

EKSPLORASI POTENSI EKSTRAK ASETON KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.) SEBAGAI INHIBITOR α -GLUKOSIDASE

Dewi Chusniasih¹

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease caused by metabolic disorders characterized by hyperglycemia and abnormalities in the metabolism of carbohydrates, fats and proteins. One alternative way to overcome hyperglycemia is to reduce the amount of glucose that can be absorbed by the body by suppressing the digestion process of carbohydrates by inhibitors of the α -glucosidase enzyme. This study aims to determine the inhibitory activity of α -glucosidase by acetone extract of cocoa peel using spectrophotometric methods. Simplicia of cocoa fruit macerated with 80% acetone solvent. The inhibition activity test of α -glucosidase enzyme showed that the cocoa peel acetone extract inhibited the activity of the α -glucosidase enzyme in a weak category with IC_{50} value 712,86 μ g mL⁻¹.

*Keywords: α -glucosidase inhibitor, acetone extract, cocoa peels (*Theobroma cacao* L).*

ABSTRAK

Diabetes mellitus adalah salah satu penyakit akibat gangguan metabolisme yang ditandai oleh keadaan hiperglikemia dan abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Salah satu cara alternatif untuk mengatasi hiperglikemia adalah dengan mengurangi jumlah glukosa yang dapat diserap tubuh dengan menekan proses pencernaan karbohidrat oleh inhibitor enzim α -glukosidase. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan α -glukosidase oleh ekstrak aseton kulit buah kakao menggunakan metode spektrofotometri. Serbuk simplisia kulit buah kakao dimaserasi dengan pelarut aseton 80%. Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase menunjukkan bahwa ekstrak aseton kulit buah kakao menghambat aktivitas enzim α -glukosidase dalam kategori lemah dengan nilai IC_{50} 712,86 μ g mL⁻¹.

Kata kunci: Inhibitor α -glukosidase, ekstrak aseton, kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L).

PENDAHULUAN

Inhibitor α -glukosidase merupakan salah satu agen antidiabetik yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim alfa glukosidase. Enzim alfa glukosidase berperan dalam proses hidrolisis dekstrin dari polisakarida kompleks menjadi glukosa sebelum memasuki sirkulasi melalui penyerapan epitelium. Pengurangan penyerapan karbohidrat dari makanan di usus merupakan sebuah pendekatan terapeutik bagi hiperglikemia

1. Pogram Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Malahayati

postprandial. Inhibitor alfa glukosidase sintesis seperti akarbose, telah banyak digunakan untuk penanganan pasien diabetes. Namun, penggunaan obat ini juga dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping (Feng et al., 2011).

Tanaman kakao mengandung senyawa antioksidan dan antiradikal yang telah diuji secara invitro. Beberapa dari senyawa fenolik tersebut yaitu katekin, epikatekin, antosianidin, proantosianidin, asam fenolik, dan beberapa flavonoid lainnya (Arlorio, 1995). Kulit buah coklat mengandung pigmen kakao (campuran dari flavonoid terpolimerisasi atau terkondensasi meliputi antosianidin, katekin, leukoantosianidin) yang kadang berikatan dengan glukosa, karbohidrat berbobot molekul besar (polisakarida) dan berbobot molekul rendah (monosakarida, oligosakarida) (Mita, 2015). Dalam proses penanganan biji kakao oleh petani, dihasilkan juga limbah berupa kulit buah kakao sebesar kurang lebih 73,77% dari berat buah secara keseluruhan. Adanya komponen polifenol dalam biji kakao, tidak menutup kemungkinan juga terdapat dalam kulit buah kakao dengan khasiat yang sama.

