



PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAN ISOLAT FLAVONOID TEH OOLONG (*Camellia sinensis* [L.] O. K) TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA SECARA *IN VITRO*

*INFLUENCE OF ETHANOL EXTRACT AND FLAVONOIDS ISOLATES OF OOLONG TEA (*Camellia sinensis* [L.] O. K) TO THE DECREASE OF GLUCOSE CONCENTRATION IN VITRO*

Agus Suprijono¹, Dian Ayu Kusumaningrum², Lia Kusmita³
^{1,2,3}Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi “YAYASAN PHARMASI” Semarang
Agussuprijono1967@gmail.com

SARI

Ekstrak etanol dan isolat daun teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) diduga mengandung senyawa-senyawa fenolik terutama flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu kandungan tanaman terbesar di alam yang dapat berpotensi untuk mengatasi diabetes melitus. Diabetes melitus adalah suatu kelainan metabolismik kronik yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relative. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian, ada tidaknya perbedaan aktivitas, serta konsentrasi maksimal ekstrak etanol dan isolat flavonoid daun teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) terhadap penurunan kadar glukosa secara *in vitro*. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Isolasi senyawa flavonoid dilakukan dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Penetapan kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan metode Nelson – Somogy. Ekstrak etanol dan isolat flavonoid masing-masing dibuat seri konsentrasi 60, 80, 100, 120, dan 140 ppm. Struktur flavonoid dari daun teh oolong yang dapat menurunkan kadar glukosa secara *in vitro* senyawa turunan flavonol dengan rumus 6, 7 dihidroksi flavonol. Hasil persentase penurunan kadar glukosa setelah penambahan ekstrak etanol berturut-turut sebesar 59,30%, 63,95%, 72,27%, 59,73%, 56,29%, sedangkan setelah penambahan isolat flavonoid berturut-turut yaitu 40,88%, 46,35%, 50,19%, 58,09%, 60,95%. Dari data yang diperoleh dalam penelitian, kemudian diuji menggunakan uji Anava dua jalan dan uji t. Hasil uji statistika menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna nilai persen penurunan kadar glukosa secara *in vitro* antara kelompok konsentrasi ekstrak etanol dan isolat flavonoid.

Kata kunci : daun teh oolong, flavonoid, penurun glukosa, Nelson - Somogy

ABSTRACT

*The Ethanol extract and flavonoid isolates of the leaves of Oolong tea (*Camellia sinensis* [L.] O. K) are thought contain phenolic compounds, especially flavonoid. Flavonoid is one of the biggest content of plants in nature, which can potentially decrease Diabetes Mellitus. Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder characterized by blood glucose*



*concentration that exceed normal concentration (hyperglycemia) due to the body lacks insulin both absolute and relative. The aim of this research was to determine the influence of the provision, the existence of differences in the activity, and the maximum concentration of ethanol extract and flavonoid isolates of oolong tea leaves (*Camellia sinensis* [L.] O. K) to decrease glucose concentration by in vitro. Extraction method used in this research was maceration method using 70% ethanol. Isolation of flavonoid compounds were using column chromatography. Determination of glucose concentration were calculated using Nelson - Somogy. Ethanol extract and flavonoids isolates each was made series concentration 60, 80, 100, 120, and 140 ppm. The structure of flavonoids from the leaves of oolong tea can decrease glucose concentration in vitro derived compounds with the formula a flavonol 6, 7 dihydroxy flavonol. The percentage of decreasing in glucose concentration after the addition of the ethanol extract, respectively were 59.30%, 63.95%, 72.27%, 59.73%, 56.29%, whereas after the addition of flavonoid isolates respectively were 40.88 %, 46.35%, 50.19%, 58.09%, 60.95%. From the data obtained in the research, were then tested using two-way ANOVA test and t-test. Statistical test results showed that there were significant differences in the value of the percentage of decrease glucose concentration in vitro between the concentration of ethanol extract and flavonoid isolates.*

