



Profil Aktivitas Senyawa Aktif Gigantol dari Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) Sebagai α -Glukosidase Inhibitor

(Profile Activity of Active Compound Gigantol of Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*) as an α -Glucosidase Inhibitor)

Winartiana^{1*} dan Faisal Akhmal Muslikh²

¹ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Kadiri, Kediri, Indonesia

² Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, IIK Bhakti Wiyata, Kediri, Indonesia

*Corresponding author: Winartiana14@unik-kediri.ac.id

Abstract: Orchids are known as plants that have many benefits, one of which is as material for traditional medicine. The use of orchids as raw materials for traditional medicine is related to the chemical compounds they contain. The Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*) is a species of orchid native to Southeast Asia, including Indonesia, Thailand, Malaysia, and the Philippines. This study aims to isolate the active compound from the Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*) and evaluate the α -glucosidase inhibition of the pure compound. Isolation of Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*) extract using the chromatography method to obtain pure compounds. Pure compounds that have been detected by TLC plates will be identified using NMR spectroscopy and MS to obtain their names and structures. The active compound that was isolated from the Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*) is gigantol. Gigantol was evaluated for α -glucosidase inhibition. The results of the % inhibition of the extract and gigantol indicate the presence of α -glucosidase inhibitory activity. The extract inhibited α -glucosidase by 82.54% and gigantol by 73.43%.

Keywords: Isolation; Chromatography; α -glucosidase inhibition; Squirrel Tail Orchid (*Rhynchostylis retusa*).

Abstrak: Penggunaan tanaman anggrek sebagai bahan baku obat tradisional berhubungan dengan adanya senyawa kimia yang dikandungnya. Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) adalah spesies anggrek asli Asia Tenggara, termasuk Indonesia, Thailand, Malaysia, dan Filipina. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa aktif dari Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) dan mengevaluasi penghambatan α -glukosidase dari senyawa murni. Isolasi ekstrak Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) menggunakan metode kromatografi untuk mendapatkan senyawa murni. Senyawa murni yang telah terdeteksi oleh pelat KLT diidentifikasi dengan spektroskopi NMR dan MS untuk mendapatkan nama dan strukturnya. Senyawa aktif yang berhasil diisolasi dari Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) adalah gigantol. Gigantol dievaluasi untuk penghambatan α -glukosidase. Hasil dari % inhibisi dari ekstrak cair dan gigantol menunjukkan adanya aktivitas penghambatan α -glukosidase. Ekstrak menghambat α -glukosidase sebanyak 82.54% dan gigantol sebanyak 73.43%.

Kata kunci: Isolasi senyawa; Kromatografi; Penghambatan α -glukosidase; Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*).

1. Pendahuluan

Diabetes melitus merupakan penyakit yang terdaftar sebagai penyebab utama kematian di seluruh dunia dalam berbagai penelitian. Diabetes melitus ditandai dengan berbagai kelainan metabolisme, yang paling menonjol adalah hiperglikemia kronis yang disebabkan oleh kurangnya kerja insulin [1]. Diabetes melitus juga terkait dengan beberapa proses patogenik lainnya, dimulai dengan penghancuran sel beta pancreas akibat kelainan autoimun, yang mengakibatkan rendahnya sekresi insulin dan desensitisasi reseptor insulin. Selanjutnya proses metabolisme normal protein, lemak dan karbohidrat yang juga ikut terganggu [2]. Diabetes melitus yang tidak diobati dapat menyebabkan beberapa komplikasi seperti nefropati diabetik, neuropati dan retinopati, yang mengakibatkan kematian dini. Pada diabetes melitus tipe 2, bentuk diabetes yang paling umum, gangguan toleransi glukosa menyebabkan resistensi insulin, suatu kondisi penurunan data tanggap. Jaringan target (hati, otot, dan jaringan adiposa) terhadap insulin yang bersirkulasi secara teratur, dan mengakibatkan hiperglikemia postprandial [3].

Obat antidiabetik yang digunakan untuk mengobati diabetes melitus tipe 2 diklasifikasikan menjadi beberapa jenis seperti sulfonilurea, meglitinide, tiazolidinedion, biguanide, penghambat

