzygium oblanceolatum (C.B.Rob.) Merr. Memiliki beberapa manfaat dalam pengobatan, secara empiris Rebusan daunnya telah digunakan sebagai antidiabetes. Beberapa perwakilan dari genus *Syzygium* telah diusulkan memiliki senyawa kimia, nilai nutraceutical, dan aktivitas biologis. Secara khusus, penelitian sebelumnya telah menekankan kelimpahan bahan kimia bioaktif, termasuk flavonoid, asam fenolik, triterpenoid, dan senyawa volatil. Senyawa tectoquinone yang diisolasi dari *Syzygium oblanceolatum* (C.B. Rob.) Merr berdasarkan struktur kimianya merupakan antrakuinon tersubstitusi yaitu 2-metilantrakuinon. Penelitian ini bertujuan Untuk mengetahui senyawa Tectoquinone sebagai inhibitor α -glukosidase dan mengetahui nilai IC_{50} senyawa tectoquinone. Metode penelitian ini dilakukan uji inhibisi α -glukosidase menggunakan instrument ELISA *reader* dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimum 405 nm dengan menggunakan pembanding akarbosa. Senyawa tectoquinone diketahui memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase masi memiliki aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase tapi masuk dalam kategori lemah. Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase Nilai IC_{50} dari senyawa tectoquinone sebesar pembanding akarbosa sebesar 0.258532 $\mu\text{g/mL}$ termasuk dalam kategori sangat aktif, sedangkan nilai IC_{50} senyawa tectoquinone sebesar 212.326 $\mu\text{g/mL}$ termasuk kategori tidak aktif atau lemah.

Kata Kunci: *Tectoquinone*; *Syzygium oblanceolatum*; α -glukosidase; IC_{50} .

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].

Salah satu senyawa yang dapat diteliti lebih lanjut yaitu senyawa tectoquinone yang diisolasi dari tumbuhan Jampu Salo (*S. oblanceolatum*, dari Famili Myrtaceae), *Syzygium oblanceolatum* (C.B.Rob.) Merr. Memiliki beberapa manfaat dalam pengobatan, secara empiris Rebusan daunnya telah digunakan sebagai antidiabetes [2]. Dalam beberapa penelitian genus *syzygium* memiliki efek farmakologi seperti antioksidan [3], dan antidiabetes [4].

Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan uji inhibisi α -glukosidase pada senyawa tectoquinone yang di isolasi dari Jampu Salo (*S. oblanceolatum* dari Famili Myrtaceae), yang berpotensi memiliki aktivitas antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah Akarbose, dimetil sulfoksida (DMSO), enzim α -glukosidase yang berasal dari rekombinan *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma Aldrich, USA), dapar fosfat (pH 7,0), natrium karbonat (Sigmaaldrich, USA), p-nitrofenil- α -glukopiranosida (pNPG) (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang), dan Senyawa Tectoquinone.

Metode

Penyiapan larutan uji inhibisi α -glukosidase

Prosedur penyiapan larutan uji berdasarkan penelitian dari Maryam *et al.*, (2020) yang telah dimodifikasi.

Larutan Natrium Karbonat (Na₂CO₃) 200 mM.

Natrium Karbonat ditimbang sebanyak 5,3 g kemudian dilarutkan dalam 250 mL air bebas CO₂ hingga diperoleh konsentrasi 200 mM.

Larutan Akarbosa

Akarbosa ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam 100 mL dapar fosfat (pH 7). Diperoleh larutan konsentrasi 10 ppm. Setelah itu dibuat dalam lima variasi konsentrasi yaitu 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm, dan 1 ppm.

Larutan Senyawa Tectoquinone

Serbuk ditimbang sebanyak 0,7 mg dan dilarutkan dalam 2,5 mL dapar fosfat pH 7 hingga homogen. Diperoleh larutan induk konsentrasi 280 ppm. Setelah itu dibuat dalam lima variasi konsentrasi yaitu 100, 125, 150, 175, dan 200 ppm.

