

Evaluasi Faktor Yang Mempengaruhi Ekstraksi Rimpang Temu Ireng Berdasarkan Aktivitas Penghambatan α -Glukosidase

PenulisI Made Artika¹, Laksmi Ambarsari^{1,2}, Waras Nurcholis^{1,2*}**Afiliasi**¹Departemen Bioimia, Institut Pertanian Bogor, Indonesia²Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor, Indonesia**Kata Kunci**

- α -glukosidase
- Ekstraksi
- Rancangan faktorial fraksional
- Temu ireng

Diterima 16 Juli 2018

Direvisi 2 Agustus 2018

Disetujui 28 Agustus 2018

*** Penulis Koresponding****Waras Nurcholis**Jalan Tanjung Kampus IPB,
Dramaga, Babakan, Dramaga,
Bogor, Jawa Barat 16680
wnurcholis@apps.ipb.ac.id**ABSTRAK**

Terdapat beberapa faktor yang dapat digunakan dalam ekstraksi rimpang temu ireng yang memiliki aktivitas farmakologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi faktor pH, konsentrasi etanol, suhu, waktu, dan rasio cairan-padatan dalam proses ekstraksi rimpang yang memberikan kontribusi signifikan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Rancangan optimasi dilakukan dengan menggunakan faktorial fraksional $2^{(5-1)}$. Urutan hasil dari ekstrak yang paling berkontribusi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase: konsentrasi etanol > rasio cairan terhadap padatan > suhu > waktu > pH. Diantara faktor yang dianalisis menunjukkan bahwa konsentrasi etanol dan interaksi antara pH dan konsentrasi etanol merupakan faktor yang signifikan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Dengan demikian, rimpang temu ireng memiliki potensi sebagai anti-hiperglikemia alami.

PENDAHULUAN

Curcuma aeruginosa Roxb., dikenal temu ireng atau temu hitam di Indonesia, merupakan tanaman obat dalam bentuk rimpang yang banyak memiliki khasiat secara farmakologi. Kajian literatur menunjukkan bahwa rimpang temu ireng secara farmakologi berkhasiat sebagai anti-mikroba (Kamazeri *et al.* 2012; Akarchariya *et al.* 2017), sitotoksisitas (Nurcholis *et al.* 2016a), relaksan uterus (Thaina *et al.* 2009), peningkat trombosit darah (Moektiwardoyo *et al.* 2014), dan antioksidan (Nurcholis *et al.* 2016b). Aktivitas farmakologi ditentukan oleh kandungan metabolit sekunder. Fenolik dan flavonoid diketahui terkandung dalam rimpang temu ireng (Nurcholis *et al.* 2016b). Wong *et al.* (2015) telah melaporkan bahwa faktor pH, konsentrasi etanol, rasio cairan-padatan, waktu dan temperatur merupakan faktor independen yang mempengaruhi ekstraksi senyawa fenolik dan flavanoid. Penelitian lain menunjukkan bahwa metabolit sekunder fenolik sangat potensial sebagai inhibitor enzim α -glukosidase (Pradeep & Sreerama 2018). Enzim α -glukosidase merupakan salah satu enzim penting pada pasien diabetes karena mengontrol kadar glukosa dalam darah



(Wu *et al.* 2018). Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan faktor-faktor meliputi pH, konsentrasi etanol, rasio cairan-padatan, waktu dan temperatur yang paling berpengaruh dalam proses ekstraksi inhibitor enzim α -glukosidase dengan menggunakan rancangan faktorial fraksional.

METODE

Rancangan faktorial fraksional $2^{(5-1)}$ digunakan untuk melakukan ekstraksi rimpang temu ireng yang berkhasiat sebagai inhibitor α -glukosidase. Rancangan menggunakan faktor independen, dengan tingkatan rendah dan tinggi, meliputi pH (2-6), suhu (30-80°C), konsentrasi etanol (20-80%), waktu (30-300 menit), dan rasio cairan terhadap padatan (10-100

mL/g) (Tabel 1). Simplisia serbuk rimpang temu ireng (80 mesh dan kadar air < 10%) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi Pusat Studi Biofarmaka Tropika (Trop-BRC), Institut Pertanian Bogor yang berumur 7 bulan setelah tanam. Sebanyak 20 g serbuk temu ireng ditempatkan dalam labu erlemeyer bersama dengan etanol (GKA Bratago, Jakarta) dan untuk faktor lainnya disesuaikan pada matrik perlakuan pada Tabel 2. Nilai pH disesuaikan dengan menggunakan HCl (Merck, Jerman) dan NaOH (Merck, Jerman). Ekstraksi dilakukan secara maserasi dengan menggunakan penangas air (Memmert, Jerman) untuk menyesuaikan suhu perlakuan ekstraksi (Tabel 2). Ekstrak diperoleh dari filtrat yang disaring dengan *Whatmann* tipe 4 dan diuapkan dengan