Keywords: leaf oolong tea, flavonoid, the decrease of glucose, Nelson – Somogy methods.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah suatu kelainan metabolismik kronik yang memiliki dampak signifikan terhadap kesehatan seseorang, kualitas hidup, harapan hidup pasien, dan pada sistem pelayanan kesehatan. Diabetes melitus (DM) merupakan sekumpulan gejala yang timbul pada seseorang, ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi nilai normal/hiperglikemia (≥ 200 mg/dl) akibat tubuh kekurangan insulin (Subroto, 2006). Gejala DM berupa *polydipsia*, *polyuria* dan *polyphagia* (Harry dan Yudha, 2011 : 23-26).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan untuk penelitian penurunan glukosa adalah teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K). Teh oolong adalah jenis teh semi fermentasi. Khasiat teh oolong antara lain penyubur dan menghitamkan rambut, sakit kepala, diare, kolesterol, kencing manis (*diabetes mellitus*), dan infeksi saluran cerna (Hosoda, 2003). Senyawa dalam teh oolong yang berperan penting bagi kesehatan adalah senyawa polifenol, tanin, kandungan mineral serta adanya kandungan alkaloid (Tuminah, 2004). Selain itu teh oolong juga mengandung senyawa flavonoid berupa flavonol yaitu kuersetin, kaemferol, dan mirisetin (Syah, 2006). Senyawa aktif flavonoid banyak manfaatnya bagi tubuh. Salah satunya yaitu flavonoid dapat digunakan sebagai penurun kadar glukosa.



Untuk mengambil senyawa aktif dalam teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) perlu dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai (Depkes RI, 2000 : 7). Kandungan senyawa aktif dalam teh oolong mempengaruhi pemilihan pelarut yang akan digunakan untuk pembuatan ekstrak (Depkes RI, 1986 : 32).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran, jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal jaringan tumbuhan. Di samping itu sering terdapat campuran yang terdiri atas flavonoid yang berbeda kelas (Markham, 1988).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian, ada tidaknya perbedaan aktivitas, serta konsentrasi maksimal ekstrak etanol dan isolat flavonoid daun teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) terhadap penurunan kadar glukosa secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Variabel penelitian sebagai berikut :

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah :
 - a. Konsentrasi ekstrak etanol teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) yaitu 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm.
 - b. Konsentrasi isolat flavonoid teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) yaitu 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, 140 ppm.
2. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah :

Aktivitas penurunan glukosa ekstrak etanol teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K) dan isolat flavonoid teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K).

Bahan uji yang digunakan adalah serbuk teh oolong (*Camellia sinensis* [L.] O. K), etanol 70%, baku glukosa anhidrat, aquadest, arsenomolybdat, dan reagen Nelson-Somogy.

Alat-alat yang digunakan antara lain Spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, pipet volume, labu takar, corong kaca, pipet tetes, dan tabung reaksi.

Teh oolong diekstraksi dengan metode:

Remerasi. 50 gram serbuk teh oolong kering dimerasi dengan ditambahkan 500 ml etanol 70% (selama 5 hari, penyari diganti setiap 1x24 jam). Filtrat yang didapat selama 5 hari dipekatkan hingga didapat ekstrak kental teh oolong.

Pengujian senyawa mineral secara kualitatif



Identifikasi natrium, kalsium, kalium, magnesium, dan mangan dengan menggunakan larutan asam klorida, kalium oksalat, cobalt nitrit, titan yellow dan natrium hidroksida akan terbentuk endapan putih (Svehla, 1985).

Pembuatan larutan glukosa 80 ppm

Ditimbang 100,00 mg baku glukosa anhidrat, dimasukkan dalam labu takar 50 ml. Dilarutkan dalam etanol 80%, panaskan pada suhu 70°C sambil diaduk sampai larut. Didinginkan hingga suhu kamar dan tambah aquadest sampai tanda 50 ml sehingga didapat konsentrasi glukosa 2000 ppm. Kemudian diencerkan hingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi 80 ppm.

Cara isolasi flavonoid

Ditimbang ekstrak yang diperoleh kurang lebih sebanyak 1 gram. Ekstrak dilarutkan dengan menggunakan fase gerak BAA. Isolasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom, fase diam digunakan silika gel G60 F254, dan fase gerak yaitu n-butanol : asam asetat glasial : air (4:1:5). Sampel yang akan difraksinasi dimasukkan dalam kolom, kemudian fase gerak dialirkan sedikit demi sedikit. Hasil fraksinasi berupa isolat ditampung dalam vial tiap 5 ml dan dihentikan sampai isolat jernih atau tidak berwarna. Isolat yang positif flavonoid diuapkan sedemikian rupa hingga diperoleh isolat kering.

