

## Identification of Bioactive Compounds and $\alpha$ -Glucosidase Inhibition Activity of *Caesalpinia bonduc* Seed Extract In vitro

(Identifikasi Senyawa Bioaktif dan Aktivitas Inhibisi  $\alpha$ -Glukosidase dari Ekstrak Biji Kebiul (*Caesalpinia bonduc*) Secara In Vitro)

Oczhinvia Dwitasari<sup>1\*</sup>, Djarot Sasongko Hami Seno<sup>1</sup>, Mega Safithri<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia

Received : 2 July 2018; Accepted : 14 August 2018

---

\*Corresponding author: Oczhinvia Dwitasari; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: [oczhinvia@gmail.com](mailto:oczhinvia@gmail.com)

---

### ABSTRACT

*This study is aimed for finding alternative ways to treat diabetes. Many studies have been done before, but focused on identification of  $\alpha$ -glucosidase inhibition mechanism. This study was conducted by extracting *Caesalpinia bonduc* seed using two methods maceration by ethanol 96% and the others boil by water. The ethanol extract was then fractioned into three fractions, n-hexane, ethyl acetate, and ethanol. To find the bioactive compounds, the ethanol extract was then tested by several phytochemistry tests. The phytochemistry test showed positive results for alkaloid, flavonoid, saponin and triterpenoid. The inhibition mechanism was tested using pNPG. The inhibition test shown that the mechanism was a competitive inhibition, by the Dixon plot. The calculated inhibition concentrations for 50% substrate ( $IC_{50}$ ) for ethyl acetate fraction are 1655.8079  $\mu$ g/ml for 5 mM substrate and 803.9521  $\mu$ g/ml for 10 mM substrate. From the results of this study, we concluded that the extract of *Caesalpinia bonduc* has inhibition activity toward  $\alpha$ -glucosidase enzyme.*

**Keywords:**  *$\alpha$ -glucosidase inhibition, *Caesalpinia bonduc* seed extract, diabetes treatment*

### ABSTRAK

*Penelitian ini bertujuan untuk menemukan penanganan alternatif dari penyakit diabetes. Telah banyak penelitian dilakukan dalam bidang ini sebelumnya, namun masih belum banyak penelitian yang memfokuskan pada mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan ekstraksi pada biji *Caesalpinia bonduc* dengan dua metode yaitu maserasi menggunakan etanol 96% dan perebusan dengan air. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi menggunakan*

tiga pelarut yaitu, *n*-heksan, etil asetat, dan etanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuji fitokimia. Berdasarkan pengujian diketahui bahwa ekstrak positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin dan triterpenoid. Mekanisme inhibisi diuji menggunakan substrat pNPG. Berdasarkan plot Dixon yang diperoleh, diketahui bahwa mekanisme inhibisi ekstrak biji *Caesalpinia bonduc* terhadap  $\alpha$ -glukosidase adalah inhibisi kompetitif. Perhitungan terhadap konsentrasi inhibisi 50 ( $IC_{50}$ ) untuk fraksi etil asetat adalah 1655.8079  $\mu$ g/ml untuk substrat 5 mM dan 803.9521  $\mu$ g/ml untuk substrat 10 mM. Berdasarkan hasil temuan yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak *Caesalpinia bonduc* memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

**Kata kunci:** inhibisi  $\alpha$ -glukosidase, ekstrak biji *Caesalpinia bonduc*, penanganan diabetes

## 1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit kelainan metabolik yang biasanya ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemia kronis. Terdapat dua jenis prevalen dari penyakit ini, yang biasa dikenal dengan diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2. Mayoritas penderita diabetes melitus tipe 1 (DM1) merupakan anak-anak di bawah 15 tahun, sementara itu mayoritas penderita diabetes pada umumnya adalah penderita diabetes melitus tipe 2 (DM2) (Holt & Kumar 2010). Penderita DM2 biasanya mengalami kondisi hiperglikemia postprandial, yang merupakan kondisi meningkatnya kadar gula darah setelah menerima asupan makanan (Ceriello 2005). Kondisi ini memaksa penderita DM2 untuk menjalani terapi sepanjang hidupnya baik dengan pengaturan asupan makanan maupun dengan obat-obatan, agar kondisi kadar glukosa postprandial tidak naik secara drastis (Tahrani et al. 2010).

