

STUDI ANTIDIABETES KOMBINASI EKSTRAK ETANOL KUBIS (*Brassica oleracea* L.) DAN TOMAT (*Solanum lycopersicum* L.) SECARA IN VITRO

Devina Ingrid Anggraini, Dwi Damayanti

Program Studi D3 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan (STIKES) Nasional Surakarta
Email: devina.ia@gmail.com

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a health problem in the world including Indonesia. A lot of treatment efforts to control and lowering blood sugar levels done with drugs hypoglycemic of natural materials. This research was conduct to determine the combination of extract cabbage (*Brassica oleracea* L.) and tomato (*Solanum lycopersicum* L.) have activity antidiabetic and more effective than extract single. Study performed on four comparison concentration sample extract ethanol cabbage and tomato are 1: 0; 2: 1; 1: 2 and 0: 1. Method wich is use in this study the method of Nelson-Somogyi by using the instrument spectrophotometer UV-Vis. Decline glucose levels highest obtained in the concentration of extract cabbage and tomato with the ratio of 1: 2 is 4,5165 ppm and decrease in glucose levels lowest obtained in the concentration of extract cabbage and tomato with the ratio of 1: 0 is 5,1613 ppm.*

Key Words : Methods Nelson-Somogyi, Cabbage, Tomato, EC₅₀.

PENDAHULUAN

Penyakit diabetes mellitus (DM) merupakan suatu gangguan dari sistem metabolisme yang ditandai oleh hiperglikemia maupun abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hal tersebut terjadi karena penurunan sekresi insulin, penurunan sensitivitas insulin, ataupun keduanya.¹ Diabetes melitus merupakan masalah kesehatan di seluruh dunia termasuk Indonesia. *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa estimasi jumlah pasien diabetes di seluruh dunia tahun 2015 sebanyak 415 juta jiwa dan tahun 2040 sebanyak 642 juta jiwa. Angka kejadian DM di Indonesia dari tahun ke tahun juga meningkat. Berdasarkan data dari Riskesdas prevalensi diabetes di Indonesia meningkat dari 5,7% pada tahun 2007 dan 6,9% pada tahun 2016.²

Berbagai upaya pengobatan untuk mengontrol dan menurunkan kadar gula darah dilakukan dengan menggunakan obat sintetik maupun obat-obatan yang berasal dari bahan

alam. Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman jenis flora, yang dapat berpotensi digunakan sebagai tanaman obat. Bahan alam tersebut banyak digunakan untuk pengobatan maupun pencegahan dari suatu penyakit. Hal tersebut dianggap lebih aman dibanding bahan kimia yang beredar dipasaran. Oleh karena itu kesadaran masyarakat untuk menjaga kesehatannya dengan meningkatkan konsumsi sayur dan buah baik dengan pengolahan maupun dikonsumsi secara langsung.

Salah satu sayur yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat adalah kubis. Kubis merupakan bahan pangan yang harganya relatif murah, bergizi, dan mudah didapat. Hasil penelitian Anggie melaporkan bahwa penapisan fitokimia ekstrak kubis putih mengandung flavonoid dan triterpenoid.³ Kandungan kimia yang terkandung pada ekstrak etanol kubis yaitu alkaloid, saponin, dan glikosida. Uji penghambatan aktivitas α -glukosidase oleh kubis dilaporkan memiliki

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (Brassica oleracea L.) dan tomat (Solanum lycopersicum L.) secara in vitro

nilai IC₅₀ 439,38 ppm dan memiliki efek antidiabetes yang berasal dari beberapa senyawa yang terkandung didalamnya.¹

Selain kubis, ternyata tomat juga dipercaya mampu menurunkan kadar gula darah, menurunkan kadar kolesterol, menghambat penurunan kadar hormon testosteron.⁴ Senyawa yang terkandung dalam tomat yaitu fenolat, flavonoid, dan likopen. Ekstrak metanol buah tomat dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dengan IC₅₀ 44,06 µg/mL.⁵ Hal ini didukung oleh penelitian Widowati yang mendapatkan bahwa senyawa antioksidan sintetik maupun alami (dari berbagai tanaman) mampu mengontrol kadar glukosa darah dan mencegah komplikasi diabetes.⁶

