



CURRENT BIOCHEMISTRY

ISSN: 2355-7877

e-ISSN: 2355-7931

Journal homepage: <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Journal E-mail: current.biochemistry@gmail.com

CB Current
Biochemistry

Antioxidant Activity, Inhibition α -Glucosidase of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle and Identification of Active Compounds

(Aktivitas Antioksidan, Inhibisi α -Glukosidase dari Daun Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* (L.)
Rendle dan Identifikasi Senyawa Aktif)

Najmah^{1*}, Hasim¹, Didah Nur Faridah²

¹Department of Biochemistry, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

²Department of Food Science and Technology, IPB University, Bogor, 16680, Indonesia

Received: 12 April 2021 ; Accepted: 20 May 2021

Corresponding author : Najmah ; Departemen Biokimia IPB; e-mail: najmahkim235@gmail.com

ABSTRACT

*Mellitus diabetes (DM) has become a health problem in various countries even in Indonesia some people with Covid-19 have comorbid DM. DM treatment can be done by inhibiting the absorption of glucose by inhibiting enzymes α -glucosidase in the intestine. Treatment using synthetic drugs often causes side effects and to overcome the problem herbal medicine becomes a choice. The fragrant lemongrass plant (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) has bioactive potential based on previous research, but its potency as a DM drug needs further exploration. The study aimed to determine the potency of fragrant lemongrass leaves (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) as a DM drug by determining antioxidant and α -glucosidase inhibition activities and then the most active sample was subjected to compound identification. Fragrant lemongrass leaves (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) were macerated using ethanol concentrations of 96% followed by multilevel fractionation with solvents n-hexane, water and ethyl acetate. Testing of antioxidant activity was carried out using the DPPH method, antidiabetic activity using α -glucosidase inhibition and identification of compounds using Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry (LC-MS/MS). The n-hexane fraction test results showed very strong antioxidant activity with an IC50 value of 8.23 ppm and an ic50 inhibition value of α -glucosidase of 311.87 ppm so that it does not have sufficiently active α -glucosidase inhibition activity. Identification of n-hexane fractions using LC-MS / MS showed the presence of compounds namely ar-turmerone as an antioxidant, and antidiabetes compounds beesioside N and notohamosin A. Based on the results it can be concluded that the fraction of n-hexane has the potential as a source of antioxidants and its inhibitory activity against α -glucosidase is not significant.*

Keywords: *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, DPPH, ELISA, LC-MS/MS

ABSTRAK

Penyakit Diabetes Mellitus (DM) telah menjadi masalah kesehatan di berbagai negara bahkan di Indonesia termasuk sebagian penderita Covid-19 memiliki komorbid DM. Pengobatan DM dapat dilakukan dengan menghambat penyerapan glukosa melalui penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase di usus. Pengobatan menggunakan obat sintetik sering kali menimbulkan efek samping untuk mengatasi masalah tersebut sehingga obat herbal menjadi pilihan alternatif. Tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) memiliki potensi berdasarkan dari penelitian terdahulu, namun potensinya sebagai obat DM perlu dilakukan eksplorasi lebih lanjut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) sebagai obat DM dengan menentukan aktivitas antioksidan dan inhibisi α -glukosidase kemudian sampel teraktif diidentifikasi senyawa. Daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) dimaserasi menggunakan etanol konsentrasi 96% dilanjutkan fraksinasi bertingkat dengan pelarut n-heksan, air dan etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH dan aktivitas antidiabetes menggunakan inhibisi α -glukosidase serta identifikasi senyawa menggunakan Liquid Chromatograph-Mass Spectrometry (LC-MS/MS). Hasil pengujian fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 8,23 ppm dan nilai IC₅₀ inhibisi α -glukosidase sebesar 311,87 ppm sehingga tidak memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase signifikan. Identifikasi fraksi n-heksan menggunakan LC-MS/MS mengandung senyawa yaitu ar-turmeron sebagai antioksidan, dan antidiabetes senyawa beesioside N dan notohamosin A. Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan fraksi n-heksan berpotensi sebagai sumber bahan antioksidan dan aktivitas inhibisi α -glukosidase tidak signifikan.

Kata kunci: *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, DPPH, ELISA, LC-MS/MS

1. PENDAHULUAN

Pasien Covid-19 yang terkonfirmasi memiliki penyakit penyerta atau komorbid sebagian merupakan pasien diabetes mellitus (DM) (Kemenkes RI 2020). Prevalensi diabetes Indonesia termasuk kedalam 10 urutan negara dengan kasus diabetes sebanyak 10,7 juta jiwa pada urutan ke-7 dan menjadikan negara di Asia Tenggara terdaftar nominasi tersebut. Untuk kawasan Asia Tenggara, Indonesia dengan kasus sebanyak 11,3% terdaftar pada urutan ke-3 (Atlas 2019). Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) mencatat prevalensi peningkatan selama 5 tahun, semula sebanyak 6,9% di tahun 2013 dan menjadi 8,5% pada tahun 2018 (Kemenkes RI 2020).

Penyakit DM memicu terjadinya stres oksidatif sehingga penderita DM sangat dianjurkan mengonsumsi antioksidan dari luar tubuh. Pengobatan DM dapat dilakukan dengan cara menghambat kerja enzim α -

glukosidase di usus halus sehingga menurunkan kadar gula darah. Obat-obatan seperti akarbos, miglitol dan voglibos dapat menghambat kerja enzim α -glukosidase namun, menghasilkan efek samping berupa kembung, diare, flatulensi dan ketidaknyamanan perut (Derosa & Maffioli 2012). Akibat efek samping ini bahan herbal menjadi pilihan alternatif selain itu mudah diperoleh.

Sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) merupakan tanaman yang masih satu genus dengan sereh dapur (*Cymbopogon citratus*), dimana sereh dapur memiliki potensi sebagai antidiabetes dengan cukup dibuat berupa minuman teh. Beberapa penelitian mengenai potensi sereh wangi, Jumepaeng *et al.* (2013) melaporkan aktivitas penghambatan α -amilase dari minyak atsiri sereh wangi. Aktivitas antioksidan pada sereh dilaporkan oleh G *et al.* (2013) bahwa nilai IC₅₀ ekstrak kasar metanol dari batang sereh wangi yaitu

67,18 mg/mL dan nilai IC₅₀ dari fraksi etil asetat yaitu 68,96 mg/mL. Artinya nilai IC₅₀ masih diantara 50-100 mg/mL sehingga dikatakan memiliki antioksidan yang kuat. Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan menganalisis daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) untuk memperoleh obat DM dengan menggunakan aktivitas antioksidan dan inhibisi α -glukosidase dan dilanjutkan dengan identifikasi senyawa.

2. METODOLOGI

Preparasi Sampel

Daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) dari kebun Cikabayan IPB dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu ditiriskan, dirajang dan dikeringkan dalam oven pada suhu 50 °C selama 3 hari. Selanjutnya dibuat simplisia ukuran 60 mesh dengan cara daun diblender membentuk serbuk dan disaring serta diayak untuk memperoleh ukuran mesh yang sesuai (Alfarabi et al. 2010).

Ekstraksi Simplisia

Simplisia sebanyak 50 g diekstraksi dengan 500 mL etanol konsentrasi 96%, dishaker selama 24 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 130rpm. Kemudian, filtrat diperoleh dari maserat yang disaring. Ekstraksi dilakukan sebanyak tiga kali ulangan, selanjutnya dipekatkan melalui alat *rotary evaporator* pada suhu 50 °C untuk memperoleh ekstrak kasar (Sa'adah & Nurhasnawati 2017).

Fraksinasi Bertingkat

Ekstrak difraksinasi dengan corong pisah menggunakan pelarut bertingkat yaitu pelarut non polar (n-heksan), semipolar (etil asetat) dan polar (air). Ekstrak sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam pelarut n-heksan:air (perbandingan 1:1) dengan bantuan sonikator lalu dipisahkan dengan menggunakan corong pisah. Larutan ekstrak yang akan dipisahkan

dikocok dan didiamkan selama 30 menit di dalam corong pisah hingga terbentuk dua lapisan n-heksan dan air kemudian dipisahkan dan disimpan sebagai fraksi n-heksan. Selanjutnya fraksi air difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat sehingga diperoleh lapisan air dan etil asetat. Fraksinasi bertingkat diulang sebanyak tiga kali. Setelah itu, dipekatkan pada suhu 50 °C menggunakan *rotary evaporator* kemudian fraksi disimpan pada suhu 4 °C (Ismail et al. 2016).

Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Metode pengujian menggunakan metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA. D9132) yang didasarkan pada kemampuan sampel dalam mereduksi radikal bebas stabil DPPH. Pembuatan serbuk DPPH, sebanyak 1,6 mg ditambahkan metanol 0,4 mM sebanyak 10 mL dan distirer 30 menit setelah homogen ditambahkan bufer MES pH 6 dan metanol 20% masing-masing 10 mL sehingga diperoleh campuran DPPH. Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung dengan konsentrasi setiap tabung bervariasi 0; 1.25; 2.5; 3.75; 5; 6.25 (ppm). Selanjutnya, setiap tabung ditambahkan 1 mL campuran DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dan serapan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis (Hitachi type U-2800) pada panjang gelombang 520 nm. Asam askorbat (vitamin c) sebagai senyawa standar (Hasim et al. 2017). Aktivitas persen hambat dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{Ab-As}{As} \times 100\%$$

Keterangan:

Ab : absorbansi blanko

As : absorbansi sampel

Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier dimana sumbu x merupakan konsentrasi dan

sumbu y adalah persen penghambatan. Persamaan regresi $y = bx + a$ digunakan untuk menentukan IC_{50} dengan persamaan :
 $IC_{50} = \{(50-a)/b\}$

Uji inhibisi α -Glukosidase

Sampel dipipet 10 μ L, blanko dan larutan standar (konsentrasi 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm) dimasukkan ke dalam sumur *microplate reader* (Biotek Epoch), dimetil sulfoksida (DMSO) (Merck, Jerman) digunakan sebagai pelarut dan ditambahkan buffer fosfat (pH 7,0) sebanyak 50 μ L. Selanjutnya tiga menit sebelum uji ditambahkan substrat p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) (Sigma Aldrich

USA. N1377) 10 mM dipipet 25 μ L. Reaksi diinisiasi dengan ditambahkan α -glukosidase 25 μ l pada konsentrasi 0.04 U/mL ke buffer fosfat (pH 7.0) selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 30 menit. Kemudian pengukuran menggunakan *Enzym-Linked Immunosobent Assay* (ELISA reader) pada panjang gelombang 410 nm. Pengerjaan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dan kontrol positif menggunakan larutan akarbos. Selanjutnya nilai IC_{50} ditentukan dengan perhitungan % inhibisi. Sistem reaksi ditunjukkan pada Tabel 1 (Sholikha & Muhammad 2020).