Pengendalian kondisi hiperglikemia postprandial menjadi sangat penting bagi terapi penderita DM2. Salah satu metode terapi yang dapat dilakukan adalah mengurangi penyerapan glukosa dengan melakukan penghambatan terhadap enzim-enzim penghidrolisis karbohidrat, seperti  $\alpha$ -glukosidase (Kim et al. 2005). Metode terapi ini terbukti dapat menghambat perkembangan DM2 sebanyak 36%, sehingga pender-

ita DM2 dapat memiliki harapan hidup yang lebih panjang (Ceriello 2005).

Acarbose dan miglitol merupakan dua inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase yang diakui dan direkomendasikan oleh WHO dan IDF (Inzucchi et al. 2015). Meskipun kedua senyawa tersebut memiliki keefektifan yang tinggi sebagai inhibitor, namun demikian efek samping yang ditimbulkannya juga tidak kecil. Efek samping utama yang mungkin muncul akibat dari penggunaan terapi acarbose adalah gangguan pencernaan dan flatulensi (Holt & Kumar 2010).

Salah satu alternatif tanaman obat yang dapat digunakan dalam penanganan hiperglikemia postprandial adalah *Caesalpinia bonduc* yang tumbuh di daerah India dan lebih dikenal sebagai Nata Karanja sedangkan di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai *Kebiul* yang dapat ditemukan di daerah Bengkulu Selatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Chakrabarti et al. (2005) dan Kannur et al. (2006) tanaman ini terbukti memiliki kemampuan antidiabetes, yaitu ekstrak dari biji tanaman ini mampu menurunkan kadar trigliserida dalam darah hingga mendekati normal kembali. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Anas (2014) melalui pemberian ekstrak etanol dari biji *C. bonduc* terhadap *M. musculus* jantan yang diinduksi aloksan pada

dosis 0.00516 g/kg BB, diketahui bahwa terjadi penurunan glukosa darah yang relatif signifikan dari 135.4 mg/dL menjadi 104.2 mg/dL. Penelitian ini bertujuan untuk mengungkap peranan senyawa aktif pada ekstrak biji *C. bonduc* dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## 2. METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA IPB, Pusat Studi Biofarmaka LPPM-IPB dan Puslabfor Mabes Polri. Penelitian ini dilakukan dalam rentang waktu bulan Agustus 2017 hingga Januari 2018.

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kebiul (*Caesalpinia bonduc*) yang diambil dari hutan di Desa Sukaraja Kecamatan Sukaraja Kabupaten Seluma Provinsi Bengkulu. Biji kebiul yang diambil adalah biji yang sudah tua dengan kulit biji yang keras dengan kadar air 5.95 %, etanol 96 %, n-heksana, etil asetat, enzim  $\alpha$ -glukosidase yang berasal dari rekombinan *Bacillus stearothermophilus* (Sigma G3651-250UN, Jerman), substrat p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) (Sigma Aldrich, USA) dan akarbose.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, corong pisah, evaporator, spektrofotometer (Hitachi tipe U-2800), pH meter, vortex mixer, microplate reader (Biotek Epoch) dan LC-MS/MS (Qmicro QAA 842).

### Ekstraksi Sampel Biji *C. bonduc* (Anas 2014; Fitrilia 2015)

Ekstraksi dilakukan dengan dua cara yaitu maserasi menggunakan etanol 96% dan perebusan menggunakan air. Perebusan dengan air dilakukan karena metode ini merupakan metode

yang umum digunakan oleh masyarakat dalam memanfaatkan biji *C. bonduc*. Sampel *C. bonduc* diperoleh dari hutan di sekitar Desa Sukaraja, Kecamatan Sukaraja, Kabupaten Seluma, Provinsi Bengkulu. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam etanol 96% dengan perbandingan sampel:pelarut adalah 1:10 (b:v). Perendaman dilakukan selama 24 jam dengan menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm. Perebusan dilakukan dengan merebus sampel selama 2 jam. Baik hasil maserasi maupun perebusan kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator pada suhu 50°C hingga ekstrak mengental.

### Fraksinasi Ekstrak Biji *C. bonduc* (Kim et al. 2008)

Sebanyak 2 gram ekstrak kasar etanol yang telah diperoleh pada tahap sebelumnya dilarutkan dalam 100 mL akuades pada suhu 50°C. Larutan kemudian difraksinasi menggunakan corong pisah dengan penambahan pelarut n-heksan, fraksi n-heksan kemudian dipisahkan. Tahap ini kemudian diulang untuk pelarut etil asetat dan etanol untuk memperoleh fraksi etil asetat dan etanol. Masing-masing fraksi kemudian dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator.

