

BIOAKTIVITAS EKSTRAK METANOL DAN PARTISI ETIL ASETAT BIJI LABU KUNING SEBAGAI ANTIDIABETES

BIOAKTIVITAS EXTRACTS OF METHANOL AND ETHYL ACETATE THAT PARTITION SEEDS PUMPKIN AS ANTI DIABETIC

Devi Ayu Hastuti¹ dan Sentot Joko Raharjo²

1.2 Akademi Analis Farmasi Dan Makanan Putra Indonesia Malang jl. Barito No 5
Malang

Penulis Korespondensi : email deviayuhastuti@gmail.com

ABSTRAK

Senyawa aktif yang terdapat dalam biji labu kuning berpotensi sebagai antidiabetes. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kandungan senyawa flavonoid dan aktivitasnya sebagai antidiabetes. Metode penelitian meliputi serbuk biji labu kuning dilarutkan dengan metanol 70%, kemudian di partisi menggunakan n-heksan dan etil asetat, uji senyawa flavonoid menggunakan metode kromatografi lapis tipis, dan aktivitas ekstrak metanol dan partisi etil asetat terhadap penurunan kadar glukosa darah. Perlakuan hewan coba control negatif (aquades), control positif (metformin), dan perlakuan ekstrak methanol dan fraksi etil asetat-nya dengan dosisnya 112mg/kg BB. Rendemen ekstrak metanol sebesar 2,84% dan fraksi etil asetat sebesar 1,90%, uji KLT menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat 6:4 mengandung senyawa flavonoid. Aktivitas penurunan kadar glukosa darah pada kontrol positif, Ekstrak Metanol dan Partisi Etil Asetat sebesar 56,37%; 58,01%; dan 60,01%. Uji statistik menggunakan ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan. Kesimpulan bahwa ekstrak metanol dan partisi etil asetat memiliki senyawa flavonoid yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit.

Kata kunci: ANOVA, Antidiabetes, Biji Labu Kuning, Flavonoid, Streptozotisin

ABSTRACT

The active compounds contained in the seeds of the pumpkin is potentially as anti diabetic. The purpose of this research is to know the content of flavonoid compounds and activities as anti diabetic. Research methods include yellow pumpkin seed powder is dissolved with a 70% methanol, and then in the partition using n-hexane and ethyl acetate, a compound of flavonoids using the method of thin layer chromatography, and activity of the methanol extracts and partition ethyl acetate against a decrease in blood glucose levels. Treatment of animals try negative control (aquades), a positive control (metformin), and treatment of methanol extract and fraction of ethyl acetate with the overdose 112mg/kg. Extract yield 2.84% of methanol and ethyl acetate fraction of 1.90%, TLC test using n-hexane motion phase: ethyl acetate 6:4 contains flavonoids. Activity decreased blood glucose levels on a positive control, extract the methanol and ethyl acetate that partition of 56,37%; 58,01%; and 60.01%. Statistical tests using the ANOVA showed significant differences. The conclusion that the extract of methanol and ethyl acetate that partition has a compound of flavonoids that can decrease blood glucose levels in mice.

Key word: ANOVA, Antidiabetic, Pumpkin Seeds, Flavonoids, Streptozotisin

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit dimana kadar glukosa darah tinggi yang disebabkan oleh kerusakan sel β pancreas sehingga tidak mampu memproduksi insulin.

Ketidakmampuan sel β pancreas dalam memproduksi insulin dapat mengakibatkan resistensi insulin, sehingga glukosa tidak dapat disalurkan ke dalam sel-sel yang ada di dalam tubuh. Glukosa yang tidak bisa masuk ke dalam sel akan mengalami penumpukan yang dapat menyebabkan diabetes mellitus (Restining Tyas, 2013).