Tabel 1. Dua tingkatan faktor rancangan faktorial fraksional dalam proses ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase

Faktor	Tingkatan faktor		
	Rendah (-)	Tinggi (+)	
A	pH	2	6
B	Konsentrasi etanol (%)	20	80
C	Suhu (°C)	30	80
D	Waktu (Menit)	30	300
E	Rasio cairan-padatan (mL/g)	10	100

Tabel 2. Matrik rancangan faktorial fraksional dalam proses ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase

No	Faktor proses ekstraksi				
	A:pH	B:Etanol %	C:Suhu C	D:Waktu Menit	E:Rasio cairan-padatan mL/g
1	6	20	30	300	100
2	2	20	30	300	10
3	2	80	80	300	10
4	6	20	30	30	10
5	2	80	30	30	10
6	6	80	80	30	10
7	6	20	80	300	10
8	2	20	80	300	100
9	2	80	30	300	100
10	2	20	30	30	100
11	6	80	30	30	100
12	6	20	80	30	100
13	2	20	80	30	10
14	6	80	80	300	100
15	6	80	30	300	10
16	2	80	80	30	100



evaporator (Osaga Saiki, Jepang). Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya digunakan untuk analisis penghambatan enzim α -glukosidase yang dilakukan dengan *microplate reader* (Epoch BioTek, USA) sesuai Sancheti *et al.* (2009). Campuran reaksi sampel terdiri atas 25 μ L p-NPG 10 mM, 50 μ L bufer fosfat (pH 7) 100 mM, dan 10 μ L larutan ekstrak dalam DMSO (konsentrasi 8000 μ g/mL). Selanjutnya campuran tersebut ditambahkan larutan enzim sebanyak 25 μ L dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit di ruang gelap. Setelah itu, reaksi enzim dihentikan dengan menambahkan Na_2CO_3 200 mM sebanyak 100 μ L. Selanjutnya larutan diukur pada panjang gelombang 410 nm dengan *microplate reader* (Epoch BioTek, USA). Larutan akarbosa (10 μ g/mL) digunakan sebagai kontrol positif dengan prosedur pengujian yang sama seperti sampel. Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan dan dihitung persentase inhibisi enzim dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = (C - S) / C \times 100\%$$

dengan C adalah absorbansi larutan blanko terkoreksi dan S adalah absorbansi sampel terkoreksi.

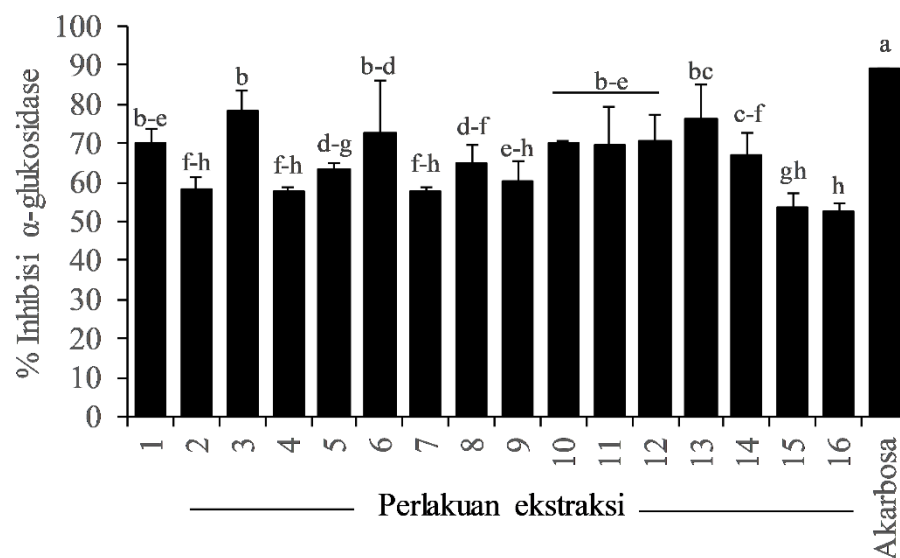
Pada penelitian ini untuk analisis statistik menggunakan software Design Expert (Versi 11, State-Ease) untuk mengevaluasi faktor-faktor perlakuan dan

