

Aktivitas Penghambatan Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) dan Skrining Fitokimia Ekstrak Buah Api-api (*Avicennia marina*)

Inhibition Activity of Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) and Phytochemical Screening Extract of White Mangrove Fruit

Dwi Hadi Setya Palupi^{1*}, Sri Haryanti², Masitoh Suryaning Prahasiwi¹ dan Retno Sari Utomo²

¹Program Studi S1 Farmasi, STIFAR Yayasan Pharmasi Semarang, Semarang, Indonesia

²Program Magister Farmasi, STIFAR Yayasan Pharmasi Semarang, Semarang, Indonesia

*Corresponding author: dwi.palupi@ymail.com

Diterima: 23 Januari 2025; **Disetujui:** 26 Mei 2025; **Dipublikasi:** 22 Juni 2025

Abstrak

Pengobatan farmakologis untuk diabetes didasarkan pada peningkatan ketersediaan insulin dan perbaikan sensitivitas insulin. Saat ini, terapi berbasis glukagon-like peptide 1 (GLP-1) bertujuan untuk mengendalikan glukosa melalui penghambatan enzim DPP-4. Api-api (*Avicennia marina*) merupakan *mangrove* yang banyak terdapat di Indonesia, namun pemanfaatannya sebagai obat oleh masyarakat masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak maupun fraksi buah api-api dan menentukan aktivitas penghambatannya terhadap enzim dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dalam etanol 96%, dilanjutkan fraksinasi dengan metode cair-cair untuk mendapatkan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air. Skrining fitokimia dilakukan dengan uji warna dan kromatografi lapis tipis (KLT). Aktivitas penghambatan enzim DPP-IV dilakukan menggunakan metode fluoresensi dengan substrat fluorogenik Gly-Pro-aminomethyl-coumarin (AMC). Rendemen hasil ekstraksi buah api-api (*Avicennia marina*) sebesar 48,06% sedangkan fraksinasi dari ekstrak menghasilkan fraksi air dengan rendemen terbesar (31,54%). Hasil skrining fitokimia dan KLT memperlihatkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah api-api mengandung flavonoid, triterpenoid/steroid, tanin, dan saponin. Fraksi air terdeteksi mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid, sedangkan fraksi n-heksan hanya mengandung flavonoid dan triterpenoid. Aktivitas penghambatan DPP-4 fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dalam nilai IC₅₀ berturut-turut yaitu 5,19; 1,36; dan 2,51 mg/mL. Fraksi etil asetat buah api-api putih memiliki aktivitas penghambatan DPP-4 terbaik, sehingga dapat menjadi sumber antidiabetik alami.

Kata kunci: *Avicennia marina*; Diabetes melitus; Inhibitor DPP-4; Metabolit sekunder; Skrining fitokimia

Abstract

*The goal of pharmacological treatment for diabetes is to improve insulin sensitivity and increase insulin availability. By blocking the DPP-4 enzyme, glucagon-like peptide 1 (GLP-1)-based therapy currently seeks to regulate blood sugar. Although white mangrove (*Avicennia marina*) is a common mangrove plant in Indonesia, people still use it sparingly, especially for medicinal purposes. This study aims to identify the secondary metabolite content in the white*

*mangrove fruit extracts and fractions and determine their dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity. Extraction was performed by maceration in 96% ethanol, followed by fractionation using the liquid-liquid method to obtain n-hexane, ethyl acetate, and water fractions. Phytochemical screening was conducted using color tests and thin-layer chromatography (TLC). The DPP-IV enzyme inhibition activity was performed using the fluorescence method with the fluorogenic substrate Gly-Pro-aminomethyl-coumarin (AMC). The yield of the extraction of white mangrove fruit (*Avicennia marina*) was 48.06%, while the fractionation of the extract produced an aqueous fraction with the highest yield (31.54%). The results of phytochemical screening and TLC show that the ethanol extract and ethyl acetate fraction of the white mangrove fruit contain flavonoids, triterpenoids/steroids, tannins, and saponins. The aqueous fraction was detected to contain flavonoids, tannins, and terpenoids, while the n-hexane fraction only contained flavonoids and triterpenoids. The DPP-4 inhibition activity of the n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction with IC₅₀ values of 5.19; 1.36; and 2.51 mg/mL, respectively. The ethyl acetate fraction of the white mangrove fruit has the best DPP-4 inhibitory activity, making it a potential source of natural antidiabetic agents.*

Keywords: *Avicennia marina*; Diabetes mellitus; DPP-4 inhibitors; Phytochemical screening; Secondary metabolites

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolisme kronis yang ditandai dengan hiperglikemia karena produksi insulin yang tidak mencukupi atau resistensi insulin (Yan *et al.*, 2021). Penanganan DM harus dilakukan secara maksimal mengingat penyakit ini memiliki komplikasi yang serius apabila tidak ditangani dengan baik. Komplikasi seperti neuropati, nefropati, retinopati, penyakit kardiovaskuler, stroke, sindrom kaki diabetik bahkan kematian bisa saja terjadi jika kadar gula darah tidak terkontrol. Oleh karena itu menemukan pengobatan yang tepat dapat membantu mengatasi masalah ini.

Saat ini sudah banyak obat antidiabetes sintetik yang beredar di pasaran dimana penggunaan obat anti diabetes bertujuan untuk mengendalikan kadar gula darah dan mencegah komplikasi penyakit ini. Namun, sebagian besar obat-obatan tersebut memiliki efek samping yang mungkin muncul akibat penggunaan jangka panjang antara lain masalah pencernaan, hipoglikemia, serta dampak ke organ-organ vital seperti hati, dan ginjal. Efek samping membuat kepatuhan penderita diabetes terhadap pengobatannya menjadi terganggu (Adiputra, 2023). Oleh karena itu, penelitian tentang pengobatan alternatif DM dari sumber alami, terutama tanaman, telah meningkat pesat dalam beberapa tahun terakhir.

