

Antioxidant Activity, Inhibition α -Glucosidase of Ethanol Extract of *Strychnos nitida* G. Don and Identification of Active Compounds

(Aktivitas Antioksidan, Inhibisi α -Glukosidase dari ekstrak etanol Batang Kayu Ular (*Strychnos nitida* G.Don) dan Identifikasi Senyawa Aktif)

Stefani Dhale Rale^{1*}, Hasim¹, Syamsul Falah¹

¹*Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia*

Received : 22 October 2018 ; Accepted: 15 November 2018

*Corresponding author: Stefani Dhale Rale; Sekolah Pascasarjana IPB Program Studi Biokimia Jalan Agatis Gedung Fakultas Peternakan IPB, 16680. 082282554554. fanirale25@gmail.com

ABSTRACT

*This study aims to find the treatment of diabetes using natural materials by exploring plants in the province of East Nusa Tenggara. his research was conducted out by extracting the *Strychnos nitida* G.Don stem using a method of maceration by ethanol 70%. Ethanol extract was then fractionated using n-hexane and ethyl acetate. Simplicia from maceration and fractionation results were then tested for antioxidant activity, α -glucosidase inhibition activity and identification of active compounds. The results showed that ethyl acetate fraction had the lowest IC_{50} value of 86.83 μ g / ml. Results of the α -glucosidase activity test showed that ethyl acetate fraction and n-heksan fraction at 900 ppm had the highest percentage of inhibition of 34.23% and 33.89%. Identification using LCMS/MS method showed that ethyl acetate fraction consist of Benzenemethamine, N, N-dioctyl- as an antioxidant compound and compound 24-methyl-5-cholestone-hexol as an antidiabetic compound. From the results of this study, we concluded that the extract of kayu ular *Strychnos nitida* G.Don stem has inhibition activity toward α -glucosidase enzyme.*

Keywords: *antioxidant activity, diabetes, α -glucosidase inhibition, *Strychnos nitida* G.Don extract*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menemukan pengobatan penyakit diabetes menggunakan bahan alam dengan mengeksplorasi tanaman yang terdapat di provinsi Nusa Tenggara Timur. Penelitian ini dilakukan dengan mengekstraksi batang Kayu Ular (*Strychnos nitida* G.Don) dengan metode yaitu maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan dan etil asetat. Simplisia hasil dari maserasi dan fraksinasi kemudian diuji aktivitas antioksidan, aktivitas inhibisi α -glukosidase dan diidentifikasi senyawa aktifnya. Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan diperoleh fraksi etil asetat memiliki nilai IC_{50} paling rendah yaitu sebesar 86.83 μ g/ml. Hasil pengujian inhibisi α -glukosidase fraksi etil asetat dan *n*-heksan pada konsentrasi 900 ppm memiliki persen penghambatan berturut-turut sebesar 33.39% dan 34.23%. Hasil analisis menggunakan LC-MS/MS menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa Benzenemethamine, *N,N*-dioctyl- sebagai senyawa antioksidan dan senyawa 24-methyl-5-cholestone-hexol sebagai senyawa antidiabetes. Berdasarkan hasil pengujian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak batang kayu ular (*Strychnos nitida* G.Don) memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, inhibisi α -glukosidase, ekstrak batang kayu ular *Strychnos nitida* G.Don, diabetes

1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit tidak menular yang paling umum terjadi di seluruh dunia. DM adalah penyakit yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia) karena resisten insulin atau tidak terproduksinya insulin (Goldenberg dan Punthake 2013). Berdasarkan data dari International Diabetes Federation (IDF), secara global menunjukkan bahwa penderita diabetes mellitus pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang dan pada tahun 2030 diperkirakan akan meningkat menjadi 552 juta orang. Indonesia termasuk sebagai salah satu negara dengan prevalensi DM tinggi pada urutan ketujuh setelah Cina, India, USA, Brazil, Rusia dan Meksiko (IDF 2013).