interaksi antara A (pH) dan B (etanol) yang mempengaruhi ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase. Terdapat 16 perlakuan yang dianalisis dengan menggunakan software *Design Expert* sebagaimana disajikan pada Tabel 2 dan hasil aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase seperti Gambar 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 menunjukkan hasil aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari perlakuan ekstraksi rimpang temu ireng dengan persentase penghambatan antara 52.57 sampai 78.42%. Ekstrak temu ireng pada semua perlakuan (konsentrasi 8000 μ g/mL) memiliki penghambatan lebih rendah signifikan dibandingkan kontrol akarbosa (88.99% pada konsentrasi 10 μ g/mL). Penghambatan enzim α -glukosidase tertinggi (78.42%) diperoleh ketika ekstraksi rimpang temu ireng dalam kondisi pH 6, konsentrasi etanol 80%, suhu 80°C, waktu 30 menit, dan rasio cairan terhadap padatan 10 mL/g. Berdasarkan hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak dari rimpang temu ireng memiliki potensi yang cukup baik untuk digunakan sebagai obat tradisional anti-hiperglikemia.

Model optimasi proses ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor enzim α -glukosidase



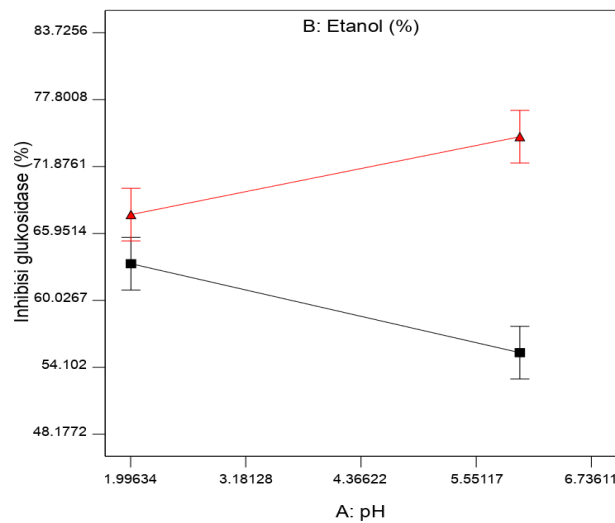
Gambar 1. Persentase inhibisi enzim α -glukosidase dari ekstrak rimpang temu ireng pada 16 perlakuan ekstraksi dan standar akarbosa sebagai kontrol positif. Data disajikan sebagai rata-rata (\pm SD). Nilai yang diikuti huruf yang berbeda menunjukkan berbeda nyata pada $P < 0.05$ berdasarkan uji Duncan.

menunjukkan hasil yang signifikan berdasarkan analisis keragaman (ANOVA) pada $p < 0.05$ (Tabel 3). Hal tersebut mengindikasikan minimal terdapat satu faktor (Hamzaoui *et al.* 2008; Masoumi *et al.* 2011) yang mempengaruhi aktivitas enzim α -glukosidase dari ekstrak rimpang temu ireng. Konsentrasi etanol (B) dan interaksi antara pH dan etanol konsentrasi (AB) merupakan faktor dalam model yang signifikan ($p < 0.05$) dalam proses ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase. Plot interaksi antara faktor A-pH dan B-etanol dari proses ekstraksi rimpang

temu ireng sebagai inhibitor enzim α -glukosidase tersaji pada Gambar 2. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya bahwa penggunaan pelarut etanol lebih efektif sebagai inhibitor enzim α -glukosidase (Bljajić *et al.* 2016).

SIMPULAN

Ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase telah dikaji dengan menggunakan rancangan faktorial fraksional. Konsentrasi etanol dan interaksi antara pH dan konsentrasi etanol merupakan



Gambar 2 Plot interaksi antara faktor A-pH dan B-etanol dari proses ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor enzim α -glukosidase

Tabel 3. Analisis keragaman signifikansi untuk koefisien regresi dari model sistem ekstraksi rimpang temu ireng sebagai inhibitor enzim α -glukosidase