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) merupakan salah satu target terapi baru dalam penatalaksanaan DM tipe 2. Enzim DPP-4 berperan dengan cepat menonaktifkan hormon incretin; glucagon like peptide-1 (GLP-1) dan glukosa dependen insulinotropic polypeptide (GIP) yang berfungsi sebagai stimulator prandial penting sekresi insulin dan pengatur glukosa darah (Deacon, 2020). Penghambatan terhadap DPP-4 meningkatkan kontrol glikemik pada pasien DM tipe 2. Keunggulan dari obat kelompok penghambat DPP-4 antara lain memiliki profil keamanan yang baik, ditandai risiko rendah terjadinya hipoglikemia, serta efektivitas dalam menurunkan kadar hemoglobin glikosilasi (HbA_{1c}), termasuk pada pasien dengan

gangguan ginjal kronis (Marín-Peñalver *et al.*, 2016). Namun, harga yang relatif tinggi membatasi penggunaannya sehingga seringkali tidak menjadi pilihan utama dalam terapi. Sebagai alternatif, diperlukan pencarian kandidat golongan penghambat DPP-4 yang berasal dari sumber alam sangat potensial untuk dikembangkan.

Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk digunakan dan dikembangkan sebagai obat adalah tanaman api-api putih (*Avicennia marina*). Secara empiris, masyarakat menggunakan daun dan buah *A. marina* untuk mengobati beberapa jenis penyakit seperti hepatitis, cacar, dan rematik. Penelusuran terhadap senyawa bioaktif *A. marina* telah dilakukan beberapa peneliti dan diketahui bahwa terdapat polifenol, flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, glikosida jantung, saponin, tanin, dan antrakuinon dalam daun serta buah (Vasanthakumar *et al.*, 2019; Fernandes & Noor'an, 2019; Rozirwan *et al.*, 2022). Senyawa-senyawa bioaktif tersebut dianggap bertanggung jawab atas aktivitas farmakologi seperti antibakteri, antijamur, antivirus, antiplasmodial, antitumor, antiulkus, antioksidan, dan antikanker (Sohaib *et al.*, 2022; Yassien *et al.*, 2021; Andriani *et al.*, 2021).

Ekstrak etanol daun *A. marina* juga telah terbukti sebagai agen antidiabetes pada model mencit diabetes yang diinduksi oleh streptozotocin (Okla *et.al*, 2019). Aktivitas antidiabetes ini dikaitkan dengan mekanismenya sebagai antioksidan (Singh, 2021). Kandungan senyawa bioaktif dalam buah *A. marina* yang memiliki kemiripan dengan daun, memungkinkan juga adanya potensi antidiabetes. Aktivitas antidiabetes fraksi buah api-api (*Avicennia marina*) melalui penghambatan DPP-4 sejauh ini belum diketahui dan secara *in vitro* ditetapkan melalui penelitian ini.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah api-api putih, etanol 96%, n-heksan, etil asetat, aquadest, asam sulfanilat (Merck, Jerman), HCl (Merck, Jerman), NaNO₂ (Merck, Jerman), NaOH (Univar, USA), asam asetat, H₂SO₄ (Merck, Jerman), serbuk Mg (Merck, Jerman), amil alkohol, reagen mayer, reagen dragendorff, reagen bucharat, FeCl₃ (Merck, Jerman), NaCl 10%, Gelatin 1%, HCl 2N, asam asetat anhidrat (Univar, USA), metanol, lempeng silica gel 60 F₂₅₄, asam formiat (Merck, Jerman), toluene (Merck, Jerman), kloroform (Merck, Jerman), asam asetat glacial (Merck, Jerman), anisaldehyd asam sulfat, kit DPP-4 *screening assay* (Elabscience®), DMSO (Merck, Jerman).

2.2. Metode

2.2.1. Pengambilan dan pengolahan sampel

Sampel penelitian berupa buah tanaman api-api putih (*Avicennia marina*) yang diambil dari daerah Kaliwungu, Kabupaten Kendal. Tumbuhan terlebih dahulu dilakukan determinasi di Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang. Sampel berupa buah api-api putih (*Avicennia marina*) dikeringkan kemudian dihaluskan.

2.2.2. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode remaserasi. Serbuk buah api-api putih sebanyak 500 gram direndam dalam etanol 96% dengan perbandingan 1:10 (b/v) selama 3×24 jam, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Filtrat hasil maserasi dikumpulkan, disaring, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan dengan *waterbath* hingga diperoleh ekstrak dengan konsistensi yang sesuai (ekstrak kental).

2.2.3. Fraksinasi

Fraksinasi ekstrak dilakukan dengan metode cair-cair bertingkat menggunakan pelarut dengan kepolaran berbeda, yaitu n-heksana, etil asetat, dan air. Sebanyak 10 gram ekstrak etanol ditambahkan dengan aquadest 50 ml dengan perbandingan 1:5 (b/v), diaduk kemudian ditambahkan dengan pelarut n-heksana (1:1, b/v), dikocok perlahan menggunakan corong pisah hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan air dan lapisan n-heksan. Selanjutnya lapisan n-heksan dipisahkan untuk dipekatkan sehingga diperoleh fraksi n-heksana (FNH). Fase air kemudian difraksinasi dengan etil asetat (1:1, b/v) dan dikocok perlahan menggunakan corong pisah. Setelah terjadi pemisahan lapisan etil asetat dipisahkan dan dipekatkan sehingga diperoleh fraksi etil asetat (FEA) sedangkan lapisan air dikentalkan dengan *waterbath* sehingga diperoleh fraksi air (FA).