### Uji Fitokimia (Harbone 1987)

Pengujian terhadap fitokimia ekstrak biji *C. bonduc* dilakukan dengan tahapan sebagai berikut:

**Uji Alkaloid.** Pengujian alkaloid dilakukan dengan memasukkan 0.05 gram ekstrak ke tabung reaksi dan kemudian ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 tetes  $\text{NH}_3$ . Campuran ini kemudian divortex dan fraksi kloroform ditambahkan 30 tetes  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2 M kemudian divorteks.

Lapisan asam kemudian dibagi menjadi tiga bagian. Pada bagian pertama ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, bagian kedua ditambahkan 2 tetes pereaksi Wagner dan bagian ketiga ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer. Uji positif ditunjukkan dengan endapan merah (Dragendorff), endapan cokelat (Wagner) dan endapan putih (Mayer).

#### Uji Flavonoid, Saponin dan Tanin.

Sebanyak 0.1 gram sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 10 mL akuades kemudian dipanaskan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat kemudian dibagi menjadi tiga bagian, bagian pertama digunakan untuk uji flavonoid ditambahkan serbuk Mg, 5 tetes HCl pekat, 5 tetes etanol dan 7 tetes amil alkohol, lalu divorteks. Uji positif ditunjukkan dengan warna jingga pada lapisan amil alkohol. Bagian kedua digunakan untuk uji saponin dengan melakukan pengocokan hingga terbentuk buih yang stabil selama 10 menit. Bagian ketiga digunakan untuk uji tanin dengan penambahan  $\text{FeCl}_3$  1%. Uji positif ditunjukkan oleh warna hijau kehitaman.

**Uji Triterpenoid.** Pengujian triterpenoid dilakukan dengan melarutkan 10 mg sampel dalam 5 mL larutan eter, kemudian diuapkan dalam cawan penguap. Kemudian ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat (2:1). Uji positif ditandai dengan munculnya warna merah-hijau.

#### Uji Aktivitas Inhibisi $\alpha$ -glukosidase (Sancheti et al. 2009; Sugiwati et al. 2009)

Dalam pengujian aktivitas inhibisi dari ekstrak biji *C. bonduc* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan dengan menggunakan sistem reaksi yang ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sistem reaksi inhibisi  $\alpha$ -glukosidase

Reagen	Volume ( $\mu\text{L}$ )			
	Blanko	Kontrol Blanko	Sampel	Kontrol Sampel
Pelarut	10	10	-	-
Sampel	-	-	10	10
Bufer	50	50	50	50
Substrat (pNPG)	25	25	25	25
Enzim	25	-	25	-
Buffer	-	25	-	25
Inkubasi 37°C 30 menit				
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	100	100	100	100

Inisiasi reaksi dilakukan dengan penambahan 25  $\mu\text{L}$  enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan konsentrasi 0.04 U/mL dalam bufer fosfat (pH 7.0) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Penghentian reaksi dilakukan dengan penambahan 100  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  200 mM. Hasil reaksi diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 410 nm. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan % inhibisi untuk menentukan nilai  $\text{IC}_{50}$ . Pengujian kinetika inhibisi dilakukan dengan menggunakan sistem reaksi yang sama namun menggunakan variasi konsentrasi substrat (5 mM dan 10 mM).

#### Teknik Analisis Data

**Analisis Mekanisme Inhibisi.** Analisis mekanisme inhibisi dari ekstrak *C. bonduc* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosa dilakukan dengan menggunakan teknik plot Dixon. Data untuk plot Dixon diperoleh dari sistem reaksi yang dijelaskan pada bagian sebelumnya pada dua konsentrasi substrat (5 mM dan 10 mM). Plot Dixon diperoleh dari kurva linear  $1/v$  vs  $[I]$ . Mekanisme inhibisi diperoleh dari bentuk dua kurva linear yang terbentuk.

**Analisis ANOVA.** Analisis ANOVA dilakukan untuk melihat pengaruh jenis fraksi ekstrak *C. bonduc* dan pengaruh konsentrasi terhadap kemampuan inhibisinya terhadap  $\alpha$ -glukosidase. Uji ANOVA dilakukan dengan menggunakan software SPSS 23.0 pada sistem operasi Windows 10.