Pengobatan diabetes dilakukan untuk mengurangi morbiditas dan mortalitas penderita diabetes. Obat yang digunakan dalam penanganan diabetes mellitus antara lain obat yang dapat

meningkatkan sekresi insulin seperti sulfonilurea dan sensiter insulin seperti obat-obatan golongan biguanida dan tiazolidindion dimana obat ini bekerja menghambat katabolisme karbohidrat diantaranya sebagai inhibitor α -glukosidase. Salah satu inhibitor α -glukosidase adalah obat akarbose dan miglitol (KEMENKES 2005). Pemberian obat-obat ini secara terus menerus dapat menimbulkan efek samping seperti kembung, diare dan kejang perut (Lee et al. 2007). Oleh karena itu penting untuk mengembangkan penelitian mengenai inhibitor α -glukosidase dari bahan alam agar dapat meminimalisir efek samping akibat penggunaan obat sintetik tersebut (Sudha et al. 2011).

Enzim α -glukosidase merupakan enzim hidrolase yang berperan dalam proses pemecahan karbohidrat menjadi glukosa yang kemudian akan diserap tubuh sehingga akan meningkatkan kadar glukosa darah (Gao et al. 2008; Bosenberg 2008). Inhibisi α -glukosidase dapat

menunda penyerapan glukosa sehingga dapat menekan kadar glukosa postprandial (Ping *et al.* 2010; Lee *et al.* 2014). Beberapa penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tanaman dapat digunakan sebagai penghambat α -glukosidase. Indonesia sebagai negara maritim dan negara hujan tropis kaya akan keanekaragaman hayati. Hingga tahun 2001 Laboratorium Konservasi Tumbuhan, Fakultas Kehutanan IPB telah mendata dari berbagai literatur bahwa sekitar 2039 spesies tumbuhan obat berasal dari hutan Indonesia (Zuhud 2015). Terdapat 17 jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai antidiabetes (Zuhud dan Siswoyo 2001, Zuhud 2015). Salah satu mekanisme antidiabetes dengan menghambat enzim α -glukosidase. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antidiabetes adalah kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don).

Genus *Strychnos* terdiri dari 190 jenis dan tersebar di daerah tropis dan subtropis. *Strychnos nitida* G. Don digunakan oleh masyarakat di provinsi Yunnan, China sebagai obat tradisional. Masyarakat NTT juga menggunakan batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) sebagai obat tradisional seperti antidiabetes, antihiperглиkemia, malaria dan hipertensi. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Li *et al.* (2018), melaporkan bahwa hasil isolasi dari ranting *Strychnos nitida* G. Don diperoleh enam alkaloid diantaranya (\pm) Stritidas (1-3) dan tiga alkaloid indol monoterpenoid seperti (S)-methoxytubotaiwine, 19(R)-methoxytubotaiwine dan ervatamine B. Fraksinasi cair *Strychnos nitida* berhasil mengisolasi tiga senyawa indol baru diantaranya 22-deoxystrictosamide, 22-deoxystrictosamide Nb-oxide, dan vincosamide 20-O-b-D-xylopyranoside-11-O-b-D-glucopyranoside (Wang *et al.* 2016).

Berdasarkan penelitian tersebut belum

ada penelitian tentang aktivitas antioksidan dan inhibisi α -glukosidase oleh batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don). Oleh Karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antioksidan, aktivitas penghambatan α -glukosidase dan senyawa yang berperan sebagai antioksidan dan penghambat α -glukosidase.

2. METODOLOGI

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia, FMIPA IPB, Laboratorium dan Pusat Studi Biofarmaka IPB dan Puslabfor Mabes Polri. Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober 2017 sampai bulan Juni 2018.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) yang diperoleh dari Kabupaten Belu, NTT, etanol 70% , etil asetat teknis, n-Heksana teknis, asam askorbat, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), enzim α -glukosidase yang berasal dari rekombinan *Bacillus stearothermophilus* (Sigma G3651-250UN, Jerman), substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) (Sigma Aldrich, USA) Na_2CO_3 , DMSO (dimetil sulfoksida) dan akarbose.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *hammer mill*, neraca analitik, mikropipet (10-1000 μL), desikator, oven, rotary evaporator, corong pisah, mikroplat 96-sumuran dan ELISA reader. dan LC-MS/MS (Qmicro QAA 842).

Ekstraksi Sampel Batang Kayu Ular (*Strychnos nitida* G. Don) (Kim *et al.* 2008)

Batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) pertama kali dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil kemudian dikeringkan

dengan udara tanpa terkena cahaya matahari langsung selama 6 hari. Sampel kering kemudian dihaluskan menggunakan hamer mill. Ukuran simplisia yang digunakan berukuran 60 mesh. Simplisia sebanyak 50 gram diekstraksi dengan 500 mL etanol 70% kemudian dikocok menggunakan shaker selama 24 jam dengan kecepatan 150 rpm. Simplisia kemudian disaring dan filtrat di uapkan menggunakan rotary evaporator.