2.2.4. Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan uji warna dan KLT untuk metabolit sekunder flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

2.2.4.1. Uji flavonoid

Ekstrak atau fraksi teruji sebanyak 1 mL ditambahkan 3 mL etanol 70%, dan dikocok, selanjutnya dipanaskan dalam penangas air dan disaring. Filtrat hasil penyaringan ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,1 gram serta 2 tetes HCl pekat dan amil alkohol. Uji positif flavonoid ditandai dengan adanya warna merah, kuning hingga jingga pada lapisan amil alkohol (Supomo *et.al.*, 2019)

2.2.4.2. Uji alkaloid

Ekstrak atau fraksi sebanyak 0,5 gram ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit. Sampel didinginkan dan disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian alkaloida. Selanjutnya, ke dalam 3 tabung reaksi masing-masing dimasukkan 0,5 ml filtrat. Pada setiap tabung ditambahkan dua tetes pereaksi meliputi pereaksi *mayer*, *dragendorff*, dan *bouchardat*. Hasil positif senyawa alkaloid pada pereaksi *mayer* adalah terbentuknya endapan putih hingga kekuningan. Pada pereaksi *dragendorff*, senyawa alkaloid positif dengan terbentuknya endapan merah bata. Sementara itu, untuk uji dengan peraksi *bauchardat* positif ditandai terbentuknya endapan coklat (Fernandes dan Noor'an, 2019).

2.2.4.3. Uji tanin

Ekstrak atau fraksi teruji ditimbang sebanyak 0,5 gram, larutkan dalam aquadest hingga tidak berwarna, selanjutnya ambil filtrat sebanyak 2 mL dan ditetesi pereaksi FeCl_3 sebanyak 1-2 tetes. Hasil positif ditandai dengan warna hijau, biru dan hitam (Widiawati dan Asih, 2024).

2.2.4.4. Uji saponin

Ekstrak dan fraksi buah api-api putih ditambahkan 10 mL air panas kemudian didinginkan dan dikocok hingga muncul buih. Larutan didiamkan selama 2 menit, kemudian ditetaskan HCl 2 N. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih stabil selama 10 menit (Fernandes dan Noor'an, 2019).

2.2.4.5. Uji triterpenoid/ steroid

Ekstrak dan fraksi buah api-api putih ditambahkan dengan asam asetat anhidrid sebanyak 10 tetes dan H_2SO_4 pekat sebanyak 2 tetes. Larutan dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Jika menghasilkan warna hijau dan biru maka mengandung steroid, sedangkan jika menghasilkan warna merah dan ungu maka mengandung triterpenoid (Fernandes dan Noor'an, 2019).

2.2.4.6. Uji kromatografi lapis tipis

Pengujian KLT menggunakan fase diam Silika G60 F₂₅₄. Plat KLT dibuat dengan panjang 10 cm dan lebar 3 cm. Ekstrak dan fraksi buah api-api putih dilarutkan dengan pelarutnya ditotolkan pada plat, dielusi dengan fase gerak yang disesuaikan senyawa teruji.

2.2.5. Uji aktivitas penghambatan enzim Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4)

Kit skrining inhibitor DPP-4 (Elabscience) digunakan untuk mengevaluasi aktivitas penghambatan DPP-4 dari sampel uji berdasarkan metode uji fluoresensi. Sampel (10 μL) dengan konsentrasi berbeda dalam DMSO masing-masing dipipet ke dalam *96-microwell plate* diikuti dengan penambahan buffer uji yang diencerkan (30 μL), larutan enzim DPP-4 rekombinan tikus yang diencerkan (10 μL), dan substrat fluorogenic Gly-Pro-aminomethyl-coumarin (AMC) yang diencerkan (50 μL). Pada sumur kontrol negatif dan positif, sampel masing-masing diganti dengan pelarut dan standar sitagliptin. *Microwell plate* dikocok dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, fluoresensi gugus AMC bebas yang dihasilkan dari reaksi diamati pada rentang panjang gelombang eksitasi 350–360 nm dan rentang panjang gelombang emisi 450–465 nm menggunakan *microplate reader*. Persentase penghambatan dihitung menggunakan Persamaan 1.

$$\text{Persentase inhibisi (\%)} = \left[\frac{(\text{OD}_{\text{kontrol}} - \text{OD}_{\text{sampel}})}{(\text{OD}_{\text{kontrol}})} \right] \times 100$$

Persamaan 1. Rumus perhitungan persentase penghambatan enzim inhibitor Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Keterangan: $\text{OD}_{\text{kontrol}}$ adalah absorbansi kontrol negatif dan $\text{OD}_{\text{sampel}}$ adalah absorbansi sampel.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi tanaman

Hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang menunjukkan bahwa tanaman yang akan digunakan adalah benar Api-api (*Avicennia marina*) berdasarkan surat keterangan identifikasi No 051/EL-AFM/VIII/2024.

3.2. Ekstraksi dan fraksinasi buah api-api

Proses ekstraksi buah api-api dilakukan melalui metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol dipilih sebagai pelarut dengan pertimbangan keamanan karena tidak berpotensi toksik (Azis *et al.*, 2014). Metode maserasi dipilih dengan pertimbangan untuk menghindari kerusakan terutama untuk senyawa-senyawa yang *thermolabile* khususnya senyawa golongan flavonoid yang dalam hal ini diduga memiliki potensi dalam aktivitas antidiabetes. Pengulangan maserasi juga dilakukan untuk memaksimalkan penarikan senyawa bioaktif dari serbuk simplisia. Maserat yang diperoleh dilakukan penguapan pelarut secara vakum menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

Ekstrak kental buah api-api difraksinasi dengan metode cair-cair. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda. Pelarut yang digunakan adalah n-heksan (non polar), etil asetat (semi polar), dan air (polar). Persentase rendemen ekstrak dan fraksi yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan hasil rendemen fraksi, kemungkinan senyawa bioaktif yang terkandung dalam buah api-api putih cenderung bersifat polar. Hal ini disimpulkan dari besarnya rendemen untuk fraksi air. Namun penelitian oleh Fernandes & Noor'an (2019) justru menemukan hasil berbeda, dimana senyawa bioaktif dengan persentase terbesar dalam pemeriksaan kuantitatif menggunakan GC-MS adalah γ -sitosterol. Senyawa γ -sitosterol merupakan fitosterol dengan sifat semi polar yang berdasar studi *in silico* sangat berpotensi sebagai antidiabetes (Balamurugan *et al.*, 2015).