Menurut Kayaputri (2014), kulit buah kakao masih mengandung komponen fungsional seperti theobromine, kafein, dan polifenol. Senyawa-senyawa tersebut merupakan komponen fitokimia hasil metabolit sekunder tanaman. Komponen fitokimia dapat diisolasi dari tanaman dengan cara ekstraksi. Salah satu metode ekstraksi yang dapat diterapkan adalah maserasi menggunakan pelarut organik seperti etanol dan aseton. Hasil penelitian Kayaputri et al., (2014) menunjukkan bahwa berdasarkan skrining fitokimia, kulit biji kakao yang diekstrak menggunakan etanol 70% mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Analisis fitokimia menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) menunjukkan ekstrak kulit buah kakao mengandung 2,3-butanediol (6,45%), benzeneacetic acid (2,33%), caffeine (23,51%), dan theobromine (65,99%).

Berdasarkan penelitian Oktaria (2013), flavonoid terbukti dapat menurunkan kadar gula darah. Flavonoid adalah senyawa organik alami yang ada pada tumbuhan secara umum. Flavonoid alami banyak memainkan peran penting dalam pencegahan

diabetes dan komplikasinya (Jack, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan air (Markham, 1988). Sejumlah studi telah dilakukan untuk menunjukkan efek hipoglikemik dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, hasilnya tanaman yang mengandung flavonoid telah terbukti memberi efek menguntungkan dalam melawan penyakit diabetes melitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2011).

Flavonoid menghambat GLUT 2 mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Hal ini menyebabkan pengurangan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga kadar glukosa darah turun. GLUT 2 diduga merupakan transporter mayor glukosa di usus pada kondisi normal. Pada penelitian yang dilakukan didapatkan bahwa flavonoid dapat menghambat penyerapan glukosa. Ketika flavonoid tertelan dengan glukosa, hiperglikemia secara signifikan

menurun. Flavonoid juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas (Puspanti et al., 2013). Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat (Harapan et al., 2010).

Kulit buah kakao mengandung komponen pektin. Pektin banyak dimanfaatkan di industri pangan dan non pangan sebagai bahan pengental, pembentuk gel, bahan aditif dalam pembuatan krim sabun, dan pasta (Wayahningtyas, 2013). Pektin merupakan suatu senyawa polisakarida kompleks yang cenderung banyak terdapat dalam dinding sel tumbuhan dan dapat ditemukan dalam berbagai jenis tanaman pangan. Pektin memiliki banyak manfaat, terutama dibidang farmasi, dimana pektin bagi peparat cair dan sirup, sebagai antidotum, sebagai adsorben pada pengobatan diare (Winarno, 1986). Telah diketahui bahwa dengan mengkonsumsi pektin, akan mampu mengurangi kadar kolesterol dalam darah, dimana dengan mengkonsumsi sedikitnya 6 gram pektin per hari akan mampu mengurangi kadar kolesterol dalam darah hingga 13% dalam jangka waktu 2 minggu

(Srivastava and Rishabha, 2011). Pektin mengganggu pencernaan intralumen bagi pati dan sukrosa, sehingga menunda absorpsi karbohidrat. Selain itu pektin akan membentuk gel dan menahan air sehingga dapat memperlambat pengosongan lambung (Marks, 1996).

Belum banyak penelitian yang mengeksplorasi potensi kulit buah kakao sebagai sumber zat aktif obat. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi limbah kulit kakao sebagai sumber bahan aktif anti diabetes secara *in vitro* melalui mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase. Pengujian dilakukan pada variasi konsentrasi ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.) untuk mengetahui nilai IC_{50} inhibitor enzim α -glukosidase.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah oven, rotary evaporator, timbangan analitik, blender, penangas air, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, kuvet kuarsa, pipet volum.

Bahan yang digunakan adalah simplisia kulit buah kakao (*Theobroma cacao* L.), aseton 80%, akarbose, larutan buffer

fosfat, larutan standar, blanko, p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG), Na_2CO_3 , Larutan akarbose, enzim α -glukosidase.