Fraksinasi Ekstrak Batang Kayu Ular (*Strychnos nitida* G.Don) (Kim et al. 2008)

Ekstrak etanol kemudian difraksinasi menggunakan metode fraksinasi cair-cair. Sebanyak 2 gram ekstrak etanol dilarutkan dengan 100 mL akuades pada suhu 50°C. Larutan tersebut kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah lalu difraksinasi dengan penambahan 100 mL n-heksan sehingga diperoleh fraksi n-heksan dan akuades. Fraksi akuades difraksinasi kembali menggunakan etil asetat. Fraksi n-heksan, etil asetat dan akuades yang diperoleh di uapkan menggunakan rotary vacuum evaporator pada suhu 50°C.

Uji Aktivitas Antioksidan (Salazar et al. 2009)

Metode uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode tersebut didasarkan pada kemampuan sampel yang digunakan dalam mereduksi radikal bebas stabil DPPH. Masing-masing 10 mg sampel (ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, air) dan asam askorbat sebagai kontrol positif ditimbang, kemudian ditambahkan etanol absolut dengan perbandingan 1:1000. Sebanyak 2.5 mg DPPH dilarutkan dengan 50 mL etanol. Sebanyak 100 μ L etanol absolut dimasukkan ke dalam microwell plate yang telah disiapkan. Sampel

yang diuji, ditambahkan sebanyak 100 μ L dengan variasi konsentrasi 12.5; 25; 50; 100; 150; 200 (ppm) dan 100 μ L asam askorbat sebagai kontrol positif dengan variasi konsentrasi 0.31; 0.62; 1.25; 2.5; 5; 10 (ppm). Sampel dan kontrol positif ditambahkan dengan 100 μ L larutan DPPH. Campuran dihomogenkan menggunakan vorteks dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dalam kondisi gelap. Serapan yang dihasilkan diukur dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 517 nm. Aktivitas persen hambat radikal bebas dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Nilai konsentrasi penghambatan aktivitas radikal bebas sebanyak 50% (IC_{50}) dihitung dengan menggunakan persamaan regresi. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan $y = 50$ serta nilai A dan B yang telah diketahui. Nilai x sebagai IC_{50} dapat dihitung dengan persamaan:

$$y = A + B \text{ Ln } (x)$$

Uji Aktivitas Inhibisi α -glukosidase (Sugiwati et al. 2009)

Uji aktivitas inhibisi α -glukosidase menggunakan kontrol positif yakni akarbose dan sampel (ekstrak etanol, fraksi etil asetat, fraksi n-heksan dan air) dengan variasi konsentrasi 150, 300, 450, 600, 750, 900 ppm. Pereaksi yang digunakan antara lain : p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) 10 mM sebagai substrat, enzim α -glukosidase 0.04 U/mL, dan Na_2CO_3 200 mM. Sampel sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 1 mL DMSO (dimetil sulfoksida) sebagai stok sampel. Stok sampel diencerkan dengan variasi konsentrasi 150, 300, 450, 600, 750, 900 ppm. 10 μ L sampel yang telah diencerkan dimasuk-

kan ke dalam sumur *microplate reader* dan ditambahkan dengan 50 µL buffer fosfat pH 7. Selanjutnya sebanyak 25 µL substrat pNPG dan 25 µL enzim α-glukosidase ditambahkan ke dalam sumur *microplate reader*. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µL Na₂CO₃. Hasil diukur dengan ELISA reader pada panjang gelombang 410 nm. Aktivitas persen inhibisi dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi terkoreksi blanko} - \text{Absorbansi terkoreksi sampel}}{\text{absorbansi terkoreksi blanko}} \right)$$

Identifikasi Senyawa Menggunakan LC-MS/MS (Rahmania et al. 2017)

Sebanyak 5µL larutan sampel dengan konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam instrumen LC-MS/MS dengan laju alir 0.2 mL/menit. Fase gerak yang digunakan adalah campuran asetonitril dan air, sedangkan fase diam yang digunakan adalah kolom C18. Waktu analisis dilakukan selama 23 menit pada temperatur pemisahan 50°C.

