

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIF EKSTRAK ETANOL BUAH PARE (*Momordica charantia*) YANG DAPAT MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH.

Ketut Sepdyana Kartini^{1*}, I Made Dira Swantara^{1,2}, I Nyoman Suartha³

¹ Program Magister Kimia Terapan, Universitas Udayana, Bali

² Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

³ Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana, Bali

Email : Sepdyana27@gmail.com

ABSTRAK : Telah dilakukan penelitian isolasi dan identifikasi senyawa aktif yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dari ekstrak etanol buah pare terhadap tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan. Ekstrak etanol buah pare dipartisi dengan n-heksana, kloroform, dan n-butanol. Berdasarkan hasil uji, fraksi n-heksana paling cepat menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-14. Fraksi n-heksana selanjutnya dipisahkan dengan kromatografi kolom menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (6 : 4,5) diperoleh 5 fraksi (F_A - F_E). Berdasarkan hasil uji, fraksi A merupakan fraksi yang paling aktif menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan fraksi lainnya (fraksi B, C, D, E). Fraksi A dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-7. Hasil identifikasi isolat aktif (F_A) menggunakan GC-MS menunjukkan adanya 10 senyawa yaitu n-tetradekana, metil dodekanoat, metil heksadekanoat, etil heksadekanoat, metil-9,12oktadekadienoat, metil-9-oktadekanoat, metil oktadekanoat, etil oktadekanoat, metil-9cis-11trans-13trans oktadekatrienoat, dan mono (2-etilheksil)-1,2-benzenadikarboksilat.

Kata Kunci : Buah pare, kadar glukosa darah, aloksan

ABSTRACT : The aim of this research was to isolate and identify the active compounds from ethanol extract of bitter melon fruit to reduce the blood glucose levels of male mice (*Rattus novergicus*) which was alloxan induced. Partition of the ethanol extract using n-hexane, chloroform, and n-butanol was conducted and we found that the n-hexane fractions was the fastest to reduce blood glucose levels on day 14. The n-hexane fractions were then separated by coloumn chromatography using n-hexane: ethyl acetate (6: 4,5) as eluent and five fractions (F_A - F_E) were obtained. Based on the test result, fraction A was the most active fraction to reduce the blood glucose levels than other fractions (fractions B, C, D, E). The fraction A could reduce blood glucose levels on day 7. Identification of the active isolates (F_A) was conducted by using GC-MS showed 10 compounds which were n-tetradecane, methyl dodecanoate, methyl hexadecanoate, ethyl hexadecanoate, methyl-9,12octadecadienoate, methyl-9-octadecenoate, octadecanoic acid methyl ester, octadecanoic acid ethyl ester, methyl-9cis-11trans-13trans octadecatrienoate, and 1,2-benzenadikarboxylic acid mono (2-ethylhexyl) ester.

Keywords: bitter melon fruit, blood glucose levels, alloxan

1. PENDAHULUAN

Saat ini, diabetes melitus menjadi ancaman yang serius bagi manusia dan telah menjadi penyebab kematian urutan ke-7 di dunia. Indonesia sendiri

menduduki peringkat ke-4 dengan jumlah penyandang diabetes melitus terbanyak di dunia setelah Amerika Serikat, India, dan Cina. Diabetes Melitus sering disebut sebagai *the great-imitator*, karena penyakit ini dapat mengenai semua organ tubuh

yang disebabkan adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat kekurangan insulin baik yang sifatnya absolut maupun relatif [1]. Banyaknya kasus kematian akibat penyakit diabetes melitus menyebabkan dikembangkannya obat alami yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh.

Penggunaan obat alami, seperti pengobatan herbal untuk mengobati penyakit telah dikenal di daerah Asia dan negara-negara berkembang termasuk Indonesia, yang penduduknya sangat terkait dengan penggunaan obat-obatan tradisional disebabkan harganya lebih murah karena bisa diolah sendiri dan lebih aman daripada obat sintetis. Kajian literatur memperlihatkan bahwa beberapa tanaman yang dapat digunakan sebagai obat diabetes melitus antara lain, daun, kulit, batang, buah, dan akar tanaman mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) [2], mengkudu (*Morinda citrifolia*) [3], bungur (*Lagerstromia speciosa* Pers) [4], serta buah pare (*Momordica charantia*) [5-7]. Pada penelitian ini menggunakan buah pare (*Momordica charantia*), karena sangat berpotensi untuk dikembangkan dan memiliki nilai ekonomi sebagai tanaman pangan dan bahan obat tradisional [8] Efek pare dalam menurunkan glukosa darah pada hewan percobaan bekerja dengan mencegah usus menyerap glukosa yang dimakan. Selain itu, diduga pare memiliki komponen yang menyerupai sulfonilurea (obat antidiabetes paling tua dan banyak dipakai). Obat jenis ini menstimulasi sel β kelenjar pankreas memproduksi insulin [9].