% inhibisi =

$$\frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi sampel}} \times 100\%$$

Tabel 1 Sistem reaksi inhibisi α -glukosidase

Pereaksi	Volume (μ L)			
	Blanko	Kontrol Blanko	Sampel	Kontrol Sampel
DMSO	10	10	-	-
Sampel	-	-	10	10
Buffer	50	50	50	50
Substrat	25	25	25	25
Enzim	25	-	25	-
Buffer	-	25	-	25

Inkubasi 37 $^{\circ}$ C 30 menit

Identifikasi Senyawa

Fraksi n-Heksan dilanjutkan untuk diidentifikasi menggunakan LC-MS/MS (Waters Alliance 2659-Quattro Micro) dengan tipe QMicro QAA 842 dan detektor MS-MS Waters Quattro Micro. Jenis kolom C18, diameter 4.6 panjang 150 mm, ukuran partikel 5 μ m, ukuran pori 130 \AA , fase gerak campuran air dan metanol (10:90), tekanan maksimal 300 Bar. Sampel yang sudah dimasukkan ke kolom LC memiliki laju alir 0.800 mL/menit dengan kolom suhu 40 $^{\circ}$ C, suhu sampel 20 $^{\circ}$ C dan waktu akhir 35 menit. Jenis quadropole adalah modus scan 5 detik. Spektrum yang terbentuk merupakan muatan (m/z) dari rasio massa.

Analisis Data

Analisis data menggunakan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) dan Uji Tukey pada selang kepercayaan 95%, taraf uji $\alpha = 0.05$. Data dianalisis menggunakan program SPSS Statistics 16.0

3. HASIL

Rendemen Ekstrak dan Fraksi Sereh Wangi

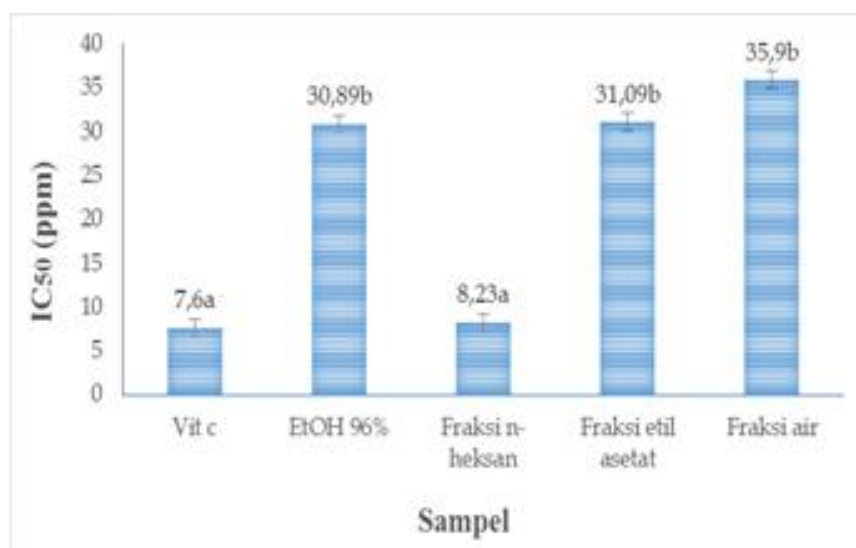
Simplisia yang diperoleh memiliki kadar air sebesar 6%. Ekstrak daun sereh wangi diperoleh dengan metode maserasi pada suhu ruang menggunakan etanol konsentrasi 96%. Ekstraksi dilakukan tiga kali ulangan yang bertujuan mengekstrak secara optimal senyawa bioaktif dalam serbuk simplisia.

Filtrat hasil ekstraksi diuapkan pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh maserat etanol 96% kering. Hasil ekstraksi diperoleh dengan menghitung persentase rendemen. Ekstrak etanol 96%

dipisahkan dengan fraksinasi agar diperoleh fraksi yang bertingkat sesuai dengan kepolaran dan menghitung persentase rendemen. Rendemen sereh wangi ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Rendemen ekstrak dan fraksi sereh wangi

Sampel	Rendemen rata-rata (%)
EtOH 96%	13.2
Fraksi n-heksan	5.86
Fraksi air	5.34
Fraksi etil asetat	1.80



Gambar 1 Aktivitas antioksidan sereh wangi

Aktivitas Antioksidan

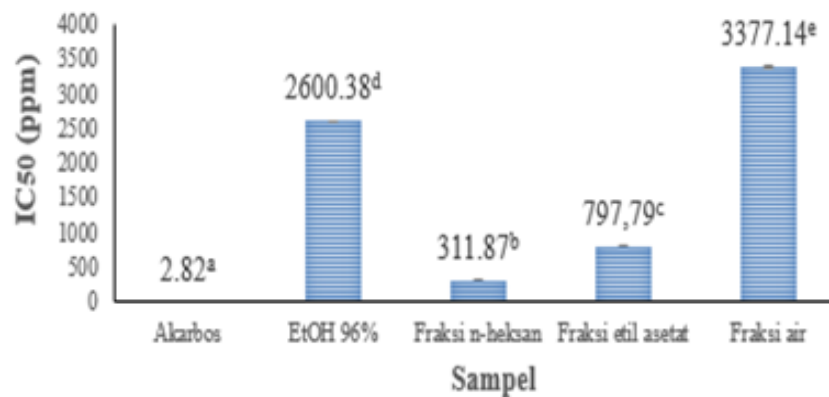
Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan perubahan warna ungu menjadi kuning yang menandakan berkurangnya konsentrasi DPPH akibat penghambatan reaksi oksidasi. Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier. Persamaan regresi $y = bx + a$ digunakan untuk menentukan IC₅₀. Hasil uji menunjukkan pada selang kepercayaan 95% aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi berbeda nyata. Gambar 1 menunjukkan nilai IC₅₀, kesamaan huruf menunjukkan aktivitas antioksidan tidak signifikan

Inhibisi Enzim α -Glukosidase

Pengujian ini prinsip kerjanya adalah terjadi reaksi hidrolisis dimana p- nitrofenil- α -D-glukopiranosida menghasilkan produk α -D-glukosa dan p-nitrofenol ditandai dengan warna kuning. Perubahan warna yang dihasilkan menjadi indikator aktivitas inhibisi α -glukosidase, warna kuning semakin memudar menunjukkan aktivitas inhibisi yang tinggi (Susilawati *et al.* 2017). Daya hambat ekstrak dan fraksi terhadap α -glukosidase ditentukan berdasarkan perhitungan nilai IC₅₀ yang diperoleh. Nilai IC₅₀ merupakan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas enzim dan akarbos digunakan sebagai pembanding.