Larutan Substrat p-nitofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 Mm

Larutan substrat dibuat dengan melarutkan 15,062 mg p-nitofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) dan volumenya dicukupkan dengan aqua demineralisata hingga 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 5 mM.

Larutan Enzim α -glukosidase

Larutan induk dibuat dengan Enzim α -glukosidase ditimbang sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam 100 mL dapar fosfat pH 7 (dalam setiap mg terdapat 28 U). kemudian Larutan

Enzim 0,25 U/mL. Larutan induk dipipet 0,089 mL dan volumenya dicukupkan hingga 10 mL dengan dapar fosfat pH 7.

Uji Inhibisi Enzim α -glukosidase

Prosedur uji inhibisi enzim α -glukosidase berdasarkan penelitian dari Maryam *et al.*, (2020) yang telah dimodifikasi.

Pengujian Blanko

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM dipipet 17 μ L dimasukkan kedalam well dan diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 5 menit. Setelah diinkubasi, enzim α -glukosidase dipipet sebanyak 17 μ L ditambahkan kedalam well dan diinkubasi lagi pada waterbath pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM ditambahkan dipipet sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi dan diukur absorbansinya dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm [5].

Pengujian Kontrol Blanko

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM dipipet sebanyak 17 μ L dimasukkan kedalam well, kemudian diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 20 menit. Setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM dipipet sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi. Absorbansinya diukur dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Pengujian Pembanding (Akarbosa)

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dimasukkan kedalam well, kemudian pembanding dengan konsentrasi 0,2 ppm dipipet sebanyak 30 μ L dimasukkan kedalam well,

begitu juga untuk pembandingan dengan konsentrasi 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm, dan 1 ppm. Substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM dipipet sebanyak 17 μ L dan diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 5 menit, setelah diinkubasi enzim α -glukosidase dipipet sebanyak 17 μ L pada masing-masing well dan diinkubasi lagi pada waterbath pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM dipipet sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Pengujian Kontrol Pembandingan

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dimasukkan kedalam well, kemudian pembandingan dengan konsentrasi 0,2 ppm dipipet sebanyak 30 μ L dimasukkan kedalam well, begitu juga untuk pembandingan dengan konsentrasi 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm, dan 1 ppm. Substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM dipipet sebanyak 17 μ L dan diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 20 menit. Setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM dipipet sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Pengujian Sampel (Senyawa Tectoquinone)

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dimasukkan kedalam well, kemudian Senyawa tectoquinone dengan konsentrasi 100 ppm sebanyak 30 μ L dipipet kedalam well, begitu juga untuk larutan senyawa tectoquinone konsentrasi 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, dan 200 ppm. Dipipet substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM sebanyak 17 μ L dan diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 5 menit, setelah diinkubasi, enzim α -glukosidase dipipet sebanyak 17 μ L pada masing-masing well dan diinkubasi lagi pada waterbath pada suhu 37°C selama 15 menit. Setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM dipipet

sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm

Pengujian Kontrol Sampel

Larutan dapar fosfat (pH 7) dipipet sebanyak 36 μ L dimasukkan kedalam well, kemudian larutan senyawa tectoquinone dengan konsentrasi 100 ppm dipipet sebanyak 30 μ L dimasukkan kedalam well, begitu juga untuk larutan senyawa tectoquinone konsentrasi 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, dan 200 ppm. Dipipet substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 5 mM sebanyak 17 μ L dan diinkubasi pada waterbath pada suhu 37°C selama 20 menit, setelah diinkubasi, Na₂CO₃ 200 mM dipipet sebanyak 100 μ L untuk menghentikan reaksi. Sampel kemudian diukur absorbansinya dengan alat ELISA reader pada panjang gelombang 405 nm.

Analisis Data

Data hasil penelitian akan diolah dalam bentuk tabel dan grafik. Data akan dianalisis dengan analisis regresi linier menggunakan aplikasi perhitungan Microsoft Excel untuk memastikan nilai IC₅₀.