### Identifikasi Senyawa Antidiabetes Menggunakan LC-MS/MS.

Larutan sampel sebanyak 5  $\mu$ L dengan konsentrasi 1,000  $\mu$ g/mL dimasukkan ke dalam instrumen LC-MS/MS. Fase gerak yang digunakan adalah campuran asetonitril dan air, sedangkan fase diam yang digunakan adalah kolom C18. Dengan laju alir diatur pada 0.2 mL/menit analisis dilakukan selama 23 menit pada temperatur pemisahan 50°C.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pengujian terhadap fitokimia ekstrak biji *C. bonduc* yang telah dilakukan dalam penelitian ini, diperoleh hasil sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2. Berdasarkan data pada Tabel 2, pada sampel ekstrak biji *C. bonduc* yang diperoleh menunjukkan hasil positif pada hampir semua uji yang dilakukan.

Hanya tanin yang menunjukkan uji negatif pada semua sampel. Selain itu hasil negatif juga muncul pada pengujian flavonoid pada fraksi n-heksan namun positif pada fraksi etanol dan etil asetat. Hal ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil pada strukturnya, yang meningkatkan afinitas senyawa ini pada pelarut polar seperti etanol dan air (Crozier *et al.* 2006).

Hasil fitokimia dari ekstrak *C. bonduc* yang diperoleh pada penelitian ini juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan Shukla *et al.* (2009). Di mana penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak biji *C. bonduc* memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, saponin dan fenolik.

Aktivitas inhibisi dari ekstrak *C. bonduc* disajikan pada Tabel 3 dalam bentuk nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan konsentrasi sampel yang dapat menginhibisi 50% aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  maka kemampuan inhibisi dari sampel semakin baik. Dalam pengujian yang dilakukan terlihat bahwa sampel fraksi etil asetat memiliki nilai  $IC_{50}$  yang paling kecil pada dua variasi konsentrasi substrat dibandingkan sampel lainnya. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa sampel fraksi etil asetat memiliki kemampuan inhibisi yang lebih

Tabel 2. Senyawa fitokimia ekstrak biji kebiul (*C. bonduc*)

Kandungan kimia	Ekstrak air	Ekstrak etanol	Fraksi n-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol
<b>Alkaloid</b>					
Mayer	+	+	+	+	+
Dragendorff	+	+	+	+	+
Boucharlat	+	+	+	+	+
<b>Tanin</b>	-	-	-	-	-
<b>Flavonoid</b>	+	+	-	+	+
<b>Saponin</b>	+	+	+	+	+
<b>Triterpenoid</b>	+	+	+	+	+

Keterangan : (+) = mengandung senyawa

(-) = tidak terdeteksi adanya senyawa

Tabel 3. Rata-rata  $IC_{50}$  pada jenis sampel inhibitor pada dua variasi konsentrasi substrat

Sampel	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) untuk Sub- strat 5 mM	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) untuk Sub- strat 10 mM
Akarbose	0.1538	0.0978
Ekstrak Kasar Air	5570.1639	1812.5890
Ekstrak Kasar Etanol	14848.77143	8814.3773
Fraksi n-heksan	80121.5508	18599.3672
Fraksi Etil Asetat	1655.8079	803.9521
Fraksi Etanol	10907.3787	8052.5019

baik.

Selain menguji pengaruh masing-masing fraksi terhadap aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase melalui perhitungan  $IC_{50}$ , dilakukan pula pengujian terhadap pengaruh konsentrasi dari sampel terhadap aktivitas inhibisi. Untuk menentukan apakah variasi konsentrasi sampel berpengaruh nyata terhadap aktivitas inhibisinya maka dilakukan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan taraf signifikansi 0.0000 dengan nilai p 0.05 maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nyata dari variasi konsentrasi dari sampel ekstrak biji *C. bonduc*.