Pada penelitian terdahulu yang telah dilakukan [6] menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) 2 % b/v dengan dosis 100mg/kg BB dan 50 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*). Hal ini ditunjukkan dari hasil uji antihiperqlikemia yang dilakukan, yang mana pemberian ekstrak etanol buah pare dengan dosis 100 mg/kg BB sebanding

dengan pemberian glibenklamid 1 mg/kg BB terlihat mulai pada hari ke-7.

Berdasarkan hal tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa yang terkandung dalam isolat aktif ekstrak etanol pare yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan GC-MS.

2. PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah pare, etanol 70%, aloksan, glibenklamid, aquades, n-heksan, kloroform, etil asetat, n-butanol, pelat KLT, silikagel 60 (untuk kromatografi kolom). Hewan yang digunakan pada penelitian ini adalah 50 tikus putih jantan (*Rattus novvergicus*) berumur 3 bulan dengan berat badan rata-rata \pm 225 gram

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah kandang pemeliharaan tikus, spuit 1 ml, gelas ukur, gelas beker, mortal, kain kasa, kapas, neraca analitik, dan satu set Gluko-Dr®, blender, penguap vacum putar, oral sonde, aluminium foil, alat pemanas air, Seperangkat alat kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, dan kromatografi gas-spektrometri massa.

2.2 Metode

2.2.1 Ekstraksi dan Partisi Metabolit

Buah pare sebanyak 5000 gram diekstraksi secara maserasi dengan 12 L etanol 70% sampai metabolit diperkirakan terekstraksi habis. Semua filtrat etanol diuapkan menggunakan penguap vakum sampai menghasilkan ekstrak kental etanol.

Ekstrak kasar etanol sekitar 20 gram dilarutkan dalam 100 mL campuran etanol-air (3:7), kemudian etanolnya dievaporasi sampai semua etanol menguap. Selanjutnya dipartisi dengan n-heksan (5 x 50 mL). Fraksi n-heksan (FH) dikumpulkan dan residunya (fraksi air) dipartisi kembali dengan kloroform (5 X 50 mL) kemudian fraksi kloroform (FK)

dikumpulkan. Terakhir fraksi air dipartisi dengan n-butanol (5 x 50 mL). Fraksi n-butanol (FB) dikumpulkan. Ketiga fraksi dievaporasi sehingga diperoleh fraksi FH, FK, dan FB. Ketiga fraksi ini diuji aktivitas penurun glukosa darah tikus. Fraksi yang menunjukkan aktivitas paling baik selanjutnya dipisahkan menggunakan kromatografi kolom.

Kromatografi kolom dilakukan menggunakan fasa diam silika gel 60 (70-230 mesh ASTM) dan fasa geraknya campuran n-heksana : etil asetat (6:4,5). Sekitar 2 gram sampel dilarutkan dalam eluen kemudian dimasukkan ke dalam kolom lalu dielus dengan kecepatan alir 1 mL/menit. Eluat ditampung setiap 3 mL dalam satu botol penampung. Elusi dihentikan setelah diperkirakan semua komponen keluar dari kolom. Setiap botol eluat dilihat pola nodanya pada plat kromatografi lapis tipis. Eluat yang memiliki pola pemisahan noda yang sama digabungkan sehingga diperoleh beberapa fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuji antihiperqlikemia terhadap tikus putih jantan.

2.2.2 Uji Antihiperqlikemia terhadap Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*)

Fraksi yang aktif sebagai antihiperqlikemia selanjutnya melalui tahap pemisahan menggunakan teknik kromatografi kolom. Fraksi-fraksi yang dihasilkan dari pemisahan tersebut diuji untuk mengetahui isolat yang paling aktif sebagai antihiperqlikemia terhadap tikus putih jantan (*R.novergicus*) yang berumur 3 bulan, diadaptasi selama 14 hari.