Cara identifikasi flavonoid dengan pereaksi geser

Isolat flavonoid dalam metanol dianalisis secara spektrofotometer UV-Vis dengan pereaksi-pereaksi geser meliputi larutan NaOH 2N, serbuk Na asetat anhidrat, serbuk H₃BO₃ anhidrat, larutan AlCl₃ 5%, dan larutan HCl pekat.

Cara pengukuran kadar glukosa

Ekstrak etanol dan isolat flavonoid teh oolong masing-masing dibuat seri konsentrasi 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 120 ppm, dan 140 ppm. Diambil 3 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan dengan 3 ml baku glukosa dengan konsentrasi 80 ppm dalam aquadest. Diambil 1 ml dari larutan tersebut dimasukkan kedalam labu takar 10 ml, ditambah 1 ml reagen Nelson ditutup dengan kapas kemudian dipanaskan diatas air mendidih selama 10 menit. Larutan ditinginkan selama 5 menit, ditambah 1 ml reagen Arsenomolibdat kemudian ditambah aquadest sampai tanda batas, gojog dan didiamkan selama 10 menit. Hasilnya dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 747 nm.

Analisis Data

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{\text{kadar awal} - \text{kadar akhir}}{\text{kadar awal}}$$



Keterangan :

- Kadar awal = kadar baku glukosa (ppm)
- Kadar akhir = kadar setelah penambahan ekstrak maupun isolate flavonoid (ppm)

HASIL PENELITIAN

Proses penarikan senyawa dilakukan dengan menggunakan metode remaserasi. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 70%. Etanol 70% masih mengandung air yang bersifat polar sehingga aglikon dan glikosida flavonoid dapat tertarik pada cairan penyari tersebut.

Untuk memastikan bahwa senyawa yang mempunyai kemampuan dalam menurunkan kadar glukosa sudah terekstraksi maka dilakukan uji pendahuluan. Hasil identifikasi secara kualitatif menunjukkan bahwa teh oolong yang diekstraksi dengan metode remaserasi mengandung senyawa flavonoid dan mineral.

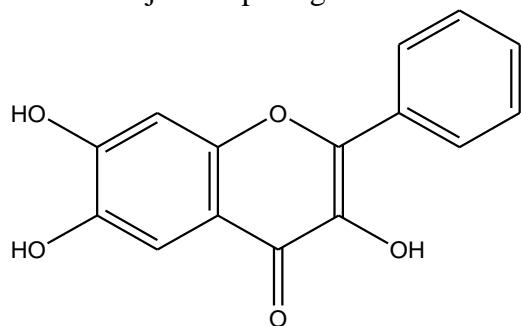
Untuk mengambil senyawa flavonoid yang terkandung dalam teh oolong dilakukan dengan cara isolasi flavonoid ekstrak etanol dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan silika gel G 60 F 254 dan fase gerak yang digunakan BAA (4:1:5). Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian selanjutnya untuk mengetahui jenis dan struktur senyawa flavonoid dengan dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Data interpretasi spektrum ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Data Interpretasi Spektrum secara Spektrofotometri UV-Vis

Perlakuan Sampel Isolat Flavonoid	λ maks (nm)		Pergeseran λ (nm)		Penafsiran
	Pita II	Pita I	Pita II	Pita I	
Sampel	266,40	364			Senyawa Flavonol (3-OH bebas)
Sampel + NaOH	284,20	395	+17,8	+31	
Sampel + NaOH (5menit)	295	396,6	+28,6	+32,6	
Sampel + NaOAc	275	385,40	+8,60	+21,40	Gugus 7-OH
Sampel + NaOAc + H ₃ BO ₃	253,40	392	-13	+28	
Sampel + AlCl ₃ + HCl	283,80	395,40	+17,40	+31,40	Gugus 5-OH
Sampel + AlCl ₃	298,20	394,00	+14,40	-1,40	