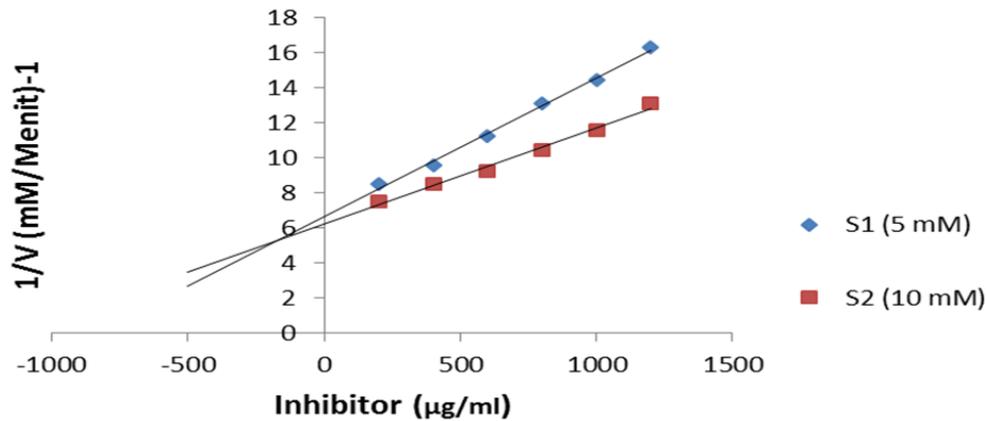
Pengujian terhadap pengaruh positif dari peningkatan konsentrasi sampel terhadap kemampuan inhibisi dilakukan dengan uji regresi linear menggunakan kurva  $1/v$  vs konsentrasi sampel. Hasil pengujian menunjukkan slope kurva bernilai positif (6.454) yang berarti penambahan konsentrasi sampel memperbesar nilai  $1/v$  dengan kata lain mengurangi nilai  $v$  (laju reaksi). Sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan konsentrasi sampel meningkatkan kemampuan inhibisi ekstrak *C. bonduc* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Meskipun dalam penelitian ini terungkap bahwa terdapat kemampuan inhibisi terh-

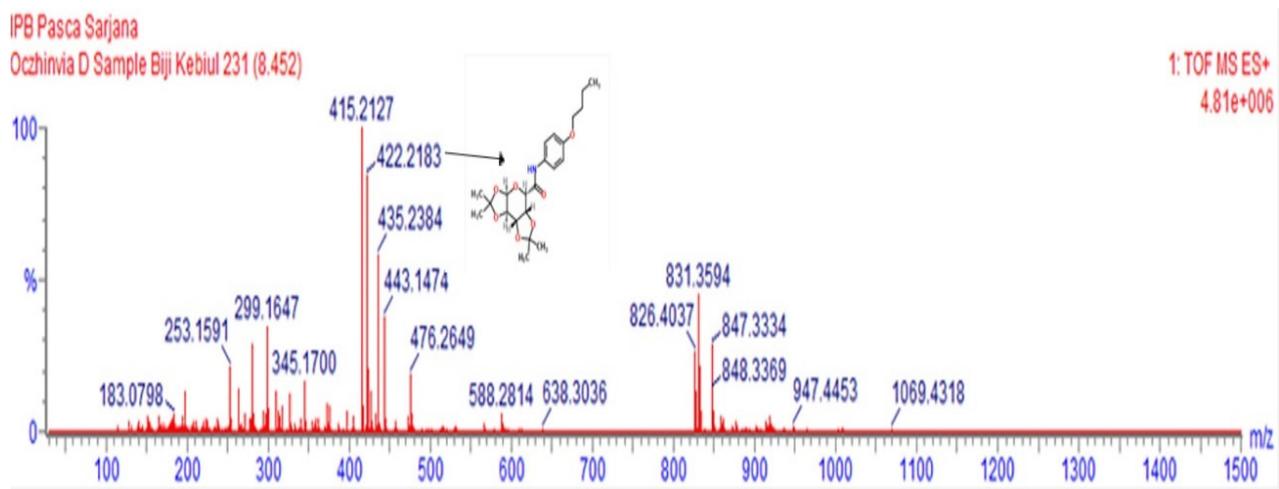
adap  $\alpha$ -glukosidase baik ekstrak kasar maupun fraksi dari biji *C. bonduc*, namun kemampuan ini masih relatif rendah jika dibandingkan dengan penelitian sejenis dengan menggunakan ekstrak benalu cengkeh. Fitrilia (2015) menemukan bahwa  $IC_{50}$  dari ekstrak benalu cengkeh adalah 129.7  $\mu\text{g/ml}$  yang menunjukkan kemampuan inhibisi yang lebih baik dibandingkan hasil penelitian ini. Namun demikian, hal ini tidak menunjukkan bahwa aktivitas antidiabetes dari sampel juga masuk dalam kategori rendah. Penelitian Chakrabarti et al. (2005) dan Kannur et al. (2006) menunjukkan bahwa biji *C. bonduc* memiliki kemampuan antidiabetes yang baik. Berdasarkan data dalam penelitian ini, kemungkinan besar ekstrak biji *C. bonduc* memiliki tidak hanya satu mekanisme antidiabetes. Hal ini perlu ditelusuri lebih lanjut melalui penelitian lainnya.