SGLT2, dan penghambat α -glukosidase. α -glukosidase inhibitor (AGIs) ditemukan untuk mengendalikan hiperglikemia postprandial pada tahun 1970 an dan menjadi obat antidiabetic golongan baru pada tahun 1980 an, namun sejauh ini hanya sedikit yang tersedia secara komersial contohnya adalah acarbose dan voglibose [4-5]. Mereka dapat menurunkan penyerapan karbohidrat dari usus kecil dengan cara menghambat enzim α -glukosidase dan menurunkan glukosa darah postprandial. Acarbose adalah oligosakarida kompleks yang diperoleh dari mikroba asal [6], dosis yang dianjurkan adalah 50-200 mg 3 kali sehari. α -glukosidase memiliki efek singkat dalam menurunkan kadar glukosa darah. Obat ini menghambat pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida sehingga mengurangi penyerapan glukosa usus. Penghambatan enzim ini menghasilkan kadar glukosa postprandial yang lebih rendah dan mencegah hiperglikemia [7]. Namun, penggunaan obat sintesis dalam jangka waktu lama dan dosis yang besar diketahui dapat menyebabkan efek samping seperti masalah hati, asidosis laktat, dan diare [8]. Obat herbal merupakan salah satu pengobatan alternatif untuk penyakit diabetes melitus. Berdasarkan penelitian sebelumnya, banyak jenis anggrek yang mempunyai aktifitas penghambatan α -glukosidase. Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) adalah spesies anggrek

asli Asia Tenggara, termasuk Indonesia, Thailand, Malaysia, dan Filipina. Spesies ini merupakan salah satu anggrek hias populer karena bunganya yang berwarna terang dan tersusun rapi. Secara tradisional anggrek ini digunakan sebagai pengobatan rematik, pembersih luka, asma, gangguan menstruasi, penyakit kulit dan radang tenggorokan. Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) mengandung beberapa senyawa fenolik yang mempunyai aktivitas penghambatan α -glukosidase. Salah satu senyawa fenolik yang cukup banyak ditemukan ditanaman anggrek yaitu gigantol.

2. Metodologi

2.1 Plant material

Seluruh tanaman Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) yang dibeli dari pasar Chatuchak pada Agustus 2022. Identifikasi tanaman yang dilakukan oleh Dr. Boonchoo Sritularak. Departemen Farmakognosi dan Botani Farmasi, Fakultas Ilmu Farmasi, Universitas Chulalongkorn.

2.2 Ekstraksi dan Isolasi

Bahan yang digunakan pelarut organik (metanol, aseton, etil asetat, diklorometana, dan heksana) dalam penelitian ini memiliki kualitas komersial dan didistilasi ulang sebelum digunakan. Ragi Enzim α -glukosidase dan p-nitrofenol- α -glukopiranosida dibeli dari Sigma chemical, Inc. (St. Louis, MO, USA), sedangkan

acarbose diperoleh dari Fluka Kimia (Buchs, Swiss).

Sampel Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) sebanyak 2 kg dikeringkan dan dijadikan bubuk dimaserasi dengan metanol (MeOH) selama 4 hari, dan proses ini diulang sebanyak 4 kali. Semua ekstrak MeOH dikumpulkan dan dikeringkan di bawah tekanan rendah untuk menghasilkan massa kental (200,6 g). Perlu dicatat di sini bahwa ekstrak metanol ini pada konsentrasi 100 μ g/ml menunjukkan penghambatan α -glukosidase sebesar 85,71 %. Ekstrak metanol dipisahkan dengan kromatografi vakum cair silika gel 60 dengan elusi gradien (heksana, etil asetat, dan metanol) menghasilkan empat fraksi (fraksi 1-4).

Fraksi No 2 (3,69 g) selanjutnya dipisahkan dengan kolom kromatografi silika gel (gradien heksana-EtOAc) menghasilkan 2 fraksi (2A dan 2B). Fraksi 2A (1,57 g) dipisahkan dengan kolom kromatografi (silika gel, heksana-aseton) untuk menghasilkan fraksi 2AG. Fraksi 2AG (130 mg) dipisahkan dan dimurnikan dengan kolom kromatografi (silika gel, heksana-aseton) hingga menghasilkan senyawa RR 2 (7.3mg), yang diidentifikasi sebagai gigantol.

Uji penghambatan α -glukosidase dilakukan sesuai dengan pengujian yang dilakukan sebelumnya dengan beberapa modifikasi [9]. Aktivitas enzim ditentukan dengan mengukut jumlah p-nitrofenol yang

dilepaskan dari substrat p-nitrofenil-D glukopiranosida (pNPG). 10µl sampel uji dan 40µl 0,1U/ml α-glukosidase, dicampur dalam mikrotiter 96 sumur, dan campuran diinkubasi 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian, larutan pNPG 2 mM (50µl) ditambahkan ke dalam reaksi campuran.