Sumber keragaman	Estimasi koefisien	Jumlah kuadrat	db	Rata-rata kuadrat	Nilai F	Nilai-p Prob > F	
Model	65.20	875.17	10	87.52	7.21	*0.0208	Signifikan
A-pH	-0.25	0.96	1	0.96	0.079	0.7894	
B-Etanol	5.87	550.58	1	550.58	45.35	*0.0011	
C-Suhu	0.84	11.36	1	11.36	0.94	0.3779	
D-Waktu	-0.73	8.54	1	8.54	0.70	0.4398	
E-Rasio cairan-padatan	0.92	13.57	1	13.57	1.12	0.3388	
AB	3.69	218.18	1	218.18	17.97	*0.0082	
AD	1.29	26.57	1	26.57	2.19	0.1991	
BE	-1.23	24.07	1	24.07	1.98	0.2182	
CD	1.13	20.45	1	20.45	1.68	0.2509	
DE	0.23	0.87	1	0.87	0.072	0.7995	
Residual		60.70	5	12.14			
Cor Total		935.87	15				

R² = 0.9351, *Nilai "Prob > F" lebih kecil dari 0.0500 mengindikasikan model signifikan



faktor yang paling signifikan dalam menentukan ekstrak rimpang temu ireng sebagai inhibitor α -glukosidase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh skema Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Tahun 2018 Nomor: 1755/IT3.11/PN/2018 dari Ditjen Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia.

REFERENCES

- Akarchariya N, Sirilun S, Julsrigival J, Chansakaowa S. 2017. Chemical profiling and antimicrobial activity of essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma glans* K. Larsen & J. Mood and *Curcuma cf. xanthorrhiza* Roxb. collected in Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7: 881–885.
- Bljajić K, Šoštarić N, Petlevski R, Vujić L, Brajković A, Fumić B, de Carvalho IS, Končić MZ. 2016. Effect of *Betula pendula* leaf extract on α -glucosidase and glutathione level in glucose-induced oxidative stress. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM* 2016: 8429398.
- Hamzaoui AH, Jamoussi B, M'nif A. 2008. Lithium recovery from highly concentrated solutions: Response surface methodology (RSM) process parameters optimization. *Hydrometallurgy*. 90: 1–7.
- Kamazeri TSAT, Samah OA, Taher M, Susanti D, Qaralleh H. 2012. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 5: 202–209.
- Masoumi HRF, Kassim A, Basri M, Abdullah DK. 2011. Determining Optimum Conditions for Lipase-Catalyzed Synthesis of Triethanolamine (TEA)-Based Esterquat Cationic Surfactant by a Taguchi Robust Design Method. *Molecules*. 16: 4672–4680.
- Moektiwardoyo WM, Tjitraesmi A, Susilawati Y, Iskandar Y, Halimah E, Zahryanti D. 2014. The Potential of Dewa Leaves (*Gynura Pseudochina* (L) D.C) and Temu Ireng Rhizomes (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) as Medicinal Herbs for Dengue Fever Treatment. *Procedia Chemistry*. 13: 134–141.
- Nurcholis W, Khumaida N, Syukur M, Bintang M. 2016a. Variability of curcuminoid content and lack of correlation with cytotoxicity in ethanolic extracts from 20 accessions of *Curcuma aeruginosa* Roxb. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 6(11): 887–891.
- Nurcholis W, Khumaida N, Syukur M, Bintang M. 2016b. Variability of total phenolic and flavonoid content and antioxidant activity among 20 *Curcuma aeruginosa* Roxb. Accessions of Indonesia. *Asian Journal of Biochemistry*. 11(3):142-148.
- Pradeep PM, Sreerama YN. 2018. Phenolic antioxidants of foxtail and little millet cultivars and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. *Food Chemistry*. 247: 46–55.
- Sancheti S, Sancheti S, Seo SY. 2009. *Chaenomeles sinensis*: A potent α - and β -glucosidase inhibitor. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4: 8–11.
- Thaina P, Tungcharoen P, Wongnawa M, Reanmongkol W, Subhadhirasakul S. 2009. Uterine relaxant effects of *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 121: 433–443.
- Wong WH, Lee WX, Ramanan RN, Tee LH, Kong KW, Galanakis CM, Sun J, Prasad KN. 2015. Two level half factorial design for the extraction of phenolics, flavonoids and antioxidants recovery from palm kernel by-product. *Industrial Crops and Products*. 63: 238–248.
- Wu X, Ding H, Hu X, Pan J, Liao Y, Gong D, Zhang G. 2018. Exploring inhibitory mechanism of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase relevant to postprandial hyperglycemia. *Journal of Functional Foods*. 48: 200–209.