Hasil pengujian menggunakan ploting Dixon menunjukkan bahwa sampel memiliki karakteristik inhibisi kompetitif (Gambar 1). Selain itu berdasarkan Tabel 3, diketahui bahwa sampel dengan nilai  $IC_{50}$  paling kecil adalah sampel fraksi etil asetat. Nilai  $IC_{50}$  ini menunjukkan bahwa sampel tersebut hanya membutuhkan konsentrasi sebesar 1655.8079  $\mu\text{g/ml}$  untuk substrat 5 mM dan 803.9521  $\mu\text{g/ml}$  untuk substrat 10 mM untuk menghambat 50% enzim yang jauh lebih kecil dibandingkan sampel lain yang diperoleh dari ekstrak biji kebiul.

Nilai  $K_i$  dari fraksi etil asetat diperoleh sebesar  $183.125 \times 10^{-3}$  M. Nilai  $K_i$  menunjukkan seberapa mudah kompleks enzim-inhibitor dapat terurai. Nilai  $K_i$  yang lebih kecil menunjukkan lebih banyak terbentuk kompleks enzim-inhibitor, yang dapat diartikan bahwa kemampuan inhibisi lebih baik. Nilai  $K_i$  dari fraksi etil asetat ini masih relatif besar jika dibandingkan dengan hasil penelitian Neves et al. (2009)



Gambar 1. Ploting Dixon pada fraksi etil asetat dengan konsentrasi substrat 5 mM dan 10 mM



Gambar 2. Hasil MS dari piranokarbaksamida

pada inhibitor kayu manis terhadap enzim polyphenoloxidase yaitu  $0.078 \times 10^{-3}$  M.

Berdasarkan identifikasi menggunakan instrumen LC-MS/MS diperoleh tiga senyawa dengan kelimpahan yang paling tinggi. Dari tiga kelompok senyawa tersebut terdapat satu senyawa kelompok amida yaitu (3aR, 5S, 5aR, 8aS, 8bR)-N-(4-Butoksfenil)-2,2,7,7-tetrametil-tetrahidro-3aH-bis[1,3]dioksolo[4,5-b:4',5'-d]piran-5-karbaksamida yang selanjutnya disebut piranokarbaksamida. Senyawa ini muncul pada waktu retensi 8.452 menit dengan kelimpahan 10.05% dari sampel. Hasil MS ditunjukkan pada Gambar 2.

Senyawa piranokarbaksamida yang diperoleh dengan massa molekul sebesar 422.2183  $m/z$  ini merupakan senyawa turunan amida yang juga memiliki gugus hidroksil pada cincin aromatik. Khan *et al.* (2014) menyatakan bahwa, senyawa polifenol (senyawa dengan cincin aromatik tersubstitusi gugus hidroksil) yang terikat pada gugus basa nitrogen (amina dan amida) memiliki potensi sebagai inhibitor dari enzim  $\alpha$ -glukosidase.

Proses inhibisi dari enzim  $\alpha$ -glukosidase menggunakan acarbose ataupun miglitol terjadi dengan cara protonasi gugus N pada struktur inhibitor. Hal ini terjadi karena sisi aktif dari

enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan gugus yang memiliki sifat nukleofil. Reaksi hidrolisis glukosa dengan enzim  $\alpha$ -glukosidase terjadi ketika ion karbanium yang terbentuk dari polisakarida berikatan dengan sisi aktif enzim yang bersifat nukleofil (Chiba 1997). Senyawa polifenol yang terikat dengan basa nitrogen memiliki potensi membentuk sisi N terprotonisasi yang akan berkompetisi dengan substrat (ion karbanium dari polisakarida) untuk berikatan dengan sisi aktif enzim  $\alpha$ -glukosidase (Rahim et al. 2015). Mekanisme protonasi N dari senyawa piranokarboksamida yang diperoleh dalam penelitian ini masih perlu ditelusuri lebih lanjut. Penelusuran lebih lanjut terhadap aktivitas inhibisi dari senyawa piranokarboksamida terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase juga perlu dilakukan.