HASIL DAN DISKUSI

Pada pengujian inhibisi alfa-glukosidase dilakukan 6 pengujian larutan yaitu blanko, kontrol blanko, sampel (Tectoquinone), kontrol sampel (Tectoquinone), pembanding (Akarbosa), dan kontrol pembanding (Akarbosa). Pengujian control dilakukan untuk mengetahui aktivitas tanpa ada penambahan enzim sebagai inhibitor.

Pada pengujian larutan dibuat dengan menggunakan dapar fosfat pH 7.0, dimana pada pH 7.0 merupakan pH enzim alfa-glukosidase bekerja dengan baik. Suhu inkubasi yang

digunakan adalah suhu 37°C yang merupakan suhu optimum enzim bekerja. Penambahan natrium karbonat pada pengujian dilakukan untuk menghentikan reaksi terhadap enzim. Pengujian dilakukan menggunakan alat ELISA *reader* dengan Panjang gelombang 405 nm.

Mekanisme kerja enzim α -glukosidase akan menghidrolisis p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menjadi glukosa dan p-nitrofenol yang berwarna kuning [6].

Pengujian inhibisi alfa-glukosidase digunakan pembanding (Akarbose) 10 ppm, dibuat 5 seri konsentrasi 0,2 ppm, 0,4 ppm, 0,6 ppm, 0,8 ppm dan 1 ppm Sebagai pembanding digunakan akarbose yang diketahui merupakan salah satu senyawa yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor α -glukosidase [6]. Senyawa tectoquinone dibuat 5 seri konsentrasi 100 ppm, 125 ppm, 150 ppm, 175 ppm, dan 200 ppm.

Inhibisi enzim α -glukosidase dinyatakan nilai dengan persen inhibisi, lalu digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} (konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim) dari sampel maupun pembanding dan nilai IC_{50} tersebut digunakan untuk mengetahui kekuatan penghambatan senyawa terhadap enzim. Semakin rendah nilai IC_{50} maka kemampuan penghambatannya terhadap aktivitas α -glukosidase semakin tinggi, begitupun sebaliknya [7].

Regresi linear yang diperoleh dari pembanding Akarbose adalah $y = 26.136x + 43.243$ dengan nilai $R^2 = 0.9991$, dan pada senyawa tectoquinone adalah $y = 0.1927x + 20.096$ dengan nilai $R^2 = 0.9638$. Dari persamaan tersebut kemudian dimasukkan dalam persamaan $y = bx + a$, dimana y adalah % inhibisi 50 dan x adalah nilai IC_{50} .

Hasil nilai IC_{50} dari Akarbose yaitu 0.258532 $\mu\text{g/mL}$ dan senyawa tectoquinone yaitu 155.184 $\mu\text{g/mL}$, Semakin rendah nilai IC_{50} maka kemampuan penghambatannya terhadap aktivitas α -glukosidase semakin tinggi, begitupun sebaliknya [7], dimana menurut Sukmawati,