Tabel 1. Rendemen ekstrak dan fraksi buah api-api (*Avicennia marina*)

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak etanol	48,06
Fraksi n-Heksan	0,55
Fraksi etil asetat	10,71
Fraksi air	31,54

3.3. Skrining fitokimia ekstrak dan fraksi buah api-api

Skrining fitokimia ekstrak etanol dan fraksi *A. marina* dilakukan melalui uji warna dan dikonfirmasi dengan melakukan kromatografi lapis tipis (KLT). Pengujian meliputi uji keberadaan flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, dan terpenoid atau steroid.

3.3.1. Uji warna

Skrining fitokimia dengan uji warna sebagai pengetahuan awal secara kualitatif mengenai kandungan senyawa bioaktif pada buah api-api putih. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dan

fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid (Tabel 2). Fraksi air terdeteksi mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid, sedangkan untuk fraksi n-heksan hanya terdapat flavonoid dan triterpenoid.

Penelitian terdahulu, menunjukkan hasil yang berbeda dengan tidak terdeteksinya tannin dan saponin pada ekstrak etanol buah api-api putih yang diperoleh dari Hutan Penelitian dan Pendidikan Muara Kaeli. Hal itu kemungkinan karena perbedaan tempat tumbuh. Selain itu, hasil ekstraksi senyawa fitokimia juga dapat dipengaruhi oleh faktor yang bersumber dari sampel maupun dari proses ekstraksi. Bagian tanaman, asal tanaman, ukuran partikel, cara pengeringan dan kadar air merupakan beberapa faktor dari sampel. Faktor ekstraksi meliputi jenis pelarut, cara ekstraksi, komposisi pelarut, suhu dan durasi ekstraksi (Shaikh & Patil, 2020).

Hasil rendemen dari fraksinasi menggunakan n-heksana paling kecil karena jika dilihat dari tingkat kepolaran termasuk pelarut non polar. Oleh karena itu n-heksan hanya mengekstrak senyawa dengan kepolaran yang rendah. Secara umum, flavonoid lebih larut dalam pelarut polar, tetapi beberapa flavonoid glikosida seperti isoflavon, flavanon, flavon, dan flavonol memiliki afinitas terhadap pelarut non-polar (Rodríguez *et al.*, 2020). Terpenoid dapat terekstrak dengan pelarut non-polar atau polar (Mierza *et al.*, 2023) dan ini terbukti bahwa baik pada fraksi n-heksan, etil asetat maupun fraksi air terdeteksi keberadaan terpenoid.

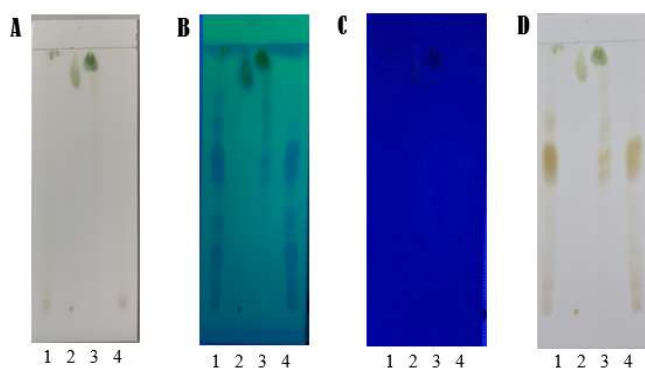
Tabel 2. Hasil uji kualitatif warna ekstrak dan fraksi buah api-api (*Avicennia marina*). Keterangan: (+) terdeteksi senyawa dan (-) tidak terdeteksi senyawa.

Kandungan Senyawa	Ekstrak Etanol 96%	Fraksi n-Heksan	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Flavonoid	(+)	(+)	(+)	(+)
Alkaloid	(-)	(-)	(-)	(-)
Tanin	(+)	(-)	(+)	(+)
Saponin	(+)	(-)	(+)	(-)
Terpenoid	(+)	(+)	(+)	(+)

3.3.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

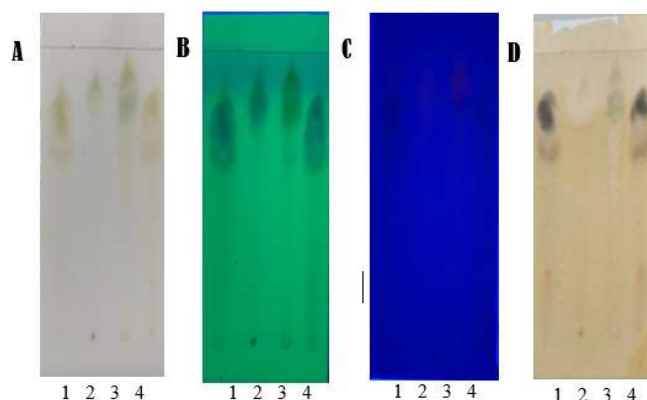
Pengujian KLT dilakukan untuk mengonfirmasi hasil uji warna dengan pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran. Metode KLT merupakan metode pemisahan senyawa dengan menggunakan 2 fase berbeda yaitu fase diam dan fase gerak. Silika gel G60 F₂₅₄ adalah fase diam yang digunakan sedangkan fase gerak merupakan campuran dari 2 atau lebih larutan dengan tingkat kepolaran berbeda. Fase gerak berbeda disesuaikan dengan senyawa yang sedang dipisahkan.