Pengobatan diabetes mellitus sebagian besar menggunakan obat-obatan kimia yang mungkin memiliki efek samping yang tidak diinginkan. Penderita diabetes biasanya dianjurkan untuk melakukan olahraga secara teratur dengan tujuan meningkatkan kepekaan insulin, mencegah kegemukan, dan memperbaiki aliran darah. Selain berolahraga, menjaga pola makan juga sangat diperlukan dengan membatasi konsumsi makanan yang dapat meningkatkan kadar gula darah, misalnya makanan siap saji, *junkfood*, serta berbagai macam minuman berkarbonasi. Makanan-makanan tersebut dapat digantikan dengan sumber lain yang memiliki fungsi sebagai obat, contohnya labu kuning.

Labu kuning merupakan suatu jenis tanaman sayuran menjalar dari famili *Cucurbitaceae*, yang tergolong dalam jenis tanaman semusim yang setelah berbuah akan langsung mati. Menurut penelitian (Fathonah, Indriyanti, & Kharisma, 2014) tanaman ini dapat dijadikan sebagai obat diabetes, karena ekstrak

labu kuning mengandung senyawa flavonoid dengan rentang dosis 56 mg/200 gBB/hari sampai 112 mg/200 gBB/hari mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus model diabetes. Selain pada daging buah labu kuning, bijinya mengandung senyawa fenolik golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar 3,9489 mg (Pabesak, Dewi, & Lestario, 2013) Flavonoid dalam ekstrak etanol biji *C. moschata* yang diuji menggunakan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan lemah dengan nilai IC_{50} sebesar 420,08 μ g/ml (Tasminatun, Febriansah, & Rahmawati, 2012).

Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan, karena senyawa tersebut bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Flavonoid ini juga dapat menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pankreas, selain itu juga dapat mengikat radikal bebas untuk mengurangi resistensi insulin (Ruhe & MsDonald, 2001) Berdasarkan latar belakang diatas, maka perlunya dilakukan identifikasi senyawa flavonoid pada biji labu kuning dalam ekstrak metanol dan partisinya dalam etil asetat.

Penggunaan metanol dapat dilihat dari sifat kelarutannya yaitu dapat bercampur dengan air, membentuk cairan murni tidak berwarna, kepolarannya yang sama dengan senyawa flavonoid serta jarak didih tidak kurang dari 95%, tersuling pada suhu antara 64,5° dan 65,5°. Penelitian Suryanto (2009) menunjukkan bahwa metanol mampu menarik lebih banyak jumlah

metabolit sekunder yaitu senyawa fenolik, flavonoid dan tannin. Pengambilan hasil partisi etil asetat dikarenakan senyawa flavonoid yang bersifat polar kemungkinan akan terlarut dalam etil asetat. Selanjutnya membuktikan potensi senyawa flavonoid pada ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning sebagai antidiabetes.

Tujuan penelitian mengetahui senyawa flavonoid pada ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning dan membuktikan aktivitas senyawa flavonoid dari ekstrak metanol dan partisi etil asetat pada biji labu kuning sebagai antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan meliputi kandang hewan uji, gelas ukur, beaker glass, masker, sarung tangan dan tempat minum hewan uji, oven, botol coklat untuk maserasi, batang pengaduk, kertas saring, cawan penguap, timbangan digital, chamber, penggaris, glukometer (tes kit NESCO), alat sonde, jarum suntik, blender, *rotary vacuum evaporator*, waterbatt, corong pisah. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji labu kuning, metanol 70%, aquades, STZ (*Streptozotosin*), n-heksan, etil asetat, plat silica gel GF₂₅₄, kertas saring, buffer sitrat, mencit putih, sekam, pakan mencit, alcohol 70%.

Jalannya Penelitian

Pembuatan simplisia

Biji labu kuning yang diperoleh dicuci dengan air sampai bersih, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C kurang lebih 3-4 jam sampai kering, dihaluskan menggunakan

blender. Tujuan menggunakan suhu 40°C yaitu agar tidak terdegradasi baik bentuknya, serta senyawa flavonoid tidak tahan terhadap suhu pemanasan yang terlalu tinggi.