Hasil penelitian menunjukkan uji yang dilakukan pada akarbus didapatkan nilai IC₅₀ 2.82 ppm. Huruf yang berbeda signifikan pada selang kepercayaan 95%. Gambar 2

menunjukkan fraksi n-heksan paling poten dengan nilai IC₅₀ 311.87 ppm dibandingkan dengan fraksi lainnya dan ekstrak.



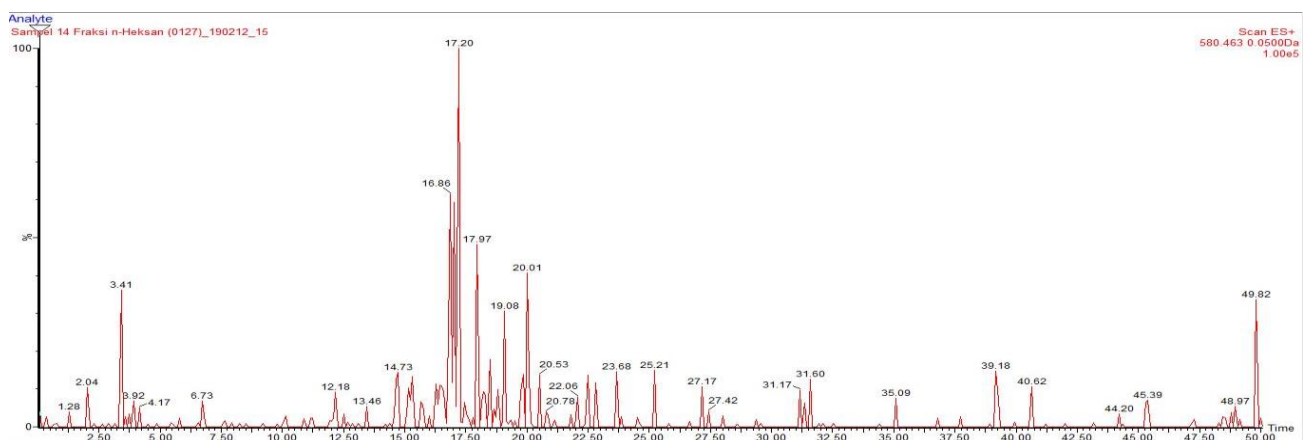
Gambar 2 Inhibisi α -glukosidase sereh wangi

Identifikasi Senyawa Fraksi n-heksan

Senyawa aktif pada sampel diidentifikasi menggunakan LCMS/MS, fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan terkuat dan aktivitas penghambatan α -glukosidase tertinggi sehingga dilanjutkan identifikasi kandungan senyawa. *Peak* hasil LCMS/MS diinterpretasikan menggunakan *software* masslynx selanjutnya ditelusuri formula dibank data pubchem dan chemspider. Gambar 3 menunjukkan *peak* hasil LCMS/MS

perbandingan sumbu y merupakan persentase kelimpahan dan sumbu x merupakan waktu retensi (Rt).

Hasil interpretasi *peak* pada fraksi n-heksan menggunakan *software* masslynx dan bank data pubchem dan chemspider untuk menganalisis kemungkinan senyawa dengan rumus molekul yang sama. Tabel 3 menunjukkan identifikasi senyawa dari fraksi n-heksan.



Gambar 3 Peak LC-MS/MS dari fraksi n-heksan

Tabel 3 Identifikasi senyawa fraksi n-heksan dari serih wangi

No	Waktu Retensi (Rt)	m/z	Bobot Molekul (g/mol)	Kemungkinan Nama Senyawa	Senyawa Dengan Formula Yang Sama	
					Pubchem	Chempider
1	2.04	301.2764	300.483	<i>12-Hydroxyoctadecanoic acid</i>	671	175
2	3.41	475.3437	474.682	<i>Notohamosin A</i>	411	111
3	14.73	701.5118	701.095	<i>[11,11,11-Tris(3,5-di-tert-butylphenyl)]undeca-1,3,5,7,9-pentayne</i>	2	1
4	16.86	257.0647	256.21	<i>3,4,5-trimethoxyphthalic acid</i>	152	45
5		257.0647	256.255	<i>2,3-Diethynyl-9,10-anthraquinone</i>	1649	3
6	17.20	595.6425	595.094	<i>3,7,11,15,18,22,26,30-octamethyltriacontane-1,32-diol</i>	26	11
7	17.97	217.155	216.324	<i>Ar-turmeron</i>	4267	2111
8	19.08	217.0285	216.195	<i>dodeca-1,3,5,7,9,11-hexaynyl prop-2-enoate</i>	1	0
9	20.01	639.4080	638.839	<i>Beesiosides N</i>	78	29
10	20.58	409.3729	408.667	<i>(E)-2-heptyl-10-oxononadec-11-enoic acid</i>	99	12
11	23.68	475.2804	474.641	<i>Biyouyanagin A</i>	257	47
12	25.21	701.5118	701.095	<i>[11,11,11-Tris(3,5-di-tert-butylphenyl)]undeca-1,3,5,7,9-pentayne</i>	2	1
13	27.17	217.0918	216.186	<i>myo-inositol dihydrate</i>	1	0
14				<i>bis[1-methyl-6-(5,5,8,8-tetramethyl-6,7-dihydronaphthalen-2-yl)naphthalen-2-yl]methanone</i>	2	0
15	31.50	683.425	682.992	<i>(2R,3R,4R,5R)-hexane-1,2,3,4,5,6 hexol;hydrogen peroxide</i>	6	0
16	39.18	217.0918	217.0923			
16	40.62	217.2183	216.365	<i>10-propoxydecan-1-ol</i>	910	1
17	49.82	551.4326	550.810	<i>Cholestan-3-ylhexopyranosid</i>	87	5