Persiapan Sampel

Kulit buah kakao yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah yang sudah matang dan berwarna kekuningan. Bagian kulit buah kakao yang telah disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan dilakukan perajangan untuk mempermudah pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruangan hingga kering. Kulit kakao yang telah dikeringkan kemudian dibuat serbuk dengan menggunakan blender atau mesin penggiling. Simplisia diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut aseton 80% kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

Uji Aktivitas Inhibisi α -Glukosidase (Sancheti *et al.*, 2009)

Sebanyak 10 μ l larutan standar, blanko dan sampel (konsentrasi 200, 500, 800 dan 1200 μ g/mL) dimasukkan ke dalam sumur microplate reader dan ditambahkan dengan 50 μ L larutan

bufer fosfat pH 7. Selanjutnya, sebanyak 25 µl substrat berupa p-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (pNPG) 10 mM ditambahkan tiga menit sebelum uji dimulai. Reaksi diinisiasi dengan penambahan 25 µl enzim α -glukosidase dengan konsentrasi 0.04 U/mL dalam bufer fosfat (pH 7.0) kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 100 µl

Na₂CO₃. Hasil reaksi diukur dengan microplate reader pada panjang gelombang 410 nm. Larutan akarbose digunakan sebagai control positif dengan sistem reaksi sama seperti sampel. Percobaan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Selanjutnya dilakukan perhitungan % inhibisi untuk menentukan nilai IC₅₀. Sistem reaksi dapat diketahui pada Tabel 1.

Tabel 1.
Sistem reaksi inhibisi α -glukosidase

Reagen	Blanko	Volume (µL)		
		Kontrol Blanko	Sampel	Kontrol Sampel
Pelarut	10	10	-	-
Sampel	-	-	10	10
Buffer	50	50	50	50
Substrat	25	25	25	25
Enzim	25	-	25	-
Buffer	-	25	-	25
Inkubasi 70°C 30 menit				
Na ₂ CO ₃	100	100	100	100

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik ekstrak aseton kulit buah kakao (*Theobroma Cacao L.*) disajikan pada tabel 2.

Tabel 2.
Hasil Karakterisasi Ekstrak Aseton Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*)

Jenis karakterisasi	Hasil
a. Identitas	
Nama ekstrak	Ekstrak aseton kulit buah kakao
Nama latin	(<i>Theobroma Cacao L.</i>)
Bagian tanaman	Kulit buah kakao
b. Organoleptik	Bentuk padat seperti pasta, berwarna coklat kehijauan

Hasil pengujian aktivitas buah kakao dengan metode penghambatan α -glukosidase pada spektrofotometri disajikan pada beberapa konsentrasi ekstrak kulit tabel 2.

Tabel 3.
Hasil Pengujian Aktivitas Penghambatan A-Glukosidase Pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak Kulit Buah Kakao Dengan Metode Spektrofotometri

Sampel uji	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Rata-rata % Inhibisi (%)	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Keterangan
Ekstrak Aseton Kulit Buah kakao	0	0	712,861	Lemah
	200	7,544		
	300	14,921		
	400	22,751		
	500	33,438		
	600	39,461		
	800	55,927		
Glucobay (Kontrol Positif)	1200	75,025	0,246	Sangat Kuat
	0	0		
	0,1	30,196		
	0,5	65,037		
	1	76,834		
	5	91,054		
	10	93,521		

Berdasarkan data hasil pengujian aktivitas penghambatan α -glukosidase dengan metode spektrofotometer, persentase inhibisi ekstrak kulit buah kakao semakin meningkat seiring dengan pertambahan konsentrasi ekstrak. Nilai IC_{50} ekstrak aseton kulit buah kakao yaitu 712,861 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan nilai IC_{50} Glucobay (Kontrol positif) yaitu 0,246 $\mu\text{g/mL}$.

Uji aktivitas penghambatan α -glukosidase dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambatan dari beberapa konsentrasi ekstrak dengan melihat nilai persentase inhibisi dan nilai IC_{50} . Konsentrasi ekstrak yang

digunakan yaitu 0, 200, 300, 400, 500, 600, 800, dan 1200 $\mu\text{g/mL}$. Ragam konsentrasi dibuat untuk melihat pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak terhadap peningkatan penghambatan α -glukosidase. Sebagai pembanding digunakan tablet glucobay yang mengandung 100 mg acarbose tiap tabletnya. Hasil yang disajikan pada tabel 3 menunjukkan bahwa kemampuan penghambatan enzim α -glukosidase meningkat seiring dengan adanya peningkatan konsentrasi, baik pada ekstrak aseton kulit buah kakao maupun pada acarbose.