#### 4. DAFTAR PUSTAKA

- Anas A. 2014. Isolasi dan uji aktivitas ekstrak biji kebiul (*Caesalpinia* Sp) terhadap kadar glukosa mencit (*Mus Musculus*) sebagai sumber belajar (modul) berbasis konstruktivisme untuk meningkatkan hasil belajar kimia SMK [Tesis]. Bengkulu : Universitas Bengkulu.
- Ceriello A. 2005. Postprandial hyperglycemia and diabetes complications: is it time to treat?. *Diabetes*. 54(1): 1-7.
- Chakrabarti S, Biswas TK, Seal T, Rokeya B, Ali L, Khan AA, Mukherjee B. 2005. Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* F. in chronic type 2 diabetic model in long-evans rats and evaluation of insulin secretagogue property of its fractions on isolated islets. *Journal of Ethnopharmacology*. 97(1): 117-122.
- Chiba S. 1997. Molecular mechanism in  $\alpha$ -glucosidase and glucoamylase. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 61(8): 1233-1239.
- Crozier A, Clifford MN, Ashihara H. 2006. Plant Secondary Metabolites. Oxford: Blackwell Publishing.
- Fitrilia T. 2015. Ekstrak daun benalu cengkeh (*Dendrophthoe Pentandra* (L.) Miq) sebagai agen antioksidan dan antidiabetes secara in vitro [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Harbone JB. 1987. Metode Fitokimia. Ed ke-2. Bandung: ITB.
- Holt T, Kumar S. 2010. ABC of Diabetes. Sixth Edition. Oxford: Blackwell Publishing.
- Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, Matthews DR. 2015. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes : a patient-centered approach: update to a position statement of the American Diabetes Association and the European Association for the study of diabetes. *Diabetes Care*. 38(1): 140-149.
- Kannur DM, Hukkeri VI, Akki KS. 2006. Antidiabetic activity of *Caesalpinia bonducella* seed extracts in rats. *Fitoterapia*. 77(7): 546-549.
- Khan KM, Rahim F, Wadood A, Kosar N, Taha M, Lalani S, Khan M. 2014. Synthesis and molecular docking studies of potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors based on biscoumarin skeleton. *European journal of medicinal chemistry*. 81: 245-252.
- Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. 2008. Potent  $\alpha$ -glucosidase inhibitors purified from the red alga *Grateloupia elliptica*. *Phytochemistry*. 69: 2820-2825.
- Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, Rhee HI. 2005. Inhibitory effect of pine extract on  $\alpha$ -glucosidase activity and postprandial hyperglycemia. *Nutrition*. 21(6): 756-761.
- Neves VA, Picchi DG, Silva MAD. 2009. Some biochemical properties of polyphenoloxidase from spearmint (*Mentha arvensis*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 52(4): 1001-1010.
- Rahim F, Malik F, Ullah H, Wadood A, Khan F, Javid MT, Khan KM. 2015. Isatin based Schiff bases as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase: Synthesis, characterization, in vitro evaluation and molecular docking studies. *Bioorganic chemistry*. 60:42-48.
- Sancheti S, Sandesh S, Seo SY. 2009. *Chaenomelos sinensis* : a potent  $\alpha$ - and  $\beta$ - glucosidase inhibitor. *American Journal of Pharmacology*

*and Toxicology*. 4(1): 8-11.

Shukla S, Mehta A, John J, Mehta P, Vyas SP, & Shukla S. 2009. Immunomodulatory activities of the ethanolic extract of *Caesalpinia bonducella* seeds. *Journal of Ethnopharmacology*. 125(2): 252-256.

Sugiwati S, Setiasih S, Afifah E. 2009. Antihyperglycemic activity of the mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (scheff.) Boerl.] leaf extracts as an alpha glucosidase inhibitor. *Makara Kesehatan*. 13: 74-78.

Tahrani AA, Piya MK, Kennedy A, Barnett AH. 2010. Glycaemic control in type 2 diabetes: targets and new therapies. *Pharmacology & Therapeutics*. 125(2): 328-361.