Tabel 1. Sistem reaksi inhibisi α-glukosidase

Reagen	Volume (µL)			
	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				
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100

Teknik Analisis Data

Data hasil penelitian dievaluasi dan dianalisis secara statistik dengan metode rancangan acak lengkap (RAL) satu faktorial yaitu one-way ANOVA menggunakan perangkat lunak Mini tab 16. Selanjutnya dilakukan uji beda nyata Tukey pada taraf nyata 95%. Nilai P < 0.05 menunjukkan data berbeda nyata secara signifikan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 2 menunjukkan hasil ekstraksi simplisia batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) memiliki nilai rendemen ekstrak 6.47%. Nilai rendemen ekstrak dari hasil partisi cair-cair ekstrak etanol 70% yaitu fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air berturut-turut 0.30%, 0.69% dan 0.59%. Berdasarkan hasil rendemen partisi cair-cair tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai rendemen ekstrak tertinggi. Hal ini diduga kandungan fitokimia dalam ekstrak etanol batang (*Strychnos nitida* G. Don) bersifat semipolar sehingga mudah terekstrak oleh pelarut etil asetat yang bersifat semipolar.

Tabel 2. Rendemen ekstrak dan fraksi *Strychnos nitida* G. Don dengan beberapa pelarut

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak etanol 70%	6.47
Fraksi n-Heksana	0.30
Fraksi etil asetat	0.65
Air	0.59

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Prinsip kerja DPPH adalah proses reduksi senyawa radikal bebas oleh senyawa antioksidan yang ditandai dengan memudarnya warna violet (Kedare et al. 2011). Pemudaran warna mengakibatkan penurunan nilai absorbansi, sehingga semakin rendah nilai absorbansi maka semakin tinggi aktivitas antioksidan (Damayanthi et al. 2011). Uji antioksidan ini menggunakan kontrol positif asam askorbat. Asam askorbat dengan variasi konsentrasi (0.3125; 0.625; 1.25; 2.5; 5; 10; 20) ppm memiliki persentase penghambatan berturut-turut sebesar (2.85; 6.02; 12.36; 26.15; 51.05; 85.41; 91.75)%.

Data yang disajikan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa persentase penghambatan ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air pada konsentrasi 200 ppm berturut-turut sebesar

77.04%, 13.40%, 86.03%, 69.23%. Persentase penghambatan fraksi n-heksan kurang dari 50% sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang sangat rendah. IC_{50} digunakan sebagai parameter pengukuran aktivitas antioksidan. Nilai IC_{50} (*inhibitor concentration* 50%) adalah besarnya konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50% (Katrin et al. 2015). Semakin kecil nilai IC_{50} , aktivitas antioksidannya semakin tinggi. Aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat digolongkan berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh. Nilai IC_{50} ekstrak di bawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya sangat kuat, nilai IC_{50} antara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kuat, nilai IC_{50} antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya sedang, nilai IC_{50} antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya lemah dan jika nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka

Tabel 3. Persentase penghambatan DPPH ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air

Konsentrasi (ppm)	Ekstrak etanol (%)	Fraksi n-heksan (%)	Fraksi etil asetat (%)	Air (%)
12.5	10.11	3.62	14.44	9.61
25	15.4	6.13	25.07	15.92
50	28.89	7.56	40.63	27.11
100	48.79	9.14	61.26	43.05
150	71.25	11.67	78.73	56.14
200	77.04	13.4	86.03	69.23

Tabel 4 Nilai IC_{50} ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air

Sampel	<i>Inhibition Concentration</i> (IC_{50})(μ g/ml)
Asam askorbat	5.54 \pm 0.8 ^d
Ekstrak etanol 70%	111.09 \pm 0.6 ^b
Fraksi n-heksan	>200
Fraksi etil asetat	86.83 \pm 0.59 ^c
Air	131.59 \pm 2.72 ^a