4. DISKUSI

Rendemen Ekstrak dan Fraksi Serih Wangi

Ekstraksi dengan metode maserasi melalui perendaman dengan pelarut etanol 96%, pemilihan pelarut didasarkan pada sifat

yang tidak berbahaya, aman dan tidak beracun (Azis *et al.* 2014). Pelarut etanol 96% menghasilkan persen rendemen tertinggi pada bahan sediaan obat herbal (Arifianti *et al.* 2014). Prinsip maserasi didasarkan pada proses difusi dengan adanya perbedaan

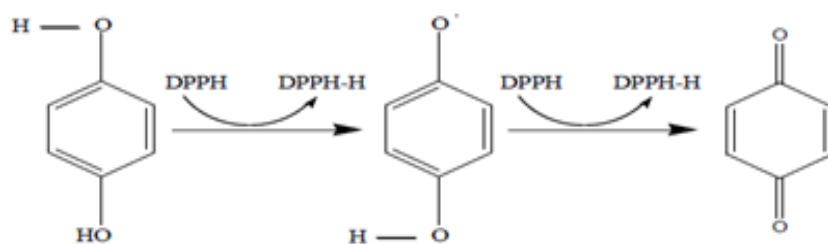
konsentrasi pada sel, larutan konsentrasi yang tinggi dalam sel akan keluar dan tergantikan oleh pelarut yang mempunyai konsentrasi rendah sehingga keseimbangan tercapai di dalam sel maupun di luar sel.

Maserat hasil maserasi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh rendemen sebesar 13.2% rendemen ini lebih tinggi dari penelitian Rizkita (2017) dimana ekstrak daun sereh wangi menggunakan etanol 70% menghasilkan rendemen sebesar 8.17%. Nuryadin *et al.* (2018) pada daun sereh dapur menggunakan etanol menghasilkan rendemen sebesar 3.95%. Ekstrak kasar etanol sereh wangi dilanjutkan fraksinasi dengan meningkatkan kepolaran menggunakan pelarut yang berbeda-beda sehingga diperoleh senyawa yang sesuai tingkat kepolaran masing-masing. Hasil fraksinasi dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* sehingga didapatkan rendemen fraksi n-heksan sebesar 5.86%, fraksi air 5.34% dan fraksi etil asetat sebesar 1.8%. Berdasarkan hasil rendemen dari fraksi menunjukkan fraksi n-heksan tertinggi dan diduga fitokimia dalam ekstrak daun sereh wangi bersifat non polar sehingga mudah diekstrak oleh n-heksan yang bersifat non polar.

Aktivitas antioksidan

Antioksidan merupakan zat yang bisa berkompetisi dan menghambat atau menghambat proses oksidasi radikal bebas pada tingkat konsentrasi yang relatif rendah

(Warsito *et al.* 2017). Senyawa yang berperan mendonorkan atom hidrogennya terhadap radikal bebas dikatakan memiliki aktivitas antioksidan. Besarnya penghambatan DPPH dinyatakan dalam IC₅₀ (*inhibitory concentration*), yaitu kemampuan konsentrasi ekstrak dan fraksi dalam penghambatan aktivitas DPPH sebesar 50%. Menurut Putri & Hidajati (2015) tingkatan kekuatan senyawa antioksidan yaitu sangat kuat jika nilai IC₅₀ kurang dari 50 ppm, untuk tingkatan kuat apabila berada pada rentang 50 ppm hingga 100 ppm, tingkat sedang antara 100 ppm sampai 250 ppm dan kategori lemah antara 250 sampai dengan 300 ppm. Artinya semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidan suatu senyawa bioaktif semakin kuat. Gambar 1 menunjukkan nilai IC₅₀ dari ekstrak dan fraksi lebih besar dari vitamin C. Hal ini dikarenakan ekstrak dan fraksi bukan senyawa murni artinya masih mengandung campuran senyawa lain yang kemungkinan tidak mempunyai aktivitas antioksidan. Tetapi masih dikategorikan memiliki aktivitas yang sangat kuat dengan nilai kurang dari 50 ppm. Nilai IC₅₀ pada vitamin C sebesar 7,6 ppm dan fraksi n-heksan sebesar 8,23 ppm dari hasil uji Tukey keduanya tidak berbeda nyata. Ekstrak daun etanol 96% dan fraksi dapat dikatakan lebih tinggi dari penelitian yang diperoleh G *et al.* (2013) dengan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat sebesar 68,96 ppm dan ekstrak metanol batang sereh wangi sebesar 67,18 ppm. Gambar 4 menunjukkan mekanisme reaksi peredaman radikal oleh polifenol.