Reaksi dibiarkan berlangsung selama 20 menit sebelumnya 10 µl larutan Na₂CO₃ 1M ditambahkan untuk menghentikan reaksi. Diukur absorbansi pada 405 nm menggunakan microplate reader. Persentase penghambatan dihitung sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = \left[\frac{(\text{Absorbansi Blanko} - \text{Absorbansi Sampel}) \times 100}{\text{Absorbansi Blanko}} \right] \dots \dots \dots (1)$$

Aktivitas penghambatan α-glukosidase dari setiap sampel uji dinyatakan sebagai persentase penghambatan dan dibandingkan dengan acarbose sebagai kontrol positif.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil Ekstraksi dan Isolasi *Rhynchosytilis retusa*

Seluruh bagian tanaman Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchosytilis retusa*) dicacah secara halus kemudian dikeringkan menggunakan oven selama 3 hari. Simplisia kering kemudian dihaluskan menggunakan mesin grinding, dilanjutkan dengan proses maserasi. Proses maserasi dilakukan 4 kali dengan perbedaan jumlah pelarut. Pelarut yang digunakan adalah metanol karena mampu menarik senyawa polar maupun non polar. Hasil maserasi kemudian di keringkan menggunakan rotari evaporator sehingga menghasilkan ekstrak kental metanol. Hasil ekstraksi metanol serbuk simplisia Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchosytilis retusa*) menghasilkan ekstrak metanol kental

sebanyak 200,6 gram. Hasil ekstraksi kemudian di fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan mendapatkan 4 fraksi. Fraksi no 2 sebanyak 3,69 gram kemudian diisolasi dengan pelarut etil asetat dan n-heksan hingga didapatkan senyawa aktif murni yang diidentifikasi sebagai gigantol.

Gigantol didapatkan dari hasil identifikasi NMR yang menyatakan bahwa gigantol berupa padatan amorf berwarna coklat. Senyawa ini dianalisa menggunakan C-NMR dan H-NMR sehingga didapatkan data berupa sebagai berikut: HR-ESI-MS m/z: [M-H]⁻ Calcd. for C₁₆H₁₇O₄ 273.1127, found: m/z 273.1101. ¹H NMR (400 MHz, acetone-d₆) δ, ppm: 2.06 (4H, m, H₂-α, H₂-α'), 3.70 (3H, s, 3'-OMe), 3.79 (3H, s, 3-OMe), 6.23 (1H, t, J = 2 MHz, H-4), 6.29 (1H, d, J = 2 MHz, H-6), 6.30 (1H, t, J = 2 MHz, H₂), 6.65 (1H, dd, J = 8, 2 MHz, H-6'), 6.73 (1H, d, J = 8 MHz, H-5'), and 6.80 (1H, d, J = 2 MHz, H-2'). ¹³C-NMR (100 MHz, acetone-d₆) δ, ppm: 37.9(C-α'), 39.0 (C-α), 55.26 (3'-

OMe), 56.1 (3-OMe, 99.6 (C-4), 106.3 (C-6), 108.8 (C-2), 112.9 (C-5'), 115.4 (C-2'), 121.6 (C-6'), 134.1 (C-1'), 145.2 (C-4'), 145.5 (C-1), 148.0 (C-3'), 159.2 (C-3), 161.8 (C-5).

Hasil analisa gigantol menggunakan NMR kemudian divalidasi menggunakan MS sehingga diketahui nilai massa molekulnya. Berdasarkan bukti spektra yang dijelaskan di atas, senyawa tersebut sebagai gigantol. Telah dilaporkan sebelumnya dari anggrek lain misalnya *Cymbidium goeringii* [10],

Dendrobium draconis [11], *Dendrobium aphyllum* [12], *Dendrobium palpebrae* [13] dan *Dendrobium auratiacum* [14].

3.2 Hasil Penghambatan α -Glukosidase Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchosytilis retusa*)

Pengujian antidiabetik dengan penghambatan α -glukosidase pada ekstrak dan senyawa aktif gigantol menunjukkan nilai yang cukup signifikan.

Tabel 1. Penghambatan α -Glukosidase Ekstrak dan Senyawa aktif *Rhynchosytilis retusa*

	Konsentrasi	% Inhibition	IC ₅₀ (μ M)
Ekstrak metanol	25 μ g/ml	79.8%	98.50 \pm 15.6
	50 μ g/ml	82.12%	
	100 μ g/ml	85.71%	
Gigantol	12.5 μ g/ml	70.44%	78.97 \pm 12.2
	25 μ g/ml	72.36%	
	50 μ g/ml	77.50%	
Acarbose	100 μ g/ml	98.56%	512.54 \pm 56

Hasil analisis antidiabetik pada penghambatan α -glukosidase menyatakan bahwa ekstrak dan senyawa aktif berupa gigantol mempunyai aktivitas penghambatan yang signifikan. Pada ekstrak metanol Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchosytilis retusa*) menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ yaitu 98.50 \pm 15.6 sedangkan pada senyawa aktif gigantol menunjukkan nilai IC₅₀ 78.97 \pm 12.2. Nilai dari keduanya apabila dibandingkan dengan positif kontrol berupa acarbose menunjukkan nilai yang cukup signifikan. Hal ini disebabkan oleh perbedaan konsentrasi pada analisa. Acarbose sebagai

kontrol positif menyatakan nilai IC₅₀ 512.54 \pm 56 pada konsentrasi 100 μ g/ml.