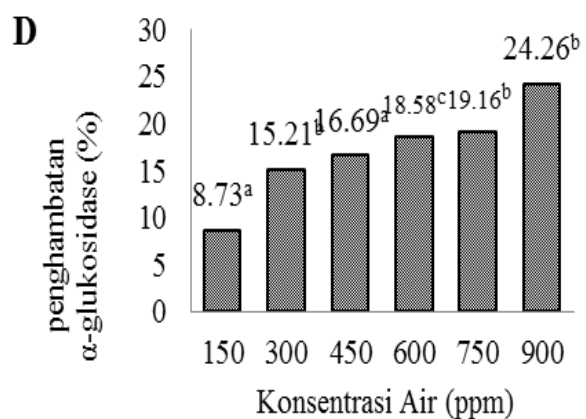
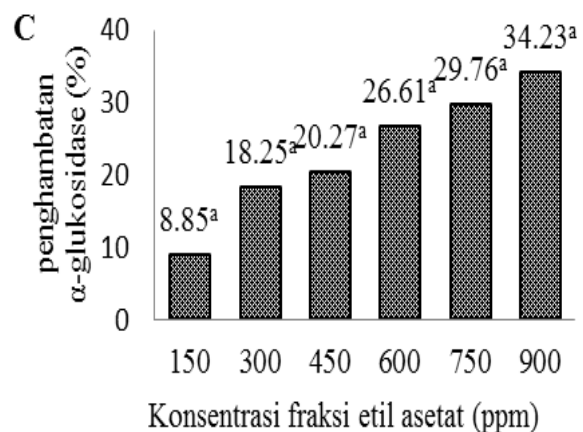
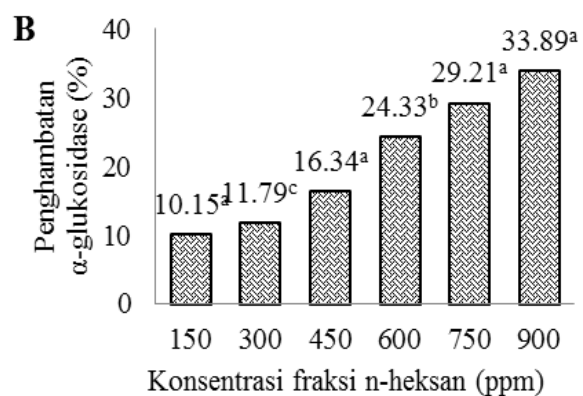
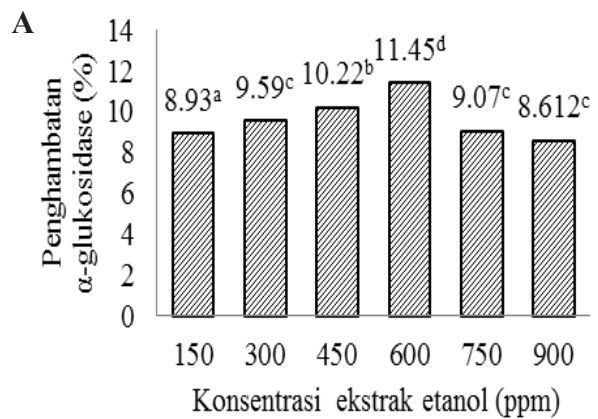
Keterangan: huruf (a,b,c,d) pada tabel menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($P < 0.05$)

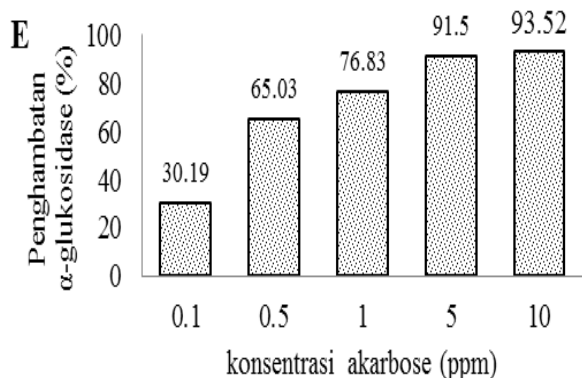
maka aktivitas antioksidannya sangat lemah (Molyneux 2004).

Hasil uji Tukey ($P < 0.05$) menunjukkan bahwa semua sampel termasuk asam askorbat sebagai kontrol positif memiliki aktivitas yang berbeda nyata dalam mereduksi DPPH. Berdasarkan nilai IC_{50} (Tabel 4), fraksi etil asetat tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat dan fraksi n-heksan tergolong memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Sarmento *et al.* (2015) melaporkan bahwa fraksi etil asetat *Strychnos lucida* mengandung senyawa fenolik dan triterpenoid sehingga memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dengan nilai sebesar $73.07 \mu\text{g/ml}$ dan fraksi n-heksan *Strychnos lucida* tidak memiliki aktivitas antioksidan. Sadono (2011) juga melaporkan bahwa kayu *Strychnos ligustrina* memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar $148 \mu\text{g/ml}$.

Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) menggunakan enzim α -glukosidase. α -glukosidase adalah enzim yang mengkatalisis pemutusan ikatan glikosidik α -1,4 dari molekul pati. Prinsip kerja pengujian ini adalah reaksi hidrolisis yang terjadi pada substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida menghasilkan α -D-glukosa dan p-nitrofenol yang berwarna kuning. Semakin lemah warna kuning yang dihasilkan p-nitrofenol merupakan indikator besarnya aktivitas inhibisi α -glukosidase (Sugiwati 2009).

Berdasarkan Gambar 1, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, air dan akardiose menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin tinggi persentase penghambatan α -glukosidase. Sedangkan ekstrak etanol pada konsentrasi 150-600 ppm menunjukkan peningkatan penghambatan α -glukosi-



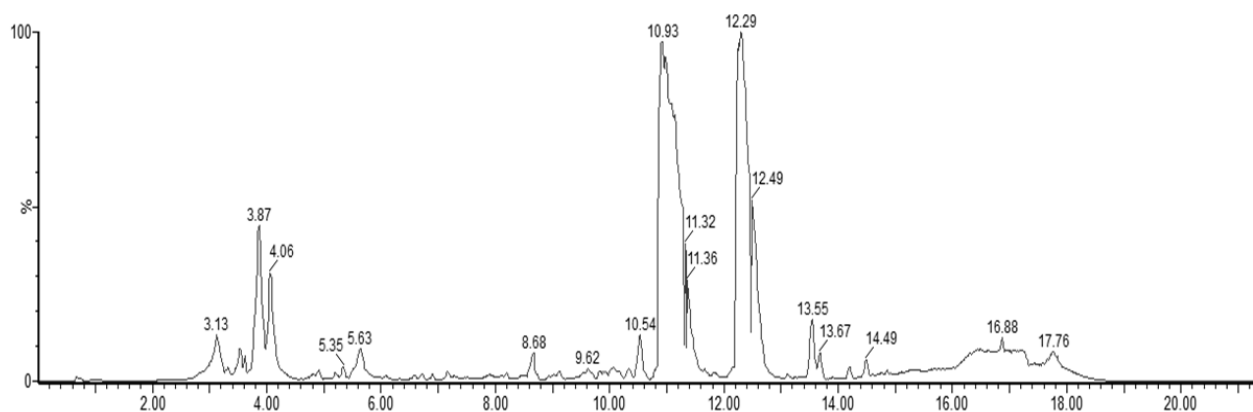


Gambar 1. Persentase penghambatan α -glukosidase ekstrak etanol (A), fraksi n-heksan (B), fraksi Etil asetat (C), air (D) dan Akarbose (E).

dase, namun pada konsentrasi 750 ppm dan 900 ppm mengalami penurunan persentase penghambatan α -glukosidase. Hal ini menunjukkan bahwa penghambatan α -glukosidase ekstrak etanol mencapai batas maksimum pada konsentrasi 600 ppm sehingga pada konsentrasi yang lebih tinggi mengalami penurunan persentase penghambatan. Akarbose dengan konsentrasi tertinggi 10 ppm memiliki persentase penghambatan sebesar 93.52%. Persentase penghambatan α -glukosidase ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan air pada konsentrasi 900 ppm berturut-turut adalah 8.61%, 33.89%, 34.23% dan 24.26%.

Berdasarkan uji Tukey ($p < 0.05$) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 900 ppm tidak terdapat beda nyata antara fraksi n-heksan dan etil asetat. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan persentase penghambatan α -glukosidase antara fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. Penelitian yang dilakukan oleh Poongunran et al (2014) yang menyatakan konsentrasi penghambatan α -glukosidase *Strychnos potatorum* pada konsentrasi 500 ppm sebesar 10.9% hal ini menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang tidak cukup besar. Oyedemi et al. (2013) juga melaporkan bahwa *Strychnos henningsii* (SH) pada konsentrasi (250, 500 dan 1000 ppm) Persentase penghambatan α -glukosidase berturut-turut sebesar 14.8%, 35.27%, 58.04%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan α -glukosidase oleh *Strychnos nitida* G.Don rendah karena untuk setiap sampel pada konsentrasi tertinggi 900 ppm persentase penghambatan kurang dari 50%.