Gambar 4 Perendaman DPPH oleh Polifenol

Gugus hidroksil pada senyawa fenolik dan flavonoid dapat menstabilkan atau menangkap senyawa radikal bebas pada DPPH, menunjukkan perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang menandakan terbentuknya polifenol yang stabil dan DPP hidrazin yang bukan senyawa radikal (G *et al.* 2013).

Fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi diduga karena sereh wangi mengandung minyak atsiri yang bersifat non polar. Minyak atsiri daun sereh (*Cymbopogon citratus*) memiliki aktivitas antioksidan sebesar 44.06 mg Trolox/mL sampel (Vazquez-Briones *et al.* 2015). Minyak atsiri pada batang sereh (*Cymbopogon citratus*) memiliki persen penghambatan terhadap DPPH sebesar 89.5% . Silou *et al.* (2017) melaporkan, minyak atsiri sereh wangi (*Cymbopogon nardus*) mengandung sitronelal (40-48%), geraniol (10-22%), sitronelol (10-12%), limonen (2-3%), geranil asetat (1-2%), linalool (1%). Geraniol dan geranil asetat memiliki aktivitas antioksidan sebesar 24.6 dan 4.2 ppm (Farhath *et al.* 2012).

Inhibisi α -glukosidase

Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari ekstrak dan fraksi daun sereh wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) sebagai antidiabetes berdasarkan nilai IC50. α -glukosidase merupakan enzim kunci di usus yang mengkatalisis penyerapan glukosa dengan hidrolisis pada ikatan glikosidik. Inhibisi terhadap α -glukosidase menyebabkan berkurangnya penyerapan glukosa didalam tubuh (Balaji *et al.* 2015). Persentase inhibisi dari enzim α -glukosidase dinyatakan dalam IC50. Nilai IC50 semakin kecil menandakan kemampuan inhibisi α -glukosidase semakin kuat. Warna kuning yang semakin memudar menandakan terbentuknya p-nitrofenol yang menandakan besarnya penghambatan α -glukosidase. Pengukuran

absorbansi menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 410 nm. Kelebihan pengerjaan relatif sederhana, ekonomis, dan memiliki sensitivitas yang cukup tinggi serta hasil yang cukup akurat walaupun latutan uji yang digunakan dalam jumlah sangat kecil (Charisma *et al.* 2020).

Gambar 2 menunjukkan nilai IC50, akarbus digunakan sebagai kontrol dengan IC50 2,82 ppm. Tingkat kekuatan inhibisi terhadap enzim α -glukosidase ialah sangat aktif jika $IC_{50} \leq 25$ ppm, aktif jika $25 \text{ ppm} < IC_{50} \leq 50$ ppm, kurang aktif jika $50 \text{ ppm} < IC_{50} \leq 100$ $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif jika $IC_{50} > 100$ $\mu\text{g/mL}$ (Sukmawati *et al.* 2014). Artinya ekstrak dan fraksi air, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan dikategorikan tidak aktif dengan nilai IC50 berturut-turut 2600,38 ppm; 3377,14 ppm; 797,79 ppm dan 311,87 ppm. Hal ini kemungkinan ekstrak dan fraksi yang masih dalam keadaan senyawa campuran sehingga masih terdapat senyawa yang tidak memiliki aktivitas inhibisi terhadap α -glukosidase.

Penelitian ini menunjukkan fraksi n-heksan mempunyai kemampuan menginhibisi α -glukosidase lebih baik dibandingkan dengan fraksi air, fraksi etil asetat dan ekstrak. Hal ini diduga akibat perbedaan kepolaran pelarut mempengaruhi kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan sehingga aktivitas inhibisi yang diperoleh juga berbeda. Adanya senyawa fenolik dapat mengikat protein enzim sehingga sampel dapat menghambat enzim yang menghidrolisis karbohidrat (Zhang *et al.* 2015).

Fraksi n-heksan yang bersifat non polar pada sereh wangi juga mengandung minyak atsiri yang bersifat non polar. Interpretasi senyawa LC-MS/MS yang menunjukkan adanya senyawa ar-turmeron umumnya terdapat dalam minyak atsiri. Senyawa minyak atsiri seperti mircen, sitral, dan geraniol pada sereh (*Cymbopogon citratus*) diketahui sebagai inhibitor aldose reduktase dengan

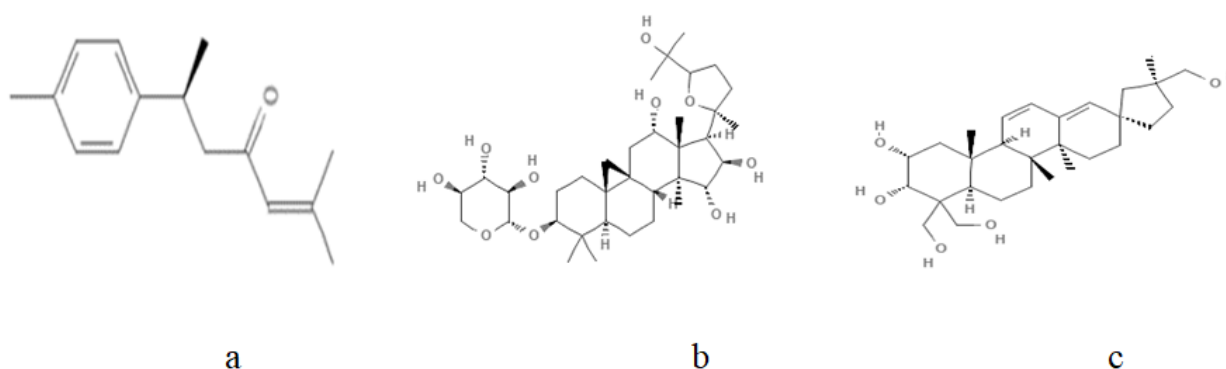
menggunakan metode docking *in silico* (Saraswathi 2011) dan telah dibuktikan melalui penelitian *in vivo* pada tikus model diabetes tipe 2 (Bharti *et al.* 2013). Minyak atsiri daun dan batang sereh (*Cymbopogon citratus*) mampu menurunkan kadar glukosa melalui hambatan aktivitas β -glukosidase (Mirghani *et al.* 2012). Aktivitas penghambatan α -amilase dari minyak atsiri sereh wangi (*Cymbopogon nardus*) yang telah diuapkan dengan air, secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan obat akar bosa (Jumepaeng *et al.* 2013).