Pada pengujian keberadaan flavonoid, hasil pengamatan memperlihatkan adanya noda berwarna kuning kehijauan setelah diuapi dengan ammonia. Uap ammonia yang bereaksi dengan gugus hidroksi fenolik pada flavonoid akan membentuk garam dan senyawa kinoid yang berwarna kuning kehijauan. Noda tersebut merupakan tanda positif untuk keberadaan flavonoid. Noda kuning kehijauan terlihat pada ekstrak maupun ketiga fraksi (Gambar 1). Flavonoid merupakan golongan fenol dengan sifat kepolaran yang bervariasi mulai dari polar (glikosida flavonoid), semi polar (aglikon flavonoid), dan non polar (isoflavon). Sifat kepolaran itulah yang menjelaskan terdeteksinya flavonoid baik pada ekstrak maupun ketiga fraksi.



Gambar 1. Profil KLT ekstrak dan fraksi buah api-api putih pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat : asam formiat : air (8:1:1). Keterangan: sinar tampak (A), sinar UV 254 nm (B), UV 366 nm (C), sinar tampak dengan uap ammonia (D), ekstrak etanol 96% (1), Fraksi n-heksan (2), Fraksi etil asetat (3), Fraksi air (4).

Uji KLT untuk senyawa alkaloid dilakukan dengan fase gerak etil asetat, metanol, dan air dengan perbandingan 9:2:2 dan penampakan noda setelah disemprot dengan pereaksi *dragendorff*. Pengamatan lempeng di bawah lampu UV 254 maupun 366 nm tidak memperlihatkan keberadaan alkaloid (tidak berfluoresensi biru). Hasil KLT ini menegaskan hasil uji warna (dengan pereaksi *dragendorff*, *meyer*, maupun *bouchardat*) yaitu bahwa pada ekstrak dan fraksi buah api-api tidak terkandung alkaloid.

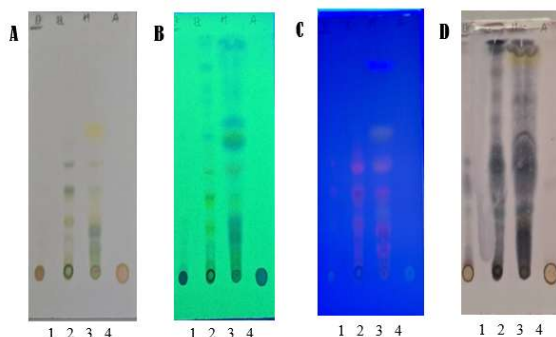


Gambar 2. Profil KLT ekstrak dan fraksi buah api-api putih pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak metanol dan etil asetat (7:3). Keterangan: sinar tampak (A), sinar UV 254 nm (B), UV 366 nm (C), sinar tampak setelah disemprot FeCl₃ (D), Ekstrak etanol 96% (1), Fraksi n-heksan (2), Fraksi etil asetat (3), Fraksi air (4).

Kandungan tanin dalam ekstrak dan fraksi buah api-api putih ditegaskan keberadaannya dengan fase gerak metanol dan etil asetat (7:3). Setelah proses elusi serta penyemprotan dengan penampak bercak FeCl₃ terdapat noda bercak berwarna hitam pada sinar tampak seperti terlihat pada Gambar 2. Ion Fe³⁺ dari FeCl₃ akan bereaksi dengan tanin membentuk kompleks kalium trisianoferik Feri (III) yang berwarna hijau-hitam (Putria *et al.*, 2022). Hasil menunjukkan

bahwa ekstrak etanol dan ketiga fraksi mengandung tanin. Gugus OH pada tanin membuat tanin bersifat polar yang memungkinkan tanin dapat larut dalam pelarut polar (air) maupun semi polar (etil asetat). Tanin juga dimungkinkan larut pada pelarut non polar sebagai senyawa tanin terhidrolisis (Iriany *et al.*, 2021), sehingga pada hasil KLT fraksi n-heksan terdeteksi adanya senyawa ini.

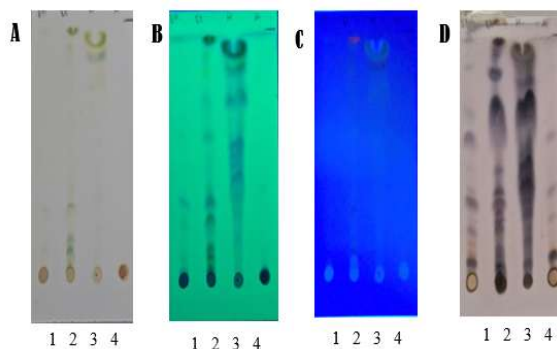
Uji KLT untuk senyawa saponin dalam ekstrak dan fraksi dilakukan menggunakan fase gerak kloroform: asam asetat glasial: metanol: air (64:32:12:8). Penyemprotan dengan penampak bercak anisaldehyd-asam sulfat memunculkan noda bercak berwarna biru keunguan pada sinar tampak. Anisaldehyd mendestruksi gugus fungsional tertentu pada struktur saponin yang ditandai dengan bercak warna biru keunguan (Dewi *et al.*, 2018). Saponin adalah suatu glikosida yang memiliki dua tipe struktur kimia dasar dari suatu aglikon (sapogenin). Secara umum saponin akan larut dalam pelarut polar maupun semi polar, dan dalam bentuk terhidrolisis (aglikon) akan terlarut dalam pelarut non polar. Hasil KLT menunjukkan bahwa saponin terdeteksi pada fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat (Gambar 3).



Gambar 3. Profil KLT ekstrak dan fraksi buah api-api putih pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform : asam asetat glasial : methanol : air (64:32:12:8). Keterangan: sinar tampak (A), sinar UV 254 nm (B), UV 366 nm (C), sinar tampak setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat (D). Ekstrak etanol 96% (1), Fraksi n-heksan (2), Fraksi etil asetat (3), Fraksi air (4).