Kromatogram LC-MS/MS fraksi etil asetat batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) menunjukkan terdapat 18 puncak dengan setiap puncak dengan bobot molekulnya masing-masing (Gambar 2). Berdasarkan hasil interpretasi kromatogram, terdapat 10 senyawa



Gambar 2 Kromatogram fraksi etil asetat *Strychnos nitida* G. Don dan struktur senyawa pada waktu retensi 12.308 menit

Tabel 4 Senyawa teridentifikasi dari kromatogram LC-MS/MS fraksi etil asetat

No	Waktu Retensi (Rt)	Bobot Molekul (m/z)	Senyawa Dugaan	Kelimpahan (%)
1	3.127	353.1867	Ethyl 6-amino-5-cyano-4-cyclohexyl-2-phenyl-4H-pyran-3-carboxylate	1.85
2	3.650	395.1986	1-(4-Amino-1,2,5-oxadiazol-3-yl)-N'-[(E)-cyclohexylmethylene]-5-(4-methylphenyl)-1H-1,2,3-triazole-4-carbohydraze	5.49
3	4.055	365.1865	Ethyl 4-[(2,3-dimethylphenyl)amino]-6-ethoxyquinolin-3-carboxylate	3.28
4	5.656	311.1755	4-(3,5-Dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)-6-hydrazino-N-(4-methylphenyl)-1,3,5-triazin-2-amine	1.62
5	7.176	308.224	Dihydrocapsaicin	0.31
6	10.902	304.3003	2-Hexyl-3,5-dipentylpyridine	1.82
7	12.294	332.3322	Benzenemethanamine, N,N-dioctyl-	28.03
8	13.532	360.3615	n-benzyl-octadecylamin	2.12
9	13.672	637.3077	Cyclo(L-arginylglycyl-L- α -aspartyl-D-Phenylalanyl-N-methyl-L-phenylalanyl)	0.01
10	14.486	353.1867	24-methyl-5-cholestane-hexol	0.32

metabolit yang terdapat dalam fraksi etil asetat (Tabel 5). Berdasarkan hasil dari kromatogram senyawa antidiabetes pada fraksi etil asetat adalah senyawa yang muncul pada waktu retensi 14.486 dengan bobot molekul sebesar 353.1867. Senyawa dengan rumus molekul $C_{28}H_{50}O_6$ dengan kelimpahan sebesar 0.32 adalah 24-methyl-5-cholestane-hexol. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sonkanmble *et al.* (2018), senyawa 5β -Cholestane- $3\alpha,7\alpha,12\alpha,24,25,26$ -hexol sebagai senyawa antidiabetes dengan menghambat α -glukosidase.

Berdasarkan hal tersebut, dapat disimpulkan bahwa fraksi etil batang kayu ular (*Strychnos nitida* G.Don) memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC_{50} 86.83 ppm. Fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat dengan konsentrasi tertinggi 900 ppm memiliki persen penghambatan paling tinggi yaitu sebesar 34.23% dan 33.89% namun tidak menunjukkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang cukup besar. Hasil identifikasi menunjukkan fraksi etil asetat batang kayu ular (*Strychnos nitida* G. Don) mengandung 24-methyl-5-cholestane-hexol yang diduga sebagai senyawa antidiabetes.

4. DAFTAR PUSTAKA

- Damayanthi E, Kustiyah L, Khalid M, Farizal H. 2010. Aktivitas antioksidan bekatul lebih tinggi daripada jus tomat dan penurunan aktivitas antioksidan serum setelah intervensi minuman kaya antioksidan. *JGP.5(3):205-210*
- Gao H, Huang Y, Gao B, Kawabata J. 2008. Chebulagic Acid Is a Potent α -Glucosidase Inhibitor. *Biosci. Biotechnol. Biochem. 72(2):601-603.*
- Goldenberg, R & Punthakee, Z. 2013). Definition, Classification and Diagnosis Of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. *Canadian Journal of Diabetes, 37, S8-S11*
- [IDF] International Diabetes Federation. 2013. IDF Diabetes Atlas Sixth Edition. ISBN: 2-930229-85-3
- Kartin, Bendra A.2015. Aktivitas antioksidan ekstrak, fraksi dan golongan senyawa kimia daun Premna oblongata Miq. *Pharm Sci Res. 2:1*
- Kim KY, Nam KA, Kurihara H, Kim SM. 2008. Potent α -glukosidase inhibitors purified from the red alga Grateloupia elliptica. *Phytochemistry. 69:2820-2825*
- Kedare SB, Singh SP. 2011. Genesis and development of DPPHof antioksidant assay. *J Food Sci Technol. 48(4):412-422*
- [Kemenkes] Kementerian Kesehatan. 2013. Riset Kesehatan Dasar 2013. Jakarta (ID): BPPK