Sampel yang paling baik pada aktivitas antioksidan dan inhibisi α -glukosidase adalah fraksi n-heksan sehingga dilanjutkan ke identifikasi senyawa menggunakan LC-MS/MS

Identifikasi Senyawa Fraksi n-heksan

Gambar 3, terlihat *peak* dengan waktu retensi yang berbeda. *Peak* selanjutnya diolah dengan masslynx dan ditelusuri senyawa di bank data pubchem dan chemspider, pada Tabel 3 terdapat senyawa-senyawa dari fraksi n-heksan sebanyak 17. Terdapat beberapa senyawa diduga sebagai obat DM yaitu beesioside N,

ar-turmeron dan notohamosin A. Senyawa beesioside N (Gambar 5) yang muncul pada waktu retensi 3,41 menit merupakan golongan triterpenoid mempunyai rumus molekul $C_{35}H_{58}O_{10}$. Triterpenoid merupakan komponen aktif obat antidiabetes yang memiliki efek dalam sekresi insulin dan penyerapan glukosa (Sunaryo H, Kusmardi 2012; Rathore *et al.* 2014). Ar-turmeron muncul pada waktu retensi 17,97 menit, senyawa ini termasuk dalam kelompok terpenoid dengan rumus molekul $C_{15}H_{20}O$ dan massa molekul 216.324 g/mol. Menurut Lekshmi *et al.* (2012) ar-turmeron, komponen volatil utama dalam rimpang kunyit menunjukkan potensi α -glukosidase IC_{50} sebesar 0.28 ppm) dan penghambatan α -amylase IC_{50} sebesar 24,5 ppm. Penelitian Liju *et al.* (2011), menunjukkan ar-turmeron juga berperan dalam aktivitas antioksidan superoksida, radikal hidroksil, dan peroksidasi lipid pada tikus diuji *in vitro* maupun *in vivo*. Avanco *et al.* (2017), melaporkan ar-turmeron secara *in vitro* berperan dalam menghambat radikal bebas dengan metode DPPH dan ABTS.



Gambar 5 (a) Struktur Ar-turmeron, (b) Beesioside N, dan (c) Notohamosin A

Senyawa yang kemungkinan juga berperan dalam antidiabetes adalah notohamosin A, senyawa ini dengan waktu retensi 23,68 menit memiliki rumus molekul $C_{29}H_{46}O_5$ dan massa molekul 474,682 g/mol.

Notohamosin A mempunyai efek terhadap aktivitas dari α -glukosidase sebesar 42% dengan konsentrasi 0.5 mM (Jabeen *et al.* 2013).

Hasil pengujian fraksi n-heksan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 8,23 ppm dan nilai IC₅₀ inhibisi α -glukosidase sebesar 311,87 ppm sehingga tidak memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase cukup aktif. Identifikasi fraksi n-heksan menggunakan LC-MS/MS mengandung senyawa yaitu ar-turmeron sebagai antioksidan, dan antidabetes senyawa beesioside N dan notohamosin A. Berdasarkan hasil pengujian dapat disimpulkan fraksi n-heksan berpotensi sebagai sumber antioksidan dan aktivitas inhibisi α -glukosidase tidak cukup aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfarabi M, Bintang M, Suryani, Safithri M. 2010. The Comparative Ability of Antioxidant Activity of Piper crocatum in Inhibiting Fatty Acid Oxidation and Free Radical Scavenging. *Hayati J. Biosci.* 17(4):201–204.doi:10.4308/hjb.17.4.201.
- Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi E-Journal Planta Husada Vol.2,No.1 April 2014 1. *E-Journal Planto Husada.* 2(1):3–6.
- Atlas IDFD. 2019. *International Diabetes Federation.* Ninth. ISBN: 978-2-930229-87-4.
- Avanco G, Ferreira F, Bonfim N, Mallmann CA, Brugnari T, Abreu Filho BA de, Mikcha JMG, Machinski M. 2017. Curcuma longa L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on Fusarium verticillioides and fumonisin production. *Food Control.* 73:806–813.doi:10.1016/j.foodcont.2016.09.032.
- Azis T, Febrizky S, Mario AD. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yieldalkaloiddari Daun Salam India (Murraya Koenigii). *Tek. Kim.* 20(2):1–6.
- Balaji RM, Jeyaram C, Sundaram KM, Ramasamy MS. 2015. Studies on Antidiabetic Activity of Indian Medicinal Plants Using α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activity - A Pathway to Antidiabetic Drugs. *World J. Med. Sci.* 12(3):207–212.doi:10.5829/idosi.wjms.2015.12.3.9317.
- Bharti SK, Kumar A, Prakash O, Krishnan S, Gupta AK. 2013. Essential oil of cymbopogon citratus against diabetes: Validation by In vivo experiments and computational studies. *J. Bioanal. Biomed.* 5(5):194–203.doi:10.4172/1948-593X.1000098.
- Charisma AM, Elis AF, Farida A. 2020. *ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) Indirect Urine Pada Pemeriksaan Dengue.* Pasuruan: CV. Penerbit Qiara Media.
- Derosa G, Maffioli P. 2012. α -Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch. Med. Sci.* 8(5):899–906.doi:10.5114/aoms.2012.31621.
- Farhath MSS, Vijaya PP, Vimal M. 2012. An evaluation of toxicity in essential oils of geraniol, geranial acetate, gingerol and eugenol in rats. *Int. J. Phytomedicine.* 4(4):519–524.
- G W, - E, Panggabean A. 2013. Pemanfaatan Tumbuhan Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle) Sebagai Antioksidan Alami. *J. Kim. Mulawarman.* 10(2):74–79.
- Hasim H, Andrianto D, Lestari ED, Faridah DN. 2017. Aktivitas antioksidan ekstrak sulur buah naga putih (*Hylocereus undatus*) dengan metode DPPH dan Rancimat. *J. Gizi dan Pangan.* 12(3):203–210.doi:10.25182/jgp.2017.12.3.203-210.
- Jabeen B, Riaz N, Saleem M, Naveed MA, Ashraf M, Alam U, Rafiq HM, Tareen RB, Jabbar A. 2013. Isolation of natural compounds from *Phlomis stewartii* showing α -glucosidase inhibitory activity. *Phytochemistry.* 96:443–