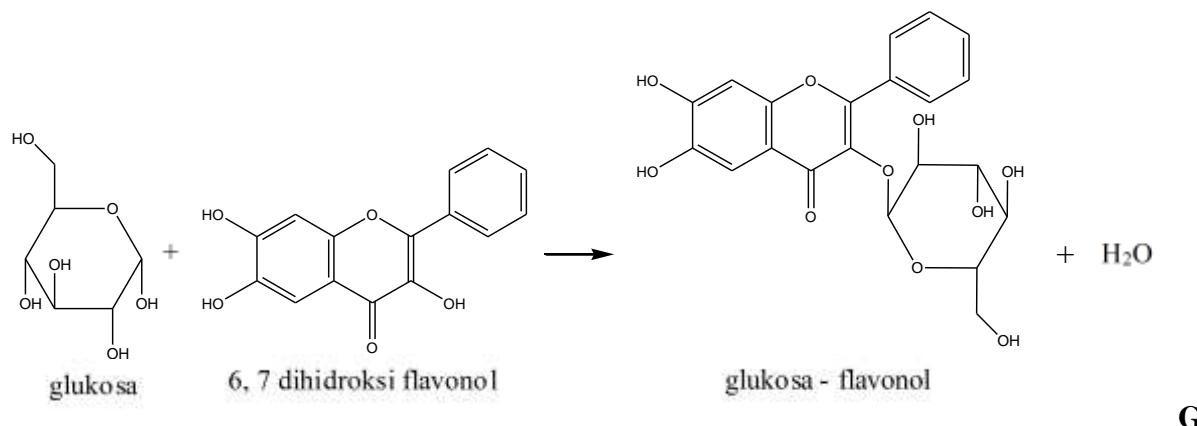
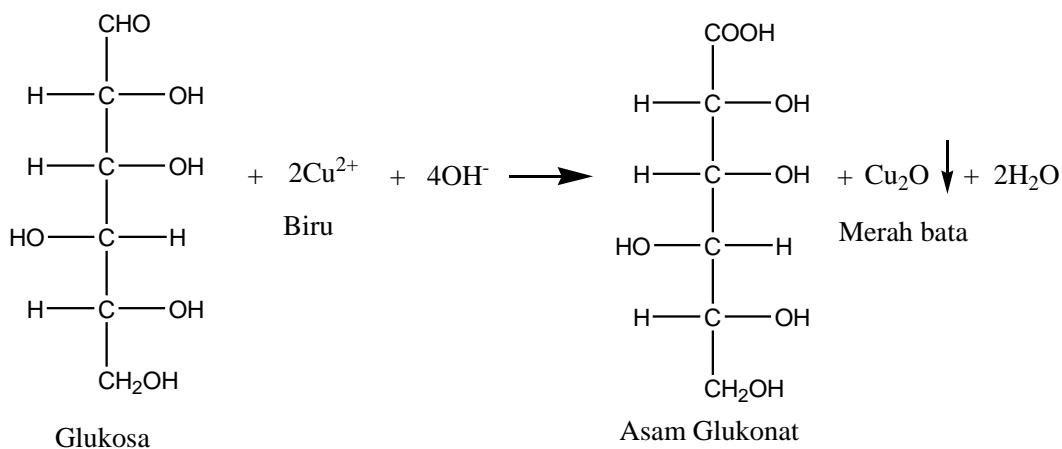
Gambar hasil analisis spectrum ditunjukkan pada gambar 1.

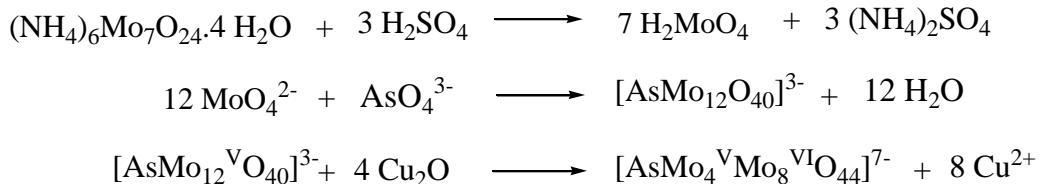


**Gambar 1. Hasil Analisis Spectrum Isolat Flavonoid Teh Oolong**

Untuk memastikan besarnya kemampuan penurunan kadar glukosa dilakukan uji secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri menggunakan reagen Nelson dan arsenomolibdat. Prinsip dari reaksi antara glukosa dengan reagen Nelson adalah penambahan reagen Nelson pada sampel yang telah ditambah dengan baku glukosa akan mereduksi ion Cu^{2+} sehingga membentuk asam glukonat dan endapan kupro oksida. Endapan kupro oksida tersebut akan dilarutkan oleh penambahan reagen arsenomolibdat dan membentuk senyawa komplek kupri dengan molibdat yang berwarna biru kehijauan. Warna yang terbentuk selanjutnya diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal.