- Kemenkes RI.
- Molyneus P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J.Sci. Technol.* 26(2): 211-219
- Li W, Tang GH, Chen L, Tang YQ, Zu YK, Liu B, Yin S. 2018. New pyridocarbazole alkaloids from *Strychnos nitida*. *Nat Prod Res.* 32:13
- Lee SK, Hwang YJ, Song JH, Jo JR, Kim MJ, Kim ME, Kim JI. 2007 Inhibitory activity of *Euonymus alatus* against α -glucosidase in vitro and in vivo. *J Nutr Re Pract.* 1(3):184-188
- Oyedemi s, Koekemoer T, Bradley G, Venter MVD, Afolayan A. 2013. In Vitro anti-hyperglycemia properties of the aqueous stem bark extract from *Strychnos henningii* (Gilg). *Int J Diabetes Dev Ctries.* 33(2):120-127
- Patra JK, Kim SH, Hwang H, Choi JW, Baek KH. 2015. Volatile compounds and antioxidant capacity of the bio-oil obtained by pyrolysis of Japanese red pine (*Pinus densiflora* Siebold and Zucc.). *Molecules.* 20
- Ping YX, Qing SC, Ping Y, Gang MR. 2010. α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activity of Common Constituents from Traditional Chinese Medicine Used for Diabetes Mellitus. *Chinese Journal of Natural Medicines.* 8(5):0349-0352.
- Poongunran J, Perera HKI, Fernando WIT, Handuwalage CS. 2014. α -glucosidase Inhibitory activity of some plants with known antidiabetic effects. *Health and Hygiene.* 157
- Sadono A. 2011. Aktivitas antioksidan dan analisis komponen senyawa fenolik dari pohon bidara laut (*Strychnos ligustrina*) [Skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Salazar AR, Perez-Lopez LA, Lopez-Arroyo J, Alanis-Garza BA, De Torres JL. 2009. Antimicrobial and antioxidant activities of plants from northeast of Mexico. *Journal Alternative Medicine* 5:1-6.
- Sarmiento NdC, Worachartcheewan A, Pingsaw R, Prachayasittikul S, Ruchirawat S, Prachayasittikul V. 2015. Antimicrobial, Antioxidant and Anticancer Activities of *Strychnos lucida* r. *Br. J Tradit Complement Altern Med.* 122-127.
- Sonkamble VV, Wagh N, Kamble LH. 2018. Inhibition of α -amylase and α -glucosidase by (6R)-22-hydroxy-23,24,25,26,27-pentanor-vitamin-D3-6,19-sulfur dioxide-adduct, monoamide and 5 β -cholestane-3 α ,7 α ,12 α ,24,25,26-hexol isolated from acetone extract of *Helianthus annuus* L. seeds. *Int J Pharm Pharm Sci.* 10:39-49
- Sudha P, Zinjarde S, Bhargava SY & Kumar AR. 2011. Potent α -amylase Inhibitory Activity of Indian Ayurvedic Medical Plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 11(1):5
- Sugiwati S, Setiasih S, Afifah E. 2009. Antihyperglycemic activity of the mahkotadewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] leaf extracts as an α glucosidase inhibitor. *Makara Kesehatan* 13:74-78.
- Wang B, Dai Z, Liu L, Wei X, Zhu PF, Yu HF, Liu YP, Luo XD. 2016. Indole Glycoside from Aqueous Fraction of *Strychnos nitida*. *Nat. Prod. Bioprospect* 6: 285-290
- Zuhud AME. 2015. Potensi Hutan Tropikal Sebagai Penyanga Bahan Obat Alam Untuk Kesehatan Bangsa (<http://www.researchgate.net/publication/267857735>). Diakses pada tanggal 18 Juli 2017.
- Zuhud dan Siswoyo. 2001. Rancangan Strategi Konservasi Tumbuhan Obat Indonesia. Kerjasama Pusat Pengendalian Kerusakan Keanekaragaman Hayati BAPEDAL dengan Fakultas Kehutanan IPB