- 448.doi:10.1016/j.phytochem.2013.09.015.
- Jumepaeng T, Prachakool S, Luthria DL, Chanthai S. 2013. Determination of antioxidant capacity and α -amylase inhibitory activity of the essential oils from citronella grass and lemongrass. *Int. Food Res. J.* 20(1):481–485.
- (Kemenkes RI) Kementrian kesehatan republik indonesia. 2020. Tetap Produktif, Cegah Dan Atasi Diabetes Mellitus. *Pus. data dan Inf. kementrian Kesehat. RI.*
- Lekshmi PC, Arimboor R, Indulekha PS, Nirmala Menon A. 2012. Turmeric (*Curcuma longa* L.) volatile oil inhibits key enzymes linked to type 2 diabetes. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 63(7):832–834.doi:10.3109/09637486.2011.607156
- Liju VB, Jeena K, Kuttan R. 2011. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa*. L. *Indian J. Pharmacol.* 43(5):526–531.doi:10.4103/0253-7613.84961.
- Mirghani MES, Liyana Y, Parveen J. 2012. Bioactivity analysis of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *Int. Food Res. J.* 19(2):569–575.
- Nuryadin Y, Naid T, Dahlia AA, Dali KS, Selatan S. 2018. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Serai Dapur dan Daun Alang - Alang Menggunakan Spektrofotometri UV - VIS. *WOH J. Kesehatan.* 1(4):337–345.
- Putri AA., Hidajati N. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (*Xylocarpus moluccensis*). *Unesa J. Chem.* 4(1):41.
- Rathore K, Singh VK, Jain P, Rao SP, Ahmed Z, Singh VD. 2014. In-vitro and in-vivo antiadipogenic, hypolipidemic and antidiabetic activity of *Diospyros melanoxylon* (Roxb). *J. Ethnopharmacol.* 155(2):1171–1176.doi:10.1016/j.jep.2014.06.050.
- Rizkita AD. 2017. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sereh. *Univ. Muhammadiyah Jakarta.*(November 2017):1–2.
- Sa'adah H, Nurhasnawati H. 2017. Perbandingan pelarut etanol dan air pada pembuatan ekstrak umbi bawang tiwai (Eleutherine Americana Merr) menggunakan metode maserasi. *J. Ilm. Manuntung.* 1(2):149.doi:10.51352/jim.v1i2.27.
- Saraswathi K. 2011. Inhibition of aldose activity by essential phytochemicals of *Cymbopogon Citratus* (DC.) Stapf. *Int. J.*(5):257–267.
- Silou T, Bikanga R, Nsikabaka S, Nombault J, Mavoungou C, Figuéredo G, Chalchat J-C. 2017. Aromatic Plants from the Plateau des Cataractes (Congo Basin). Chemotype characterization of essential oil of *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle acclimatized in Congo-Brazzaville. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 21(2):105-116.
- Sukmawati, Nurnaningsih, Mamat P. 2020. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Sebagai Inhibitor Enzim α -Glukosidase Dengan Menggunakan Elisa Reader. *J Fito. Indo.* 7(2):1-5.
- Sunaryo H, Kusmardi TW. 2012. Uji aktivitas antidiabetes senyawa aktif dari fraksi kloroform herba ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah dan perbaikan sel langerhans pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan. *Farmasains.* 1(5):246–251.
- Susilawati E, Adnyana IK, Fisher N. 2017. Aktivitas ekstrak etanol daun singawalang (*Petiveria alliacea* L.) dan fraksinya sebagai antidiabetes. *Kartika J. Ilm. Farm.* 5(2):68.doi:10.26874/kjif.v5i2.113.
- Vazquez-Briones MDC, Hernandez LR, Guerrero-Beltran JA. 2015. Physicochemical and Antioxidant

Properties of *Cymbopogon citratus*
Essential Oil. *J. Food Res.*
4(3):36.doi:10.5539/jfr.v4n3p36.

Warsito, Noorhamdani, Sukardi, Suratmo.
2017. Aktivitas Antioksidan Dan
Antimikroba Minyak Jeruk Purut. *J.*
Environ. Eng. Sustain. Technol.
04(01):13–18.