Ekstrak metanol mempunyai % penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa aktif gigantol. Hal ini dapat terjadi karena pada ekstrak metanol mengandung banyak senyawa aktif termasuk flavonoid dan alkaloid. Melihat hasil analisa ini maka terdapat kemungkinan bahwa masih adanya senyawa aktif yang lebih poten terhadap penghambatan α -glukosidase.

4. Kesimpulan

Ekstrak metanol Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchosytilis retusa*) mempunyai aktivitas

antidiabetik dengan mekanisme penghambatan α -glukosidase. Senyawa ekstrak metanol yang terkandung dalam Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan terpenoid. Salah satu senyawa aktif flavanoid yang ditemukan pada Anggrek Ekor Tupai (*Rhynchostylis retusa*) yaitu gigantol. Gigantol mempunyai aktivitas penghambatan α -glukosidase dengan nilai IC_{50} 78.97 ± 12.2 .

Daftar Pustaka

- [1] Aynalem, S. B., & Zeleke, A. J. 2018. Prevalence of diabetes mellitus and its risk factors among individuals aged 15 years and above in Mizan-Aman town, Southwest Ethiopia, 2016: a cross sectional study. *International Journal of Endocrinology*.
- [2] American Diabetes Association. 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 33(Supplement_1), S62-S69
- [3] Wilcox G. Insulin and insulin resistance. 2005. *Clin Biochem Rev*. 2005;26(2):19-39.
- [4] Hakamata W., Kurihara M., Okuda H., Nishio T., Oku T. 2009. Design and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information. *Curr Top Med Chem*. 2009;9(1):3-12.
- [5] Yin Z., Zhang W., Feng F., Zhang Y., Kang W. 2014. α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Sci Hum Wellness*. 2014;3(3-4):136-174
- [6] Bischoff H. Pharmacology of alpha-glucosidase inhibition. 1994. *Eur J Clin Invest*. 1994;24(S3):3-10.
- [7] Patil, P., Mandal, S., Tomar, S. K., & Anand, S. 2015. Food protein-derived bioactive peptides in management of type 2 diabetes. *European Journal of Nutrition*, 54, 863-880.
- [8] Tundis, R., Loizzo, M., & Menichini, F. 2010. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: *an update. Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 10(4), 315-331.
- [9] Inthongkaew, P., Chatsumpun, N., Supasuteekul, C., Kitisripanya, T., Putalun, W., Likhitwitayawuid, K., & Sritularak, B. 2017. α -Glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activities and glucose uptake stimulatory effect of phenolic compounds from *Dendrobium formosum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27, 480-487.
- [10] Won, J.-H., Kim, J.-Y., Yun, K.-J., Lee, J.-H., Back, N.-I., Chung, H.-G., Chung, S. A., Jeong, T.-S., Choi, M.-S., & Lee, K.-T. 2006. Gigantol isolated from the whole plants of *Cymbidium goeringii* inhibits the LPS-induced iNOS and COX-2 expression via NF-KB inactivation in RAW 264.7 macrophages cells. *Planta Medica*, 72(13), 1181-1187.
- [11] Sritularak, B., Anuwat, M., & Likhitwitayawuid, K. 2011. A new phenanthrenequinone from *Dendrobium draconis*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 13(03), 251-255.
- [12] Chen, Y., Xu, J., Yu, H., Qing, C., Zhang, Y., Wang, L., Liu, Y., & Wang, J. 2008. Cytotoxic phenolics from *Bulbophyllum odoratissimum*. *Food Chemistry*, 107(1), 169-173.
- [13] Kyokong, N., Muangnoi, C., Thaweeseet, W., Kongkatitham, V., Likhitwitayawuid, K., Rojsitthisak, P., &

- Sritularak, B. 2019. A new phenanthrene dimer from *Dendrobium palpebrae*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 21(4), 391-397.
- [14] Wang, L., Zhang, C.-F., Wang, Z.-T., Zhang, M., & Xu, L.-S. 2009. Five new compounds from *Dendrobium crystallinum*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 11(11), 903-911.