Pengukuran berdasarkan intensitas warna yang dihasilkan dari reaksi glukosa dengan reagen nelson dan arsenomolibdat ditunjukkan pada gambar 2 dan 3.

**Gambar 2. Reaksi antara Glukosa dan Flavonoid**

**Gambar 3. Reaksi Glukosa dengan Reagen Nelson-Somogy**

Data hasil pengukuran persen penurunan glukosa ditunjukkan pada tabel 2 dan 3.

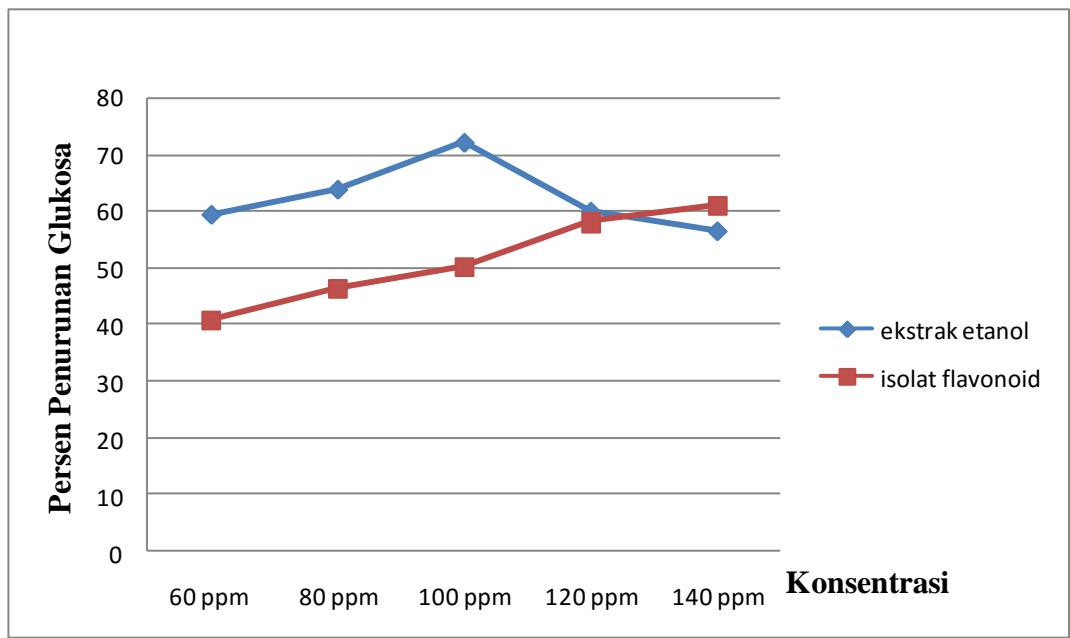
Tabel 2. Hasil Pengukuran Persen Penurunan Glukosa Setelah Penambahan Ekstrak Etanol Teh Oolong.

Konsentrasi	% penurunan glukosa			Rata-rata % penurunan
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
60 ppm	58,88	59,57	59,44	59,30
80 ppm	63,99	63,95	63,91	63,95
100 ppm	72,32	72,22	72,28	72,27
120 ppm	62,61	58,23	58,36	59,73
140 ppm	57,06	57,06	54,74	56,29

Tabel 3. Hasil Pengukuran Persen Penurunan Glukosa Setelah Penambahan Isolat Flavonoid Teh Oolong.