dkk 2020, Tingkat kekuatan inhibisi terhadap enzim α -glukosidase ialah sangat aktif jika $IC_{50} \leq 25 \mu\text{g/mL}$, aktif jika $25 \mu\text{g/mL} < IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$, kurang aktif jika $50 \mu\text{g/mL} < IC_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif jika $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ [6], berdasarkan penjelasan tersebut akarbose memiliki nilai $IC_{50} \leq 25 \mu\text{g/mL}$ dimana termasuk kategori tingkat penghambatan enzim α -glukosidase sangat aktif, dan senyawa tectoquinone memiliki nilai $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ dimana termasuk kategori tingkat penghambatan enzim α -glukosidase tidak aktif, Nilai IC_{50} yang tinggi dari pengujian inhibisi diduga karena konsentrasi senyawa yang digunakan sedikit dan tidak dapat menghambat sepenuhnya enzim α -glukosidase, semakin meningkatnya konsentrasi, aktivitas inhibisi juga mengalami peningkatan karena kuantitas senyawa aktif dalam senyawa mengalami peningkatan [8]. hal ini dibuktikan dengan nilai % inhibisi senyawa tectoquinone yang dapat menghambat enzim α -glukosidase. ini dibuktikan juga pada penelitian insilico Najib, *et. al.* 2023. dimana nilai ΔG_{bind} sebesar -9.720 Kcal/mol. Nilai ini sangat negatif, menunjukkan adanya potensi pengikatan yang sangat kuat antara tectoquinone dan α -glukosidase [9]. dimana senyawa tectoquinone memiliki potensi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa tectoquinone diketahui memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase masi memiliki aktivitas inhibis enzim α -glukosidase tapi masuk dalam kategori lemah.
2. Uji inhibisi enzim α -glukosidase Nilai IC_{50} dari senyawa tectoquinone sebesar pembanding akarbosa sebesar $0.258532 \mu\text{g/mL}$ termasuk dalam kategori sangat aktif, sedangkan nilai IC_{50} senyawa tectoquinone sebesar $212.326 \mu\text{g/mL}$ termasuk kategori tidak aktif atau lemah.

REFERENSI

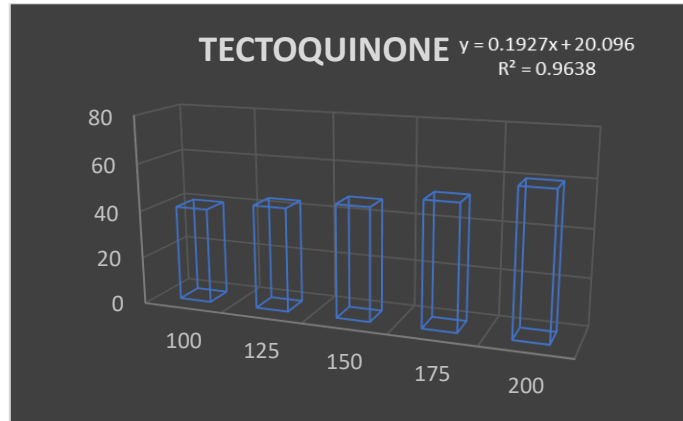
- [1] H. Hasan, E. N. Djuwarno, H. Samudi, and W. Susanti, “Senyawa Antidiabetes Fraksi Aktif Daun Ketapang (Terminalia catappa L.),” *J. Syifa Sci. Clin. Res.*, vol. 4, pp. 517–529, 2022.
- [2] P. Ashton, “Centenary of the Sandakan Herbarium 1916-2016,” *Sandakania*, vol. 21, no. 22, 2016.
- [3] Y. Kashiwada *et al.*, “Anti-AIDS agents 38. Anti-HIV activity of 3-O-acyl ursolic acid derivatives,” *J. Nat. Prod.*, vol. 63, no. 12, pp. 1619–1622, 2000, doi: 10.1021/np990633v.
- [4] R. R. Franco *et al.*, “Antidiabetic effects of Syzygium cumini leaves: A non-hemolytic plant with potential against process of oxidation, glycation, inflammation and digestive enzymes catalysis,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 261, no. May, 2020, doi: 10.1016/j.jep.2020.113132.
- [5] A. Najib, A. R. Ahmad, and V. Handayani, “ELISA test on Cordia myxa L. Leaf extract for α -glucosidase inhibitor,” *Pharmacognosy Journal*, vol. 11, no. 2. pp. 358–361, 2019. doi: 10.5530/pj.2019.11.54.
- [6] S. Syarif, N. Nurnaningsih, and M. Pratama, “Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Sebagai Inhibitor Enzim A-Glukosidase Dengan Menggunakan Elisa Reader,” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 7, no. 2, pp. 1–5, 2020, doi: 10.33096/jffi.v7i2.506.q
- [7] S. M. Maryam, A. Suhaenah, and N. F. Amrullah, “Uji Aktivitas Penghambatan Enzim A-Glukosidase Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat Sangrai (Persea americana Mill.) secara in vitro,” *Jurnal Ilmiah As-Syifaa*, vol. 12, no. 1. pp. 51–56, 2020. doi: 10.33096/jifa.v12i1.619.
- [8] A. Suhendi, D. Hanwar, B. Santoso, and S. R. Abidi1, “Inhibition Activity of Indonesian Zingiber zerumbet Leaves Extract on α -Glucosidase Enzyme,” *Pros. 16th Urecoli Seri MIPA dan Kesehat.*, pp. 59–65, 2022.
- [9] A. Najib, R. Razak, and I. F. Mujtahid, “Studi Penambatan Molekuler Senyawa Tectoquinone Terhadap Enzim α -Glukosidase,” *J. Fitofarmaka Indones.*, vol. 10, no. 2, pp. 67–78, 2023, doi: 10.33096/jffi.v10i2.964.