Acarbose merupakan senyawa oligosakarida yang berasal dari proses fermentasi mikroorganisme *Actinoplanes utahensis*. Senyawa oligosakarida kompleks ini merupakan inhibitor kompetitif potensial dari enzim α -glukosidase yang berperan untuk memecah pati, dekstrin, maltose, dan sukrosa hingga menghasilkan monosakarida yang dapat dicerna. Berdasarkan sifat tersebut, maka acarbose merupakan salah satu agen antidiabetes oral bagi pasien diabetes mellitus. Efek samping dari penggunaan acarbose yaitu flatulensi, diare, dan sakit perut (Hollander *et al*, 1997).

α -glukosidase adalah enzim yang mengkatalisis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Beberapa glukosidase yang bekerja spesifik dalam memotong ikatan glikosidik bergantung pada jumlah, posisi, atau konfigurasi grup hidroksil di dalam molekul gula. Aktivitas glukosidase merupakan hal yang fundamental bagi beberapa proses biokimia seperti degradasi polisakarida menjadi unit monosakarida agar dapat diserap dan digunakan oleh organisme (de Melo *et al.*, 2006). Oleh karena itu pada kondisi hiperglikemia dimana konsentrasi gula pada darah tinggi melebihi normal seperti yang

terjadi pada penderita diabetes, penghambatan kerja enzim α -glukosidase dapat membantu mengatasi kondisi hiperglikemia karena jumlah monosakarida yang dapat diserap oleh usus menjadi berkurang.

Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh ekstrak aseton kulit buah kakao dinyatakan dalam nilai IC_{50} yaitu pada konsentrasi $712,861 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nilai IC_{50} ekstrak kulit buah kakao termasuk dalam kategori lemah, bila dibandingkan dengan kontrol positif acarbose yang memiliki nilai $IC_{50} 0,246 \mu\text{g mL}^{-1}$. Hal ini dapat disebabkan oleh kandungan fitokimia yang berperan dalam menghambat aktivitas enzim α -glukosidase mungkin saja memiliki sifat kepolaran yang berbeda dengan aseton sebagai pelarut dalam penelitian ini, sehingga zat-zat fitokimia tersebut tidak ada atau ada dalam konsentrasi yang rendah dalam ekstrak aseton.

Banyak penelitian telah membuktikan bahwa senyawa fitokimia memiliki kemampuan untuk menghambat kerja enzim α -glukosidase, seperti senyawa dari golongan alkaloid (Patel *et al.* 2012), triterpenes (Lai *et al.* 2012), dan flavonoid (Wang *et al.* 2010). Penghambatan aktivitas α -glukosidase oleh berbagai senyawa

fenolik juga telah banyak dijelaskan dalam literatur, dimana antara lain disebutkan bahwa α -glukosidase secara efektif dihambat oleh flavonol (Lee et al. 2008), luteolin, myricetin, dan quercetin (Tadera et al. 2006). Dengan demikian kemampuan aktivitas inhibitor alfa glukosidase yang dimiliki oleh ekstrak kulit buah kakao tidak lepas dari kerja senyawa fitokimia yang dikandungnya. Menurut Kim et al. (2008) sebagian besar inhibitor α -glukosidase bekerja dengan cara meniru cara meniru posisi transisi unit piranosidik dari substrat glukosidase alami, sehingga diduga mekanisme penghambatannya adalah berupa penghambatan kompetitif. Perlu dilakukan isolasi dengan teknik spektrofotometri massa untuk mengungkapkan senyawa bioaktif yang bekerja sebagai inhibitor α -glukosidase dalam ekstrak aseton kulit buah kakao agar dapat diketahui mekanisme penghambatannya.