Modifikasi fase gerak untuk pengembangan ekstrak pada pengujian triterpenoid/ steroid telah dilakukan dan diperoleh kombinasi n-heksan : etil asetat (7:3) sebagai fase gerak yang paling optimal dalam memisahkan senyawa. Noda warna biru jika diamati di bawah sinar UV 366, dan berwarna merah ungu-ungu (pada sinar tampak) setelah disemprot pereaksi anisaldehyd menandakan hasil positif untuk triterpenoid/ steroid (Khairani & Indriani, 2024). Noda warna ungu merupakan hasil reaksi kondensasi atau oksidasi antara anisaldehyd dengan gugus fungsional terpenoid (Hasil positif mengandung terpenoid ditunjukkan pada ekstrak dan ketiga fraksi seperti dapat dilihat pada Gambar 4. Ini mempertegas hasil uji warna yang juga memperlihatkan adanya kandungan senyawa triterpenoid/steroid. Terpenoid merupakan unit isoprene (C₅H₈) yang cenderung bersifat non polar maupun semi polar. Namun, beberapa terpenoid juga bersifat polar ketika terikat gula sebagai glikosida (Jiang *et al.*, 2016). Hal-hal tersebut yang menjelaskan terdeteksinya terpenoid pada ekstrak dan fraksi buah api-api.

Api-api (*Avicennia marina*), sebagai salah satu spesies dari genus *Avicennia*, telah banyak didokumentasikan mengandung berbagai metabolit unik dari beragam kelas kimia. Metabolit-metabolit ini diduga berperan dalam aktivitas farmakologisnya. Golongan flavonoid dan terpenoid merupakan senyawa yang paling sering ditemukan dalam tanaman dari genus *Avicennia* (Thatoi *et al.*, 2016). Pemeriksaan menggunakan GC-MS memperlihatkan bahwa persentase γ -sitosterol, ditemukan paling besar pada ekstrak etanol buah api-api putih (Fernandez & Noor'an, 2019). Studi *docking (in silico)* menunjukkan bahwa γ -sitosterol menjadi kandidat potensial untuk dikembangkan menjadi agen hipolipidemik yang efektif. Selain itu, review terkait aktivitas senyawa bioaktif tanaman telah mencatat bahwa triterpenoid/steroid juga terbukti berpotensi sebagai antihiperglikemia melalui studi *in vitro* maupun *in silico* (Shaikh, 2021), salah satunya melalui mekanisme penghambatan enzim *Dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4).



Gambar 4. Profil KLT ekstrak dan fraksi buah api-api putih pada fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan : etil asetat (7:3). Keterangan: sinar tampak (A), sinar UV 254 nm (B), UV 366 nm (C), sinar tampak setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat (D). Ekstrak etanol 96% (1), Fraksi n-heksan (2), Fraksi etil asetat (3), Fraksi air (4).

3.2.3. Uji aktivitas penghambatan enzim DPP-4

Efek penghambatan enzim DPP-4 oleh masing-masing fraksi buah api-api dianalisis berdasarkan nilai IC₅₀, dengan sitagliptin sebagai kontrol positif. Hasil pengujian ditampilkan pada Tabel 3. Fraksi etil asetat menunjukkan kekuatan penghambatan tertinggi terhadap enzim DPP-4, sedangkan potensi penghambatan terendah dapat diamati pada fraksi n-heksana. Berdasarkan nilai IC₅₀, fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan tertinggi terhadap enzim DPP-4, diikuti oleh fraksi air, dan yang terendah adalah fraksi n-heksana. Hasil skrining fitokimia dalam fraksi etil asetat menunjukkan keberadaan flavonoid, steroid, tanin, dan saponin. Senyawa-senyawa bioaktif tersebut diduga bertanggungjawab memberikan aktivitas penghambatan DPP-4.

Hasil dalam penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah ada bahwa senyawa semi polar memiliki potensi lebih besar dalam aktivitas penghambatan DPP4 (Quek *et al.*, 2021; Purnomo, 2015). Senyawa-senyawa steroid dalam tanaman (fitosterol) seperti stigmasterol, β maupun γ -sitosterol adalah golongan senyawa yang lebih banyak terekstraksi dalam pelarut

semi polar. Berdasar studi *in silico* diketahui fitosterol dapat mengikat protein target DPP4. Aktivitas penghambatan DPP-4 fitosterol dinyatakan kuat karena mempunyai energi bebas pengikatan rendah, meskipun sejauh ini secara *in vitro* pendapat tersebut tidak terbukti (Gupta *et al.*, 2020).

Tabel 3. Aktivitas penghambatan DPP-4 fraksi-fraksi buah api-api (*A. Marina*) .

Sampel teruji	IC ₅₀ (mg/mL)
Fraksi n-heksan	5,19
Fraksi etil asetat	1,36
Fraksi air	2,51
Sitagliptin	0,07

Golongan senyawa lain yang juga dianggap bertanggungjawab memberikan aktivitas penghambatan DPP-4 adalah flavonoid (Yaribeygi *et al.*, 2018). Sebagai golongan senyawa yang cukup besar dalam tanaman, terdapat bermacam flavonoid dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Jenis pelarut semi polar memungkinkan banyak senyawa flavonoid akan terekstraksi di dalamnya. Aktivitas penghambatan flavonoid terhadap enzim DPP-4 melalui mekanisme pengikatan secara langsung terhadap situs aktif enzim, menghambat pembelahan inkretin (GLP-1) sehingga mengakibatkan peningkatan sekresi insulin dan menurunkan kadar glukosa darah (Fan *et al.*, 2013; Pan *et al.*, 2022).