Kombinasi dari beberapa bahan alam diharapkan dapat meningkatkan potensi antidiabetes seperti penelitian yang dilaporkan oleh Yusni, *et al.*, menunjukkan bahwa pemberian kombinasi ekstrak kulit manggis dan tomat dosis 50 mg/kgBB/hari menurunkan kadar glukosa dalam darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan diabetes dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai obat antidiabetes.⁴ Penelitian lain menyebutkan bahwa kombinasi jus kacang panjang dan jus tomat dengan dosis 12g/kgBB mencit serta kombinasi jus kacang panjang dan tomat dengan dosis (1:1) 24g/kgBB mencit memiliki efek antihiperqlikemia, ditandai dengan rata-rata penurunan kadar glukosa darah yaitu jus kacang panjang sebesar 264,72 mg/dL, tomat 141,33 mg/dL, dan kombinasi 116,33 mg/dL.⁷

Studi tentang antidiabetes kombinasi bahan alam diperlukan untuk mencari sumber baru yang berpotensi dalam pengobatan diabetes melitus. Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian guna

meningkatkan peran bahan alam sebagai agen antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV mini-1240), kuvet Hellma *Analytic type* No 100.600 *QG Light parh lotum*, *rotary evaporator*, neraca analitik (Ohaus Pioneer dengan sensitivitas 0,0001 g dan minimal penimbangan 0,1000 g), alat-alat gelas seperti beaker glass, labu ukur dan tabung reaksi (pyrex), oven, blender, pipet volume, mikropipet, *push ball*. Selain itu digunakan pula alat-alat penunjang yang lazim digunakan dalam analisis spektrofotometri. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sayur kubis (*Brassica oleracea L.*) dan buah tomat (*Solanum lycopersicum L.*) yang diperoleh dari Dusun Gunungsari Desa Senden Kecamatan Selo Kabupaten Boyolali, etanol 96%, pereaksi Nelson, reagen arsenomolibdat, glukosa p.a, HCl 2 N, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen *Dragendorff*, HCl pekat, serbuk seng, serbuk Mg, kloroform, H₂SO₄ pekat, CH₃COOH glasial, FeCl₃ 1%, aquadest.

Prosedur Kerja

Determinasi tanaman

Identifikasi kubis (*Brassica oleracea L.*) dan buah tomat (*Solanum lycopersicum L.*) dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu.

Pembuatan Simplisia

Bahan baku sayur kubis dan buah tomat disortasi basah dengan memilih bagian tanaman yang akan digunakan untuk pengujian Perajangan dilakukan untuk mempercepat proses pengeringan.

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (Brassica oleracea L.) dan tomat (Solanum lycopersicum L.) secara in vitro

Pembuatan serbuk dilakukan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh 40.

Ekstraksi Simplisia

Serbuk simplisia kubis dan tomat masing-masing ditimbang sebanyak sebanyak 100 gram. Maserasi dilakukan dengan pelarut etanol 96% sebanyak (1:7,5) selama 3 hari dengan pengadukan setiap hari. Saring hingga diperoleh filtrat pertama. Residu yang didapat dilakukan penyarian kembali dengan cara yang sama selama 2 hari menggunakan pelarut baru (etanol 96%) sebanyak (1:2,5) sehingga didapat filtrat kedua. Filtrat pertama dan kedua dicampur menjadi satu. Peatkan dengan *rotary evaporator* suhu 40°-60°C dan diuapkan di atas waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.⁸

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat didalam sampel kubis dan tomat serta berpotensi sebagai antidiabetes. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji triterpenoid, dan uji tanin.

Uji Potensi Antidiabetes

Uji potensi antidiabetes dilakukan menggunakan spektrofotometri visibel dengan didahului penentuan panjang operating time (OT), *scanning* gelombang maksimum, pembuatan larutan kontrol positif, dan uji aktivitas antidiabetes. Penentuan *operating time* dilakukan dengan cara memipet sebanyak 0,5 mL dari larutan baku kerja glukosa p.a 80 ppm kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen Nelson dan ditutup dengan kapas, kemudian dipanaskan di atas air mendidih selama 10 menit. Larutan

didinginkan selama 5 menit lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 5,0 mL secara kuantitatif, kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen arsenomolibdat ke dalam labu tersebut lalu diencerkan dengan aquadest sampai batas, dikocok. Serapan diukur pada panjang gelombang maksimum teoritis 745 nm selama 40 menit dengan interval per menit, sehingga didapat waktu optimum yang stabil.⁹ Perlakuan yang sama dilakukan juga untuk *scanning* panjang gelombang maksimum dengan *operating time* selama waktu 25 menit. Hasilnya dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 700-780 nm.