Pembuatan ekstrak metanol dan partisi etil asetat

Sebanyak 500 gram serbuk biji labu kuning direndam dengan 2.5 L metanol 70%, hasil maserat ekstrak metanol yang telah jadi, disaring menggunakan corong kaca. Hasil ekstrak cair di evaporasi dan dipekatkan hingga mendapatkan rendemen ekstrak kental metanol. Diambil $\frac{3}{4}$ ekstrak kental methanol, dilarutkan dengan metanol 70% sebanyak 1L, dipartisi berturut-turut dengan n-heksan (1:1) dan etil asetat (1:3). Hasil partisi etil asetat dievaporasi hingga diperoleh ekstrak pekat.

Identifikasi Senyawa Flavonoid menggunakan Metode KLT

Ekstrak pekat metanol dan hasil partisi etil asetat dilarutkan kembali dengan metanol dan etil asetat sebagai sampel KLT. Sampel ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄. Fase gerak yang digunakan n-heksan:etil asetat (6:4). Noda pada plat diamati pada cahaya tampak dan sinar UV 254nm.

Aktivitas senyawa flavonoid sebagai penurun kadar glukosa darah

1. Persiapan hewan coba

Hewan coba berupa mencit putih sebanyak 25 ekor dengan berat badan berkisar 20-30 gram. Diadaptasi selama 14 hari dengan pemberian pakan standart dan diberi minum aquades. Dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah sebelum diinjeksi *streptozotosin*. Mencit

dibagi secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor (Mustika et al., 2007). Pertama kontrol negatif dan positif, dan yang kedua perlakuan dosis (dosis ekstrak metanol dan dosis partisi etil asetat).

2. Pemberian perlakuan injeksi streptozotosin dan pemberian ekstrak biji labu kuning

Kontrol negatif (KN) tidak diinjeksi *streptozotosin*. Kontrol positif (metformin), diinjeksi dengan *streptozotosin* dosis 40 mg/kg BB selama 3 hari secara berturut melalui intraperitoneal dan diberi metformin . Perlakuan I diinjeksi dengan *streptozotosin* dosis 40 mg/kg BB selama 3 hari secara berturut melalui intraperitoneal dan diberi ekstrak methanol dosis 112mg/kg BB. Perlakuan II diinjeksi dengan *streptozotosin* dosis 40 mg/kg BB selama 3 hari secara berturut melalui intraperitoneal dan diberi ekstrak etil asetat dosis 112mg/kg BB . pemberian ekstrak metanol dan partisi etil asetat setiap hari selama 10 hari berturut-turut. Data kadar glukosa darah yang dianalisis adalah data setelah pemberian STZ dan data setelah pemberian ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning.

3. Pemeriksaan sampel darah

Setelah selesai perlakuan, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah dengan menggunakan alat glukometer elektronik yaitu Easy Touch GChb. Pengambilan diambil dengan digunting bagian pangkal yang sudah di beri alcohol, darah yang keluar ditetaskan pada strip glukometer yang sebelumnya telah diaktifkan, sehingga secara otomatis akan terbaca pada monitor dari

glukometer tersebut setelah hitungan 10 detik.

Analisis data

Data kadar glukosa darah dianalisa dengan SPSS versi 15.0 menggunakan one way ANOVA, bila perlakuan berpengaruh dilanjutkan dengan uji Post Hoc Test.

HASIL PENELITIAN

Hasil rendemen yang didapatkan dari 500 gram simplisia yang dimaserasi dengan metanol 70% diperoleh ekstrak kental metanol dan partisi etil asetat pada tabel 1.

Tabel 1 Hasil Rendemen ekstrak metanol dan partisi etil asetat

Pelarut	Rendemen (%)
Metanol	2,84 %
Etil asetat	1,90%

Hasil identifikasi pada ekstrak metanol dan partisi etil asetat menunjukkan adanya senyawa flavonoid, hal ini dapat dilihat dari hasil analisa KLT menunjukkan senyawa golongan flavonoid terdeteksi pada kedua ekstrak dengan adanya bercak noda. Nilai Rf disajikan pada Tabel II.