Pemberian larutan dari masing-masing fraksi dilakukan setiap hari mulai hari ke-3 sampai hari terakhir (hari ke-21) dengan dosis 100 mg/kg bb per oral. Kadar glukosa darah diukur kembali pada hari ke-7, 14, 21. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan *glucotest EZ smart*.

Fraksi yang paling aktif diuji kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis dengan menggunakan beberapa

macam pelarut pengembang atau fase gerak yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal pada plat kromatografi dengan fase gerak yang berbeda, ini menunjukkan isolat relatif murni secara KLT dan selanjutnya dianalisis senyawanya.

2.2.3 Identifikasi Isolat Aktif dengan GC-MS

Isolat aktif yang sudah diuji uji antihiperqlikemia terhadap tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) diidentifikasi senyawanya menggunakan kromatografi gas-spektrometri massa dengan menggunakan parameter kerja yang telah baku pada alat tersebut. Melalui kecocokan bobot molekul dan pola fragmentasi dari senyawa pada isolat tersebut dengan senyawa pada *library* sistem kromatografi gas-spektrometri massa maka senyawa hasil isolasi dapat diketahui strukturnya. Kondisi operasional KG-SM yang digunakan dalam analisis isolat toksik sebagai berikut:

Alat : GC-MS
Merk : QP2010S SHIMADZU
Jenis Pengionan : Electron Impact 70 Ev
Jenis Kolom : AGILENT DB-I
Panjang Kolom : 30 meter
Suhu Kolom : 100 °C -270 °C
Gas Pembawa : Helium

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 20,15 g ekstrak kental etanol dilarutkan terlebih dahulu dengan 100 mL campuran etanol-air (3:7), kemudian dievaporasi sampai semua etanolnya menguap. Pada tahap partisi dihasilkan fraksi n-heksana berwarna hijau kecoklatan sebanyak 13,34 g, fraksi kloroform berwarna hijau pekat sebanyak 2,43 g, dan fraksi n-butanol berwarna coklat pekat sebanyak 3,01 g. Hasil uji antihiperqlikemia ketiga hasil partisi ditunjukkan pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil Uji Efek Antihiperqlikemi Masing-Masing Fraksi (n- heksana, kloroform, n-butanol dan ekstrak etanol)

Perlakuan	Hasil
I (kontrol negatif)	-
II (Kontrol positif)	-
III (tikus diabetes + ekstrak etanol)	+++
IV (tikus diabetes + fraksi n-heksana)	++
V (tikus diabetes + fraksi kloroform)	++
VI (tikus diabetes + fraksi n-butanol)	+

Keterangan : +++ = penurunan glukosa darah hari ke-7; ++ = penurunan glukosa darah hari ke-14; + = penurunan glukosa darah hari ke-21

Berdasarkan hasil uji efek antihiperqlikemia masing-masing fraksi (fraksi n-heksana, kloroform, n-butanol, dan ekstrak etanol pare) terhadap tikus putih jantan diperoleh bahwa ekstrak etanol paling cepat menurunkan kadar glukosa darah yaitu pada hari ke-7. Fraksi n-heksana dan kloroform dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-14, sedangkan fraksi n-butanol dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-21. Menurunnya keaktifan dari fraksi hasil partisi dibandingkan ekstrak etanol mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol pare diduga bersifat sinergis sehingga menyebabkan ekstrak etanol yang belum dipartisi memiliki keaktifan lebih tinggi dibandingkan ekstrak hasil partisi.

Berdasarkan data hasil uji efek antihiperqlikemia diperoleh bahwa fraksi n-heksana dan kloroform paling aktif menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-14. Keaktifan fraksi n-heksana dalam menurunkan kadar glukosa darah sama dengan fraksi kloroform. Pada penelitian ini selanjutnya fraksi yang dipisahkan dan dimurnikan adalah fraksi n-heksana karena jumlah fraksi kloroform yang relatif cukup sedikit, sehingga nantinya jika dipaksakan untuk melakukan pemisahan

dikhawatirkan jumlah sampel yang diperoleh sedikit sehingga analisis lebih lanjut tidak dapat dikerjakan.