Pembuatan larutan kontrol positif dilakukan dengan cara memipet sebanyak 1,0 mL dari larutan baku kerja glukosa p.a. 50 ppm kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen Nelson dan ditutup dengan kapas, kemudian dipanaskan di atas air mendidih selama 10 menit. Larutan didinginkan selama 5 menit lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 5,0 mL secara kuantitatif, kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen arsenomolibdat ke dalam labu tersebut lalu diencerkan dengan aquadest sampai batas, dikocok. Kombinasi ekstrak kubis dan tomat dibuat perbandingan bobot ekstrak kental. Pembuatan kombinasi ekstrak sampel 1000 ppm dilakukan dengan cara memasukkan masing-masing kombinasi ekstrak ke dalam labu ukur 100,0 mL kemudian ditambah aquadest hingga tanda batas dan dikocok.

Uji antidiabetes dilakukan dengan mengetahui penurunan kadar glukosa setelah adanya perlakuan. Ekstrak etanol kubis dan tomat masing-masing dibuat seri konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm ditambahkan 1,0 mL baku glukosa dari konsentrasi 50 ppm. Kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen Nelson

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (Brassica oleracea L.) dan tomat (Solanum lycopersicum L.) secara in vitro

dan ditutup dengan kapas, kemudian dipanaskan di atas air mendidih selama 10 menit. Larutan didinginkan selama 5 menit lalu dipindahkan ke dalam labu ukur 5,0 mL secara kuantitatif, kemudian ditambahkan 1,0 mL reagen arsenomolibdat ke dalam labu tersebut lalu diencerkan dengan aquadest sampai batas, dikocok dan didiamkan selama waktu 25 menit. Hasil dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal 748,1 nm kemudian dihitung persentase penurunan kadar glukosa.

Analisis Data

Absorbansi yang diperoleh dari pengukuran sampel kombinasi kubis dan tomat dibandingkan dengan larutan kontrol positif untuk mengetahui persen kadar penurunan kadar glukosa. Perhitungan persentase penurunan kadar glukosa menggunakan rumus berikut:

$$A = \frac{C-B}{C} \times 100\%$$

Keterangan :

- A = % penurunan kadar glukosa
- B = Absorbansi glukosa sisa
- C = Absorbansi kontrol positif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Identifikasi kubis (*Brassica oleracea* L.) dan buah tomat (*Solanum lycopersicum* L.) dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pengambilan tanaman serta memastikan dan mendapatkan kebenaran identitas dari tanaman yang akan diteliti. Identifikasi terhadap tanaman dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar kubis (*Brassica oleracea* L.) yang berasal dari familia Brassicaceae dan buah tomat

(*Solanum lycopersicum* L.) yang berasal dari familia Solanaceae.

Ekstraksi Simplisia

Ekstraksi serbuk simplisia dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena metode yang sederhana dan diharapkan dapat menarik kandungan senyawa yang ada dalam simplisia lebih maksimal. Pemilihan pelarut juga merupakan tahap yang penting karena diharapkan dapat menyari semua kandungan zat aktif yang diuji. Etanol 96% dipilih karena berdasarkan hasil penelitian Hamdani menunjukkan bahwa etanol 96% lebih efektif menurunkan kadar glukosa ekstrak umbi bawang dayak terbaik dibanding etanol 70% dan etanol 50%.¹⁰ Hasil ekstraksi kubis dan tomat dengan pelarut etanol 96% berupa ekstrak kental berwarna coklat pekat.

Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, triterpenoid, saponin, dan tanin yang terkandung dalam ekstrak etanol kubis dan tomat, sehingga dapat diketahui senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes. Tujuan dilakukan uji fitokimia pada ekstrak etanol kubis dan tomat yaitu untuk mengetahui pengaruh serangkaian proses ekstraksi terhadap kandungan senyawa kimia dalam sampel. Simplisia kubis dan tomat dilarutkan dengan etanol 96% yang mampu melarutkan senyawa-senyawa yang terkandung dan dapat bercampur dengan reagen-reagen untuk identifikasi senyawa. Ekstrak etanol kubis dan tomat menunjukkan hasil positif pada uji fitokimia senyawa golongan alkaloid, flavonoid dan triterpenoid.