Konsentrasi	% penurunan glukosa			Rata-rata % penurunan
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
60 ppm	40,30	42,81	39,52	40,88
80 ppm	46,79	45,77	46,48	46,35
100 ppm	51,25	49,77	49,54	50,19
120 ppm	57,13	58,22	58,92	58,09
140 ppm	61,26	60,95	60,64	60,95

Hasil pengukuran penurunan kadar glukosa dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



Gambar

4. Grafik Rata-rata Persentase Penurunan Glukosa

Pada kelompok perlakuan dengan penambahan ekstrak maupun isolat flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh adanya kandungan flavonoid yang terlarut dalam ekstrak teh oolong. Penurunan kadar glukosa diduga karena terjadinya reaksi kompleks setelah penambahan ekstrak teh oolong yang mengandung flavonoid. Senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa yaitu flavonoid. Glukosa akan berikatan dengan flavonoid membentuk kompleks sehingga struktur glukosa akan berikatan dengan flavonoid dan aktivitasnya akan menurun. Hasil pengukuran menunjukkan penurunan disebabkan karena adanya ikatan antara glukosa dengan flavonoid yang menyebabkan glukosa tidak dapat berikatan lagi dengan pereaksi nelson dan arsenomolibdat sehingga kadar glukosa yang terbaca adalah kadar glukosa sisa.

Nilai persen penurunan kadar glukosa yang diberi perlakuan dengan ekstrak teh oolong memberikan nilai yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan kadar glukosa yang diberi perlakuan dengan isolat flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa (80 ppm). Hal ini kemungkinan disebabkan karena adanya kandungan mineral (natrium, kalium, magnesium, dan mangan) yang ikut terlarut dalam sediaan ekstrak teh oolong sedangkan pada isolat hanya satu senyawa saja yang menurunkan kadar glukosa.

Berdasarkan perhitungan dari uji *post hoc* antar kelompok glukosa setelah penambahan ekstrak etanol dan isolat flavonoid sebagian besar data terdapat perbedaan signifikan yaitu



nilai signifikansinya kurang dari 0,05, sehingga dapat disimpulkan masing-masing kelompok data terdapat perbedaan dalam menurunkan glukosa.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil simpulan antara lain terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol dan isolat flavonoid teh oolong terhadap penurunan kadar glukosa secara *in vitro*, terdapat perbedaan ekstrak etanol dan isolat flavonoid (6, 7 dihidroksi flavonol) dapat menurunkan kadar glukosa secara *in vitro*, dan konsentrasi maksimal ekstrak etanol yang dapat menurunkan kadar glukosa adalah 100 ppm sedangkan konsentrasi maksimal isolat flavonoid yang dapat menurunkan kadar glukosa adalah 140 ppm.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disarankan:

1. Perlu dilakukan penentuan struktur senyawa flavonoid dengan menggunakan instrumen yang lain seperti IR, spektrofotometri NMR, GC-MS dan LC-MS.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang kandungan kimia yang lain dari daun teh oolong yang dapat menurunkan kadar glukosa.
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui efek pemberian daun teh oolong terhadap penurunan kadar glukosa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada

- Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang yang telah memberi kesempatan untuk melakukan penelitian ini
- Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Stifar Yayasan Pharmasi Semarang yang telah memberi kesempatan untuk melakukan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Departemen Kesehatan RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta
- _____. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta
- Harry dan Yuda Hananta. 2011. *Deteksi Dini dan Pencegahan Diabetes Melitus*. Yogyakarta : Media Pressindo
- Hosoda, K. 2003. *Antihyperglycemic Effect of Oolong Tea in Type 2 Diabetes*. *International Research Journal of Pharmacy*. Volume 26 : 1714 - 1715
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Diterjemahkan oleh Padmawinata. Bandung : ITB
- Subroto. 2006. *Ramuan Herbal Untuk Diabetes Melitus*. Jakarta : Penebar Swadaya
- Svehla, G. 1985. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semi Mikro*. Edisi 5 bagian 1. Diterjemahkan oleh : Setiono, L., Hadyana, A.P. Jakarta : PT. Kelman Media Pusaka



- Syah, A. A. 2006. *Taklukan Penyakit dengan Teh Hijau*. Jakarta : Agromedia Pustaka
- Tuminah, S. 2004. *Teh [Camelia sinensis. O.K. var. Assamica (Mast)] Sebagai Salah Satu Sumber Oksidan*. Jurnal Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI : Jakarta