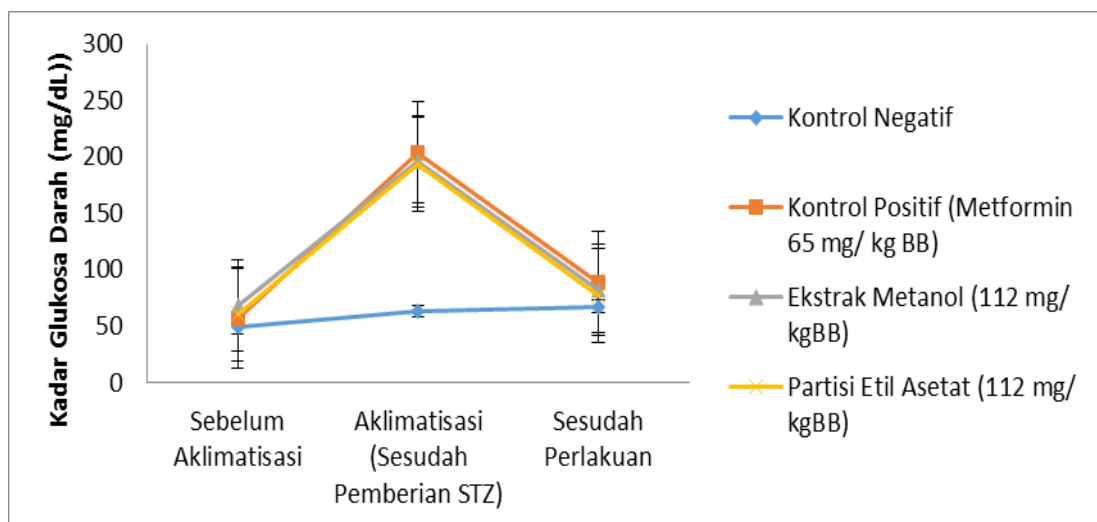
Tabel 2 Rf hasil KLT ekstrak metanol dan partisi etil asetat dengan fase diam plat silica gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan:etil asetat (6:4)

Bercak noda	Nilai Rf
Kuersetin	0,15
Methanol	0,15
Etil asetat 1	0,16
Etil asetat 2	0,4

Aktivitas senyawa flavonoid pada ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning sebagai penurun kadar glukosa darah dilakukan secara in-vivo. Selanjutnya di ukur menggunakan alat glukometer elektronik yaitu Easy Touch GChb. Data kadar glukosa darah yang dianalisis adalah data setelah pemberian STZ dan data setelah pemberian ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning, seperti disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Tabel 3 Persentase penurunan kadar glukosa darah

Perlakuan	Pemberian STZ	Penurunan	% Penurunan
Kontrol Negatif	63 ± 7,81	67,3 ± 5,13	-6,82%
Kontrol Positif	204 ± 13	89 ± 5	56,37%
Perlakuan Metanol	196 ± 2,64	82,3 ± 5,13	58,01%
Perlakuan Etil Asetat	193,3 ± 5,50	77,3 ± 3,05	60,01%



Gambar 1 Penurunan Kadar Glukosa Darah menggunakan Ekstrak Metanol dan Etil Asetat dari biji labu kuning

PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini, rendemen dan analisis KLT menunjukkan bahwa biji labu kuning terdapat senyawa

golongan flavonoid. Rendemen ekstrak metanol lebih banyak di bandingkan partisi etil asetat. Hal ini mengidentifikasi bahwa

kandungan senyawa metabolit sekunder dalam biji labu kuning lebih banyak cenderung bersifat polar. Dari hasil rendemen yang diperoleh, Senyawa flavonoid yang terdeteksi pada ekstrak metanol diduga adalah senyawa flavonoid berupa flavonol dan flavonon. Senyawa flavonoid yang terdeteksi pada ekstrak partisi etil asetat diduga adalah senyawa flavonoid golongan isoflavon yang mana senyawa tersebut larut dalam etil asetat.