Penelitian ini telah mengeksplorasi potensi antidiabetik melalui penghambatan aktivitas DPP-4 fraksi-fraksi dari ekstrak etanol buah api-api. Penghambatan aktivitas DPP-4 akan meningkatkan waktu paruh hormon incretin, yang berkontribusi terhadap pengendalian kadar glukosa dalam darah untuk DM tipe 2 dengan merangsang pelepasan insulin, penghambatan glukagon, proliferasi sel β , menurunkan laju pengosongan lambung, dan menginduksi rasa kenyang. DPP-4 terlibat dalam inaktivasi GLP-1 sebagai peptida insulinotropik yang kuat (Rameshrad, 2020). Penghambatan aktivitas DPP-4 dapat menjadi metode yang efektif untuk pengobatan DM tipe 2 dengan meningkatkan sekresi insulin. Namun pengujian terhadap ekstrak dan fraksi buah api-api ini masih sebatas *in vitro*, sehingga perlu dilakukan pengujian *in vivo*. Hal itu terkait dengan adanya pengaruh farmakodinamika dan farmakokinetika suatu senyawa bioaktif di dalam tubuh terhadap efek farmakologi yang dihasilkan. Penelitian lanjutan diperlukan untuk menguji efektivitas fraksi etil asetat dari buah api-api putih sebagai agen antidiabetik melalui uji *in vivo*.

4. KESIMPULAN

Ekstraksi buah api-api (*Avicennia marina*) menggunakan pelarut etanol 96% menghasilkan rendemen sebesar 48,06% dan fraksinasi terhadap ekstrak menunjukkan rendemen tertinggi pada fraksi air sebesar 31,54%. Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah api-api mengandung flavonoid, triterpenoid/steroid, tanin, dan saponin. Fraksi air teridentifikasi mengandung flavonoid, tanin, dan terpenoid, sementara fraksi n-heksan hanya terdapat flavonoid dan triterpenoid. Di antara ketiga fraksi, fraksi etil asetat

menunjukkan aktivitas penghambatan DPP-4 tertinggi dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,36 mg/mL sehingga berpotensi dikembangkan sebagai kandidat penghambat inhibitor DPP-4 alami untuk terapi diabetes melitus tipe 2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat yang telah memberikan dana hibah penelitian yang memungkinkan tim peneliti untuk dapat melakukan penelitian ini.

DEKLARASI KONFLIK KEPENTINGAN

Semua penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan terhadap naskah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiputra, R. (2023) Efek Samping Penggunaan Obat Anti Diabetes Jangka Panjang : Sebuah Meta Analisis. *J. Kesehat. Tambusai*, vol. 4, no. 3, pp. 3951–3959
- Andriani, S., Widiastuti, E. L., Nurcahyani, N., Rosa, E., and Busman, H. (2021) “Cytotoxic activity of methanol extraction of *Avicennia marina* and taurin in the HeLa cancer cells,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1751, no. 1, <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1751/1/012045>
- Balamurugan, R., Stalin, A., Aravinthan, A. (2015) γ -sitosterol a potent hypolipidemic agent: In silico docking analysis. *Med Chem Res* 24: 124–130. <https://doi.org/10.1007/s00044-014-1075-0>
- Deacon, C.F. (2020) Dipeptidyl peptidase 4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol* 16, 642–653. <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0399-8>
- Dewi, N. L. A., Adnyani, L. P. S., Pratama, R. B. R., Yanti, N. N. D., Manibuy, J. I., Warditiani N. K. (2018) Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Jurnal Farmasi Udayana*, Vol 7, No 2: 68-76
- Fan, J., Johnson, M. H., Lila, M. A., Yousef, G., & de Mejia, E. G. (2013). Berry and Citrus Phenolic Compounds Inhibit Dipeptidyl Peptidase IV: Implications in Diabetes Management. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2013, 479505. <https://doi.org/10.1155/2013/479505>
- Fernandes, A. dan Noor'an, R.F. 2019. Uji Fitokimia Dan Gc-Ms Buah Api-Api (*Avicennia marina* (FORSSK.) VIERH). *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2: 261–270. DOI: [10.36387/jifi.v2i2.321](https://doi.org/10.36387/jifi.v2i2.321)
- Gupta, A., Narkowicz, C. K., Al-Aubaidy, H. A., Jelinek, H. F., Nichols, D. S., Burgess, J. R., & Jacobson, G. A. (2020). Phytosterol supplements do not inhibit dipeptidyl peptidase-4. *Diabetes & metabolic syndrome*, 14(5), 1475–1478. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.07.019>
- Iriany, Angkasa, H., Namira, C.A. (2021) Ekstraksi Tanin dari Buah Balakka (*Phyllanthus emblica* L.) dengan Bantuan Microwave: Pengaruh Daya Microwave, Perbandingan Massa Kering Terhadap Jumlah Pelarut Etil Asetat. *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 10, No. 1: 8-12
- Jiang, Z., Kempinski, C., & Chappell, J. (2016). Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *Current protocols in plant biology*, 1, 345–358. <https://doi.org/10.1002/cppb.20024>
- Khairani, A.C., Indriani, N. (2024) Identifikasi Kandungan Senyawa Fitokimia Minyak Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lam.) *Jurnal Kolaboratif Sains*, Volume 7 No. 12, 4599–4603. DOI: 10.56338/jks.v7i12.6335