KESIMPULAN

Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase oleh ekstrak aseton kulit buah kakao dinyatakan dalam nilai IC_{50} yaitu pada konsentrasi $712,861 \mu\text{g mL}^{-1}$. Nilai IC_{50} ekstrak kulit buah kakao termasuk dalam kategori lemah,

bila dibandingkan dengan kontrol positif acarbose yang memiliki nilai $IC_{50} 0,246 \mu\text{g mL}^{-1}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Arlorio, M., et al. (2005). Antioxidant and Biological Activity of Phenolic Pigments from Theobroma Cacao L. Hulls Extracted with Supercritical CO₂. *Food Research Int.*, 38, 1009-1014.
- Brahmachari, G. (2011). Bio-Flavonoids With Promising Antidiabetic Potentials: A Critical Survey. *Research Signpost*, 187-212.
- Feng J, Yang XW., Wang RF. (2011). Bio-Assay Guide Isolation and Identification of α -Glucosidase Inhibitors From The Leaves of *Aquilaria sinensis*. *Photochemistry*, 72, 242-247.
- Harapan, Jamil KF, Hayati Z, Muhammad I. (2010). Peran puasa dalam remodelling sel enteroendokrin untuk mencegah diabetes melitus tipe 2. *JIMKI*, 1(1), 36-40.
- Hollander P., Pi-Sunyer X., Coniff RF. (1997). Acarbose in Treatment of Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 20, 248-253.
- Jack. (2012). Synthesis of Antidiabetic Flavonoids and Their Derivative. *Medical Research*, pp 180.
- Kayaputri, I.L., Sumanti, D.M., Djali, M., Indarto R., Dewi D.L. (2014). Kajian Fitokimia Ekstrak Kulit Biji Kakao (*Theobroma cacao* L.). *Chimica et Natura Acta*, 2:1, 83-9.
- Lai YC., Chen CK., Tsai SF., Lee SS. (2012). Triterpenes as α -Glucosidase Inhibitor From Fagus Hayatae.

- Phytochemistry*, 74, 206-211.
- Lee SS., Lin HC., Chen CK. (2008). Acylated Flavonol Monorhamnosides, α -glucosidase Inhibitors, From *Machillus philippinensis*. *Phytochemistry*, 69, 2347-2353.
- Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, Bandung. Penerbit ITB, Bandung.
- Marks, D.B., Allan D. Marks, dan Smith C.M. (1996). *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. EGC, Jakarta.
- Mita, Nur. (2015). Formulasi Krim Dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) Berkhasiat Antioksidan. *J. Trop. Pharm. Chem*, 3:1.
- Oktaria, Y.E. (2013). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Tikus Galur Wistar Yang Diinduksi Aloksan. Makalah. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Patel MB., Mishra SM. (2012). Magnoflorine From *Tinospora cordifolia* Stem Inhibits α -glucosidase and its antiglycemic in rats. *J Funct Foods*, 4, 79-86.
- Puspanti NKS, Anthara MS, Dharmayudha AAGO. (2013). Pertambahan bobot badan tikus diabetes melitus dengan pemberian ekstrak etanol buah naga daging putih. *Indonesia Medicus Veterinus*, 2:2, 225-34.
- Srivastava, P., dan Rishabha M. (2011). Sources of Pectin, Extraction, Application in Pharmaceutical Industry. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 2, 10-18.
- Tadera, K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T. (2006). Inhibition of α -Glucosidase and α -amylase by Flavonoids. *J. Nutr. Sci Vitaminol*, 52, 149-153.
- Wang H., Du YJ., Song HC. (2010). α -Glucosidase and α -amylase Inhibitory Activities of Guava Leaves. *Food Chem*, 123, 6-13.
- Wayahningtyas, P. (2013). *Produksi Pektin Dari Tepung Kulit Buah Kakao (Theobroma cacao L.) Dengan Variasi Pengukusan Dan Jenis Pelarut Asam*. Etd Repository UGM, Universitas Gadjah Mada.
- Winarno, F.G. (1986). *Kimia Makanan*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.