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (Brassica oleracea L.) dan tomat (Solanum lycopersicum L.) secara in vitro

Uji Potensi Antidiabetes

Penentuan *Operating Time* (OT)

Waktu operasional (*operating time*) digunakan untuk pengukuran hasil reaksi atau pembentukan warna. Tujuannya adalah untuk mengetahui waktu pengukuran yang stabil. Hasil penentuan *operating time* didapatkan absorbansi yang stabil pada menit ke 25-27 dengan absorbansi 0,541.

Penentuan panjang gelombang maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan dengan tujuan mendapatkan serapan yang maksimum dari larutan. Pengujian dilakukan pada kisaran panjang gelombang 700-780 nm. Rentang tersebut dipilih karena secara teoritis panjang gelombang glukosa yaitu 745 nm. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum dari glukosa 8 ppm diperoleh 748,1 nm dengan nilai absorbansi 0,533.

Pembuatan kurva standar glukosa

Kurva baku merupakan kurva yang menyatakan hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi. Tujuan dilakukannya pembuatan kurva baku untuk mendapatkan persamaan linieritas antara absorbansi dan konsentrasi. Persamaan linier yang didapat dari kurva kalibrasi $y = 0,099x - 0,210$ dengan nilai koefisien relasi $R^2 = 0,999$ yang berarti ada korelasi antara absorbansi dengan konsentrasi.

Pembuatan larutan kontrol positif

Absorbansi kontrol digunakan untuk menghitung % penurunan kadar glukosa, sehingga dapat mengetahui banyaknya glukosa sisa yang tidak bereaksi dengan senyawa yang terkandung pada sampel. Semakin besar % penurunan kadar glukosa maka potensi penurunan kadar glukosa juga

semakin tinggi. Absorbansi rata-rata kontrol positif yang didapat yaitu 0,765.

Penentuan Penurunan Kadar Glukosa

Uji aktivitas penurunan kadar glukosa dilakukan secara in vitro dengan menggunakan metode Nelson-Somogyi. Metode Nelson-Somogyi dipilih karena lebih spesifik jika digunakan dalam penetapan kadar gula pereduksi pada sampel yang memiliki senyawa gula campuran didalamnya. Perbandingan hasil uji validasi antara metode Nelson-Somogyi dan Anthrone-Sulfat menunjukkan bahwa metode Nelson-Somogyi memiliki nilai kepekaan yang lebih tinggi sehingga lebih disarankan digunakan untuk menganalisa gula pereduksi.¹¹

Penambahan reagen Nelson bertujuan untuk mereduksi kupri oksida menjadi kupro oksida yang mana K-Na-tartrat yang terkandung dalam reagen Nelson berfungsi untuk mencegah terjadinya pengendapan kupri oksida. Setelah ditambahkan reagen Nelson, larutan yang berwarna biru kehijauan tersebut dipanaskan 10 menit, tujuan dari pemanasan ini adalah untuk mempercepat proses reduksi kupri oksida menjadi kupro oksida. Selanjutnya larutan didinginkan supaya reaksi berjalan stabil, karena apabila terlalu panas kemungkinan akan ada komponen senyawa yang rusak atau menguap. Kemudian ditambahkan 1 mL reagen arsenomolibdat, penambahan reagen arsenomolibdat ini bertujuan agar bisa bereaksi dengan endapan kupro oksida. Pada peristiwa ini kupro oksida akan mereduksi kembali arsenomolibdat menjadi *molibdene blue* yang berwarna biru kehijauan yang nanti diukur absorbansinya dengan spektrofotometer. Reaksi glukosa dengan pereaksi nelson ditunjukkan pada gambar 1.

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (*Brassica oleracea* L.) dan tomat (*Solanum lycopersicum* L.) secara *in vitro*

Reaksi yang terjadi menyebabkan gugus hidroksil flavonoid terikat pada satu gula atau lebih dengan ikatan hemiasetal yang tidak tahan asam. Glikosida yang terbentuk ini menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air.

Tabel 1 menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak kubis dengan ekstrak tomat perbandingan (1:2) memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa terbaik dan berpotensi sebagai antidiabetes. Besarnya

penurunan kadar glukosa ditandai dengan nilai EC_{50} yaitu suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi larutan uji yang menghasilkan 50% efek maksimal melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi larutan uji dengan % penurunan kadar glukosa. Semakin kecil nilai EC_{50} menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa menggunakan sampel semakin besar, begitu juga sebaliknya.