3.2 Pemisahan dan Pemurnian

Proses kromatografi kolom ini menggunakan kolom dengan panjang 50 cm, diameter 4 cm, dan volume 500 mL. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 sebanyak 60 gram, fase geraknya adalah campuran pelarut n-heksana : etilasetat (6:4,5), sedangkan sampel (fraksi n-heksana) yang digunakan sebanyak 2 gram. Eluat ditampung setiap 3 mL dan dihasilkan 161 botol eluat. Ke 161 botol eluat dideteksi pola nodanya pada kromatografi lapis tipis menggunakan eluen campuran n-heksana-etil asetat (6:4,5). Eluat dengan pola noda yang sama digabungkan sehingga menghasilkan lima fraksi (FA–FE). Hasil uji efek antihiperqlikemianya terhadap tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) ditunjukkan pada Tabel 2.

Berdasarkan hasil uji di atas memperlihatkan bahwa fraksi A merupakan fraksi yang paling aktif menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan fraksi lainnya (fraksi B, C, D, E). Hal ini ditunjukkan dari hasil uji fraksi A dapat menurunkan kadar glukosa darah pada hari ke-7. Fraksi A selanjutnya diidentifikasi kandungan senyawanya dengan GC-MS.

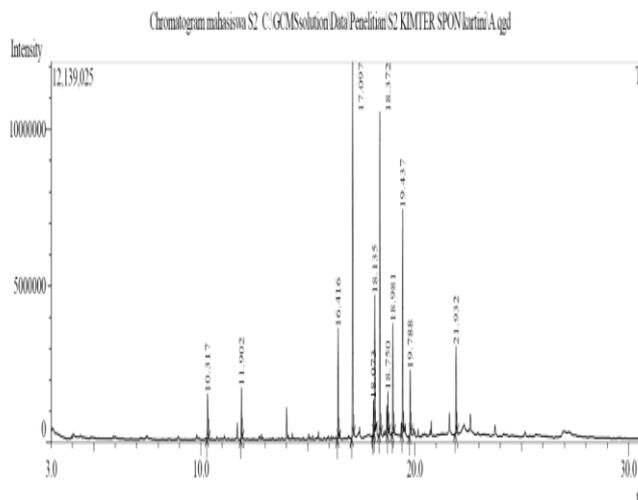
Tabel 2. Hasil Uji Efek Antihiperqlikemia dari Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan Kromatografi Kolom Fraksi n- heksana

Perlakuan	Hasil
I (tikus diabetes + fraksi A)	+++
II (tikus diabetes + fraksi B)	+
III (tikus diabetes + fraksi C)	+
IV (tikus diabetes + fraksi D)	+
V (tikus diabetes + fraksi E)	+

Keterangan : +++ = penurunan glukosa darah hari ke-7; ++ = penurunan glukosa darah hari ke-14; + = penurunan glukosa darah hari ke-21

3.3 Identifikasi Isolat Aktif

Hasil GC-MS isolat aktif buah pare menunjukkan adanya 12 puncak, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Kromatogram pada Gambar 1 menunjukkan adanya 12 puncak yang terdeteksi dalam FA, namun hanya 11 puncak (puncak 1,2,3,4,5,6,7,9,10,11 dan 12) yang dapat teridentifikasi berdasarkan *data base* MS. Sedangkan pada puncak 8 belum dapat diidentifikasi karena memiliki nilai kemiripan yang rendah dengan *data base* library MS. Masing-masing puncak diidentifikasi lebih lanjut dengan spektrometer massa. Identifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektrum massa masing-masing puncak dengan senyawa-senyawa yang telah diketahui dalam *data base* GC-MS, sehingga dapat diduga senyawa-senyawa yang ada dalam fraksi aktif tersebut seperti pada Tabel 3.



Gambar 1. Kromatogram Hasil Analisis Fraksi A

Tabel 3. Senyawa-senyawa yang diduga dari masing-masing puncak pada kromatogram fraksi A ekstrak etanol pare.

No	Puncak	M ⁺	Waktu Retensi (menit)	% Area	Senyawa Dugaan
1	Puncak 1	226	10,317	4,96	n-tetradekana
2	Puncak 2	214	11,902	5,10	metil dodekanoat
3	Puncak 3	270	16,416	8,68	metil heksadekanat
4	Puncak 4	284	17,098	26,79	etil heksadekanat
5	Puncak 5	294	18,074	1,02	metil-9,12oktadekadienoat
6	Puncak 6	296	18,136	2,97	metil-9-oktadekenoat
7	Puncak 7	298	18,372	24,18	metil oktadekanoat
8	Puncak 9	312	18,981	7,02	etil oktadekanoat
9	Puncak 10	292	19,437	5,61	Metil-9cis-11trans-13trans oktadekatrienoat
10	Puncak 11	292	19,788	1,73	Metil-9cis-11trans-13trans oktadekatrienoat
11	Puncak 12	278	21,932	11,08	Mono(2-etilheksil)-1,2-benzenadikarboksilat.