Nilai Rf yang di peroleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol dan partisi etil asetat mengandung senyawa flavonoid yang dapat dilihat dari noda yang terbentuk serta nilai Rf yang mendekati nilai Rf kuersetin. Pada penelitian Fonda (2015) menggunakan pelarut n-heksan:etil asetat dengan sampel fraksi etil asetat diperoleh nilai Rf 0,6, hal ini berbeda dengan nilai Rf yang di peroleh pada penelitian yaitu 0,167 dan 0,4. Diperolehnya nilai Rf yang kecil artinya senyawa yang terdapat pada sampel yang di uji banyak mengandung senyawa polar dengan eluen tersebut. Terbentuknya dua noda pada etil asetat dikarenakan pada nilai Rf 0,167 cenderung mengandung senyawa polar. Hal itu dapat terjadi dikarenakan fase diam yang dilewati komponen kimia pada sampel bersifat polar. Sehingga jika komponen kimia yang lewat bersifat polar, maka dia akan terserap dan tertahan di absorben, dan komponen kimia yang bersifat non polar akan terus bergerak dan hasilnya akan nampak sebagai Rf yang tinggi berupa noda kedua etil asetat 0,4. (Fonda,2015)

Berdasarkan data di atas (Tabel 3),menunjukkan bahwa aktivitas penurunan kadar glukosa

darah tidak jauh berbeda antara Kontrol Positif 56,37%, Perlakuan ekstrak metanol 58,01% dan ekstrak partisi etil asetat 60,01%. Hal ini disebabkan kandungan yang terdapat dalam ekstrak metanol dan etil asetat memiliki aktivitas yang sama dengan obat metformin yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Berdasarkan data di atas maka dilakukan uji lanjutan menggunakan ANOVA. Hasil uji anova didapatkan nilai sig 0,003, dengan pengambilan keputusan jika nilai sig < 0,05 maka Ho di tolak yang artinya terdapat perbedaan signifikan antara metanol dan etil asetat. Selain pengambilan keputusan dengan nilai sig juga dilakukan pengambilan keputusan nilai F-tabel dan F-hitung. Nilai F-tabel 4,06 dan F-hitung 11,49, sehingga F-tabel <F-hitung, Ho ditolak. Pada penelitian (Fathonah, 2014) di dapatkan bahwa pemberian ekstrak air dengan dosis 112mg/kg BB mampu menurunkan kadar glukosa darah per hari. Dosis tersebut sama dengan dosis yang di lakukan peneliti, sehingga ekstrak metanol dan partisi etil asetat dapat di gunakan sebagai penurun kadar glukosa darah.

Kandungan senyawa fenolik total yang terdapat dalam biji labu kuning dalam penelitian Primawati (2007) sebesar 3,9489 mg, di duga berperan dalam aktivitas penurunan kadar glukosa darah dengan merangsang pelepasan insulin dari sel β pankreas yang tidak mengalami kerusakan, sehingga mampu mengembalikan fungsi sel β pankreas dan meningkatkan sekresi insulin di dalam tubuh. (Tandi *et al.*, 2016). Flavonoid juga dapat menekan apoptosis sel β tanpa mengubah proliferasi dari sel β

pankreas, selain itu juga dapat mengikat radikal bebas untuk mengurangi resistensi insulin. (Ruhe & MsDonald, 2001)

Pemberian obat golongan biguanid (metformin), dengan mekanisme kerja menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adipose terhadap insulin. Efek ini terjadi karena adanya aktivasi kinase di sel (Suherman, 2007). Pemberian golongan biguanid pada orang nondiabetik tidak menurunkan kadar glukosa darah, tetapi golongan biguanid ternyata menunjukkan efek potensial dengan insulin. Pada penelitian *in vitro*, ternyata biguanid merangsang glikolisis dan anaerobiosis tersebut mungkin sekali berakibat lebih banyaknya glukosa memasuki otot (Handoko dan Suharto 2004).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ekstrak metanol dan partisi etil asetat biji labu kuning mengandung senyawa flavonoid dengan dosis pemberian 112mg/kg BB pada mencit selama 10 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Putra Indonesia Malang serta pihak-pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR RUJUKAN

Astriani. 2014. *Uji Kromotografi Lapis Tipis Herba Putri Malu (Mimosa pudica L.)*. Laporan Lengkap Pratikum. Makassar: Universitas Hasanuddin.