Tabel 1. Nilai EC_{50} masing-masing kombinasi ekstrak etanol kubis dan tomat

Sampel	Triplo	Nilai EC_{50} (ppm)	% KV	Rata-rata nilai EC_{50} (ppm)
Kombinasi 1:0	1	5,1608	0,5909%	5,1613
	2	5,1921		
	3	5,1311		
Kombinasi 2:1	1	4,7046	0,5455%	4,7299
	2	4,7561		
	3	4,7291		
Kombinasi 1:2	1	4,5347	0,4251%	4,5165
	2	4,4964		
	3	4,5185		
Kombinasi 0:1	1	4,8266	0,2845%	4,8155
	2	4,8196		
	3	4,8002		

Nilai % KV atau presisi menunjukkan seberapa dekat suatu hasil pemeriksaan bila dilakukan berulang dengan sampel yang sama. Semakin kecil nilai % KV menunjukkan kecermatan atau ketelitian yang semakin baik. Nilai % KV dinyatakan baik apabila kurang dari 2%. Hasil penelitian menunjukkan semua perbandingan konsentrasi memenuhi persyaratan presisi.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi ekstrak kubis dan tomat memiliki aktivitas antidiabetes. Kombinasi ekstrak kubis dan tomat perbandingan (1:2) memiliki penurunan kadar glukosa terbaik sebesar 4,5156 ppm dan berpotensi sebagai antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

1. Febrinda AE, Astawan M, Wresdiyati T, Yuliana ND. Kapasitas antioksidan dan inhibitor alfa glukosidase ekstrak umbi bawang dayak. *J Teknol dan Ind Pangan* 2013;24(2):161.
2. Kesehatan K. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). Kemenkes RI. 2013.
3. Anggie RD. Pengaruh suhu dan lama penyimpanan terhadap kadar flavonoid total dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol kubis merah (*Brassica oleracea* Var. *Capitata rubra*) (Tesis). Semarang: Universitas Wahid Hasyim, 2018.
4. Yusni Y, Akbar IB, Rezania R, Fahlevi R. Penurunan kadar gula darah akibat pemberian ekstrak manggis (*Garcinia mangostana*) dan tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill) pada tikus diabetes. *Glob Med Health Commun* 2017;5(1):57–63.
5. Regina A, Maimunah M, Yovita L. Penentuan aktivitas antioksidan, kadar

Studi antidiabetes kombinasi ekstrak etanol kubis (Brassica oleracea L.) dan tomat (Solanum lycopersicum L.) secara in vitro

- fenolat total dan likopen pada buah tomat (*Solanum lycopersicum L.*). *J Sains Dan Teknol Farm* 2008;13(1).
6. Widowati W. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Maranatha J Med Health*. 2008;7(2).
 7. Cahyani DN. Uji aktivitas antihiperlikemia kombinasi jus kacang panjang (*Vigna unguiculata L. Walp*) dan jus tomat (*Solanum lycopersicum L.*) pada mencit swiss webster jantan dengan metode induksi aloksan (Skripsi). Bandung: Universitas Ilam Bandung, 2015.
 8. Meila O, Noraini N. Uji aktivitas antidiabetes dari ekstrak metanol buah kiwi (*Actinidia deliciosa*) melalui penghambatan aktivitas α -Glukosidase. *J Farm Galen Galen J Pharm* 2017;3(2):132–137.
 9. Aprizayansyah A, Wiendarlina IY, Wardatun S. Aktivitas penurunan kadar glukosa ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) secara in vitro dan korelasinya terhadap kandungan flavonoid. Bogor: Universitas Pakuan, 2015.
 10. Hamdani LS, Wardatun S, Miranti M. Aktivitas penurunan kadar gula dan potensi antioksidan ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr). Bogor: Universitas Pakuan.
 11. Al-kayyis HK, Susanti H. Perbandingan metode somogyi-nelson dan anthrone-sulfat pada penetapan kadar gula pereduksi dalam umbi cilembu (*Ipomea batatas L.*). *J Farm Sains dan Komunitas J Pharm Sci Community*. 2016;13(2):81–89.