Beberapa penelitian serupa yang mendukung aktivitas senyawa-senyawa tersebut dilaporkan [10] senyawa metil heksadekanat dan metil-9-oktadekenoat merupakan kandungan dominan fraksi kloroform herba ciplukan

(*Physalisanglukosata L.*) yang dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit jantan putih yang diinduksi aloksan tetrahidrat. Berdasarkan penelitian [11] menunjukkan ekstrak etil asetat daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius*

Roxb.) mengandung senyawa aktif asam lemak dan turunannya yaitu asam heksadekanoat (senyawa induk dari metil heksadekanoat pada puncak 3), metil linoleat (senyawa puncak 5), asam oktadekanoat (senyawa induk dari metil oktadekanoat pada puncak 7) dan asam pentadekanoat yang berpotensi sebagai antidiabetes dengan aktivitas penghambatan (IC_{50}) sebesar 94,23 ppm.

Berdasarkan ulasan dari beberapa penelitian di atas, mendukung aktivitas senyawa yang teridentifikasi dari fraksi aktif ekstrak etanol buah pare bersifat sebagai antihiperqlikemia.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Isolat aktif (F_A) yang berasal dari fraksi n-heksana ekstrak etanol buah pare (*M. charantia*) aktif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) pada hari ke-7.
2. Senyawa-senyawa yang teridentifikasi di dalam isolat aktif antihiperqlikemia (F_A) yang berasal dari fraksi n-heksana ekstrak etanol buah pare dengan GC-MS adalah n-tetradekana, metil dodekanoat, metil heksadekanoat, etil heksadekanoat, metil-9,12oktadekadienoat, metil-9-oktadekenoat, metil oktadekanoat, etil oktadekanoat, metil-9cis-11trans-13trans oktadekatrienoat, dan mono (2-etilheksil)-1,2-benzenadikarboksilat.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Pada Kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Mulyanti, S., Iqbal, M., dan Siti, A. 2010. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Aktif Antidiabetes Daging Buag Paria (*Momordica charantia* Linn). *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 1(2), Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung.
- [2] Harmanto, N. 2004. *Menumpas Diabetes Mellitus bersama Mahkota Dewa*. Depok : PT. Agromedia Pustaka
- [3] Fitriani, S.W. 2011. Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) Terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuak Diabetes. *Skripsi*. Universitas Indonesia
- [4] Hernawan, U. E., Sutarno., Setyawan, A.D. 2004. Aktifitas Hipoglikemik dan Hipolipidemik Ekstrak Air Daun Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L.Pers) terhadap Tikus Diabetik. *Biofarmasi*. 2(1):15-23
- [5] Yuda, I.K.A., Anthara, M.S., Dharmayudha, A.A.G.O. 2013. Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dan Pengaruhnya terhadap Penurunan Kadar Glukosa darah Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 5 :2 (ISSN : 2085-2495)
- [6] Mahaswari, L.P. 2011. "Identifikasi Golongan Senyawa Kimia ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) serta Pemanfaatannya Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah Dan Peningkatan Berat Badan Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*)" (*tesis*). Denpasar : Universitas Udayana
- [7] Fahri, T.P. 2011. "Pengaruh decocta buah pare (*Momordica chantia* L) terhadap penunuran kadar glukosa darah tikus wistar yang diberikan aloksan". *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Diponegoro.
- [8] Suryo, J. 2010. *Rahasia Herbal Penyembuh Diabetes*. Yogyakarta: PT Bentang Pustaka

- [9] Wibudi, A. 2006. "Mekanisme kerja Sambiloto (*Andrographis paniculata*) Sebagai Antidiabetes." (*Disertasi*). Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- [10] Sediarto., Hadi Sunaryo., Nurul Amalia. 2013. Efek Antidiabetes dan Identifikasi Senyawa Dominan Fraksi Kloroform Herba Ciplukan (*Physalis Anglukosata L.*) *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 8: 1-56
- [11] Sukandar, D., Imamah, Al Maburr., Hermanto, S. 2010. Antivitas Senyawa Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amarylifolius Roxb.*) *Jurnal Valensi.*1 : 6