- Mierza, V., Antolin, S., Ichsani, A., Dwi, N., Sridevi, A., Dwi, S. (2023) Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpenoid. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, Vol 9 No 2: Page 134–141. DOI: [10.33084/jsm.v9i2.5681](https://doi.org/10.33084/jsm.v9i2.5681)
- Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., & Del Cañizo-Gómez, F. J. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes*, 7(17), 354–395. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>
- Okla, M. K., Alamri, S. A., Alatar, A. A., Hegazy, A. K., Al-Ghamdi, A. A., Ajarem, J. S., Faisal, M., Abdel-Salam, E. M., Ali, H. M., Salem, M. Z. M., & Abdel-Maksoud, M. A. (2019). Antioxidant, Hypoglycemic, and Neurobehavioral Effects of a Leaf Extract of *Avicennia marina* on Autoimmune Diabetic Mice. *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*, 2019, 1263260. <https://doi.org/10.1155/2019/1263260>
- Pan, J., Zhang, Q., Zhang, C., Yang, W., Liu, H., Lv, Z., Liu, J., & Jiao, Z. (2022). Inhibition of Dipeptidyl Peptidase-4 by Flavonoids: Structure-Activity Relationship, Kinetics and Interaction Mechanism. *Frontiers in nutrition*, 9, 892426. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.892426>
- Purnomo, Y., Soeatmadji, D. W., Sumitro, S. B., Widodo, M. A. (2015) Anti-diabetic potential of Urena lobata leaf extract through inhibition of dipeptidyl peptidase IV activity *Asian Pac J Trop Biomed* Volume 5, Issue 8, 645-649. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.014>
- Putria, D. K., Salsabila, I., Darmawan, S. A. N., Eka Wulan G Pratiwi, E. W. G., Nihan, Y. A. (2022) Identifikasi Tanin pada Tumbuh-tumbuhan di Indonesia. *PharmaCine*, Vol. 3 No.1: 11-24. <https://doi.org/10.35706/pc.v3i1.7238>
- Quek, A., Kassim, N. K., Lim, P. C., Tan, D. C., Mohammad Latif, M. A., Ismail, A., Shaari, K., & Awang, K. (2021). α -Amylase and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory effects of *Melicope latifolia* bark extracts and identification of bioactive constituents using *in vitro* and *in silico* approaches. *Pharmaceutical biology*, 59(1), 964–973. <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1948065>
- Rameshrad, M., Razavi, B. M., Lalau, J. D., De Broe, M. E., & Hosseinzadeh, H. (2020). An overview of glucagon-like peptide-1 receptor agonists for the treatment of metabolic syndrome: A drug repositioning. *Iranian journal of basic medical sciences*, 23(5), 556–568. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.41638.9832>
- Rodríguez De Luna, S. L., Ramírez-Garza, R. E., & Serna Saldivar, S. O. (2020). Environmentally Friendly Methods for Flavonoid Extraction from Plant Material: Impact of Their Operating Conditions on Yield and Antioxidant Properties. *TheScientificWorldJournal*, 2020, 6792069. <https://doi.org/10.1155/2020/6792069>
- Rozirwan, Nugroho, R.Y., Hendri, M.I., Fauziyah, Putri, W.A., & Agussalim, A. (2022). Phytochemical profile and toxicity of extracts from the leaf of *Avicennia marina* (Forssk.) Vierh. collected in mangrove areas affected by port activities. *South African Journal of Botany*. Vol 150, 903-919. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.08.037>
- Shaikh, J. R., & Patil, M. (2020). Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview. *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), 603–608. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>
- Shaikh, S., Lee, E. J., Ahmad, K., Ahmad, S. S., Lim, J. H., & Choi, I. (2021). A Comprehensive Review and Perspective on Natural Sources as Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors for Management of Diabetes. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(6), 591. <https://doi.org/10.3390/ph14060591>
- Singh, A. K., Yadav, D., Sharma, N., & Jin, J. O. (2021). Dipeptidyl Peptidase (DPP)-IV Inhibitors with Antioxidant Potential Isolated from Natural Sources: A Novel Approach

- for the Management of Diabetes. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(6), 586. <https://doi.org/10.3390/ph14060586>
- Sohaib, M., Al-Barakah, F. N. I., Migdadi, H. M., & Husain, F. M. (2022). Comparative study among *Avicennia marina*, *Phragmites australis*, and *Moringa oleifera* based ethanolic-extracts for their antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities. *Saudi journal of biological sciences*, 29(1), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.062>
- Supomo, Warnida, H., Sahid (2019). Perbandingan Metode Ekstraksi Ekstrak Umbi Bawang Rambut (*Allium Chinense* G.Don.) Menggunakan Pelarut Etanol 70% Terhadap Rendemen Dan Skrining Fitokimia. *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia*, 1(1):30-40. DOI: [10.33759/jrki.v1i1.15](https://doi.org/10.33759/jrki.v1i1.15)
- Thatoi, H., Samantaray, D., & Das, S. K. (2016). The genus *Avicennia*, a pioneer group of dominant mangrove plant species with potential medicinal values: a review. *Frontiers in Life Science*, 9(4), 267–291. <https://doi.org/10.1080/21553769.2016.1235619>
- Vasanthakumar, S., Dineshkumar, G., & Jayaseelan, K. (2019). Phytochemical Screening, GC-MS Analysis and Antibacterial Evaluation of Ethanolic Leaves Extract of *Avicennia marina*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. DOI: [10.22270/jddt.v9i4-A.3431](https://doi.org/10.22270/jddt.v9i4-A.3431)
- Widiawati, Asih, E. N. A. (2024). Potensi skrining fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak daun *Avicennia marina* dan *Avicennia alba* dari Selat Madura. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(5), 393-406. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i5.52421>
- Yan, L. S., Cheng, B. C., Zhang, S. F., Luo, G., Zhang, C., Wang, Q. G., Fu, X. Q., Wang, Y. W., & Zhang, Y. (2021). Tibetan Medicine for Diabetes Mellitus: Overview of Pharmacological Perspectives. *Frontiers in pharmacology*, 12, 748500. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.748500>
- Yassien, E. E., Hamed, M. M., Abdelmohsen, U. R., Hassan, H. M., & Gazwi, H. S. S. (2021). In vitro antioxidant, antibacterial, and antihyperlipidemic potential of ethanolic *Avicennia marina* leaves extract supported by metabolic profiling. *Environmental science and pollution research international*, 28(21), 27207–27217. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12496-7>
- Yaribeygi, H., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2019). Natural compounds with DPP-4 inhibitory effects: Implications for the treatment of diabetes. *Journal of cellular biochemistry*, 120(7), 10909–10913. <https://doi.org/10.1002/jcb.28467>