Ayem, Restiningtyas. 2013. *Potensi Glukomanan Umbi Suweg (amorphophallus campanulatus B) Serbuk Effervescent Sebagai Pangan Terapi Diabetes Mellitus*. Karya Tulis Ilmiah tidak diterbitkan. Malang: Akademi Analis Farmasi dan Makanan Putra Indonesia Malang.

Aziz, Tamzil, Sendry Febrizky, Aris D. Mario. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen *yieldalkaloid* dari Daun Salam India (*Murraya Koenigii*). Teknik Kimia No 2, Vol.20, April 2014

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *SEDIAAN GALENIK*

Fathonah, R., Indriyanti, A., & Kharisma, Y. (2014). Labu Kuning (*Cucurbita moschata* Durh.) untuk Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa pada Tikus Model Diabetik. *Artikel Penelitian*.

Gafur, M. A., Isa, I., & Bialangi, N. (2012). ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DARI DAUN JAMBLANG (*Syzygium cumini*). *Jurusan Kimia Fakultas Mipa Universitas Negeri Gorontalo*, 11.

Mustika, D. Y., NA, Z., Harris, A., Rinidar, Asmilia, N., & Hasan2, M. (2007). Effect of Ethanol Extract Jamblang Leaves (*Syzygium cumini*) against Blood Glucose Levels In Rats (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Induced Streptozotocin. *JIMVET*, 1(4), 620–624.

- Oktaria, Y. E. (2013). *Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Alpukat (Persea americana Mill.) terhadap Tikus Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan*. Retrieved from eprints.ums.ac.id/24213/10/NA_SKAH_PUBLIKASI.pdf%0A
- Pabesak, R. V., Dewi, L., & Lestario, L. N. (2013). Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata ex Poir*) sebagai Peningkat Antioksidan pada Tempe.
- Purwanto, Agus, Astri Nur Fajriyati, Dewi Wahyuningtyas. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut terhadap rendemen dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak minyak bekatul padi (*Rice Bran Oil*). *Jurnal EKUILIBRIUM* vol.13 No1. Hal 29-34. ISSN 1412-9124. Januari 2014
- Prosiding Seminar Nasional Kesehatan. Jurusan Kesehatan Masyarakat FKIK UNSOED. Purwokerto: 31 Maret 2012.
- Putra, Rian Trilaksana, Yani Lukmayani, Reza Abdul Kodir. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Tumbuhan Lamun *Cymodocea Rotundata Ehrenberg* dan *Hemprich Ex Ascherson*. *Jurnal Prosiding Penelitian SPeSIA Unisba* 2015. ISSN 2460-6472.
- Petroleum Ether Extract and Methanol Extract of Pistia Leaves, 20(September), 134–139.
- Stevani, Hendra. 2016. *Pratikum Farmakologi*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Tasminatun, S., Febriansah, R., & Rahmawati, I. D. (2012). Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri Ekstrak Etanolik Biji Labu Kuning (*Cucurbita moschata Duch Poir*). *Naskah Publikasi Karya Tulis Ilmiah*, 1–11.
- Van Steenis, GGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Wardhata, Primadita Widha. 2010. *Efek Antihiperlipemik Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper crocatum) pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Skripsi. digilib.uns.ac.id. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Ruhe, R.C., & McDonald, R. B. (2001). Use of Antioxidant Nutrient in the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. *J. Am. Coll. Nutr.*, 20(5), 363–369.
- Sentot Joko Raharjo, R. W. N. (2015). Cytotoxic Activities of Ethyl Acetate Fractions From