TABEL

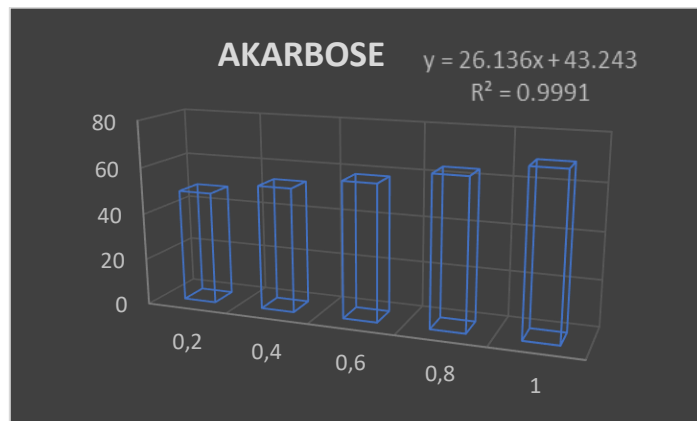
Tabel 1. Hasil pengukuran absorbansi, persen inhibisi, dan nilai IC₅₀.

Sampel	Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi				%inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
		blanko	Kontrol blanko	Sampel	Kontrol sampel		
Akarbose	0.2			1.235	0.061	48.689	0.258532
	0.4			1.142	0.082	53.671	
	0.6	2.334	0.046	1.051	0.102	58.523	
	0.8			0.945	0.125	64.161	
	1.0			0.843	0.147	69.580	
Tectoquinone	125			1.353	0.073	24.927	212.326
	150			1.28	0.081	29.677	
	175	1.751	0.046	1.81	0.091	36.070	
	200			1.007	0.102	46.921	
	225			0.923	0.153	54.839	

GAMBAR



Gambar 1. Diagram hubungan antara konsentrasi pembanding Akarbosa dengan % inhibisi



Gambar 2. Diagram hubungan antara konsentrasi senyawa tectoquinone dengan % inhibisi



Gambar 3. Pengujian Inhibisi α -glukosidase

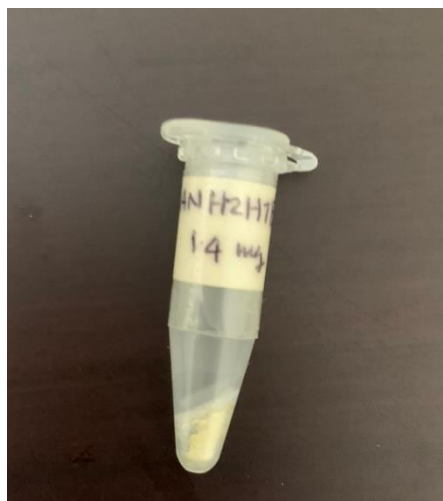


Gambar 4. Alat Elisa reader



Gambar 5. Tumbuhan Jambu Salo (*Syzygium oblanceolatum* (C.B.Rob.)

Merr.



Gambar 6. Senyawa Tectoquinone