ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *CORONAVIRUS DISEASE* 2019 (COVID-19) SECARA *IN SILICO*

(Skripsi)

Oleh

USWATUN KHASANAH
NPM 1617011057

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *CORONAVIRUS DISEASE* 2019 (COVID-19) SECARA *IN SILICO*

Oleh

Uswatun Khasanah

Tumbuhan *Peronema canescens* Jack (*P. canescens*) merupakan salah satu spesies dari famili Verbenaceae yang dikenal dengan nama sungkai. Tumbuhan sungkai merupakan salah satu tanaman obat tradisional Indonesia yang dikenal karena daunnya dapat digunakan sebagai antibakteri, antimalaria, dan antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun sungkai serta kajian potensi antivirus COVID-19 senyawa hasil isolasi secara *in silico*.

Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pengambilan sampel dan persiapan sampel, ekstraksi menggunakan metode maserasi dan partisi cair-cair, serta proses pemisahan dan pemurnian dengan menggunakan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom. Senyawa yang berhasil diisolasi berupa kristal putih (NV20) dan kristal kuning pucat (NV21) masing-masing sebanyak 20,3 mg dan 4,0 mg. Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi dilakukan dengan menggunakan spektroskopi ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, dan NMR 2D meliputi HMBC dan HMQC. Berdasarkan analisis data spektroskopi, senyawa NV21 merupakan senyawa baru golongan flavonoid jenis flavonon yang memiliki rumus molekul $C_{18}H_{16}O_7$ dengan nama struktur 5,2'-dihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon, sedangkan senyawa NV20 belum dapat diperkirakan struktur yang mungkin. Analisis lebih lanjut seperti spektrometri massa diperlukan untuk mengkonfirmasi struktur NV21 secara tepat dan memprediksi kemungkinan struktur NV20.

Kajian doking dilakukan pada senyawa NV21 sebagai ligan uji menggunakan *software AutoDock* yaitu *AutoDock* 4 dan *AutoDock vina*. Hasil studi doking menunjukkan bahwa energi ikatan antara senyawa NV21 dengan

protein lebih besar dibandingkan ligan kokristal yaitu -6,84 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi sebesar 12,64 µM. Sedangkan hasil doking menggunakan *AutoDock vina* diperoleh energi bebas gibbs (ΔG) antara senyawa NV21 dengan protein lebih besar dibandingkan ligan kokristal yaitu -6,66 kkal/mol. Nilai energi ikatan ligan uji bernilai negatif, artinya senyawa juga berhasil membentuk ikatan dengan SARS-CoV-2 Mpro. Sehingga nilai energi ikatan yang diperoleh dari studi doking tersebut menunjukan bahwa ligan uji yang diperoleh dari daun sungkai memiliki potensi sebagai inhibitor enzim SARS-CoV-2 Mpro.

Kata kunci : Daun sungkai, flavonoid, *in silico*, *P. canescens*, SARS-CoV-2 Mpro, virus COVID-19

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLIT COMPOUNDS FROM SUNGKAI LEAF (*Peronema canescens* Jack) AND IN SILICO STUDY OF POTENTIAL ANTIVIRUS OF *CORONAVIRUS DISEASE* 2019 (COVID-19)

By

Uswatun Khasanah

Peronema canescens Jack is a species of the Verbenaceae family which has the local name "sungkai". Sungkai plant is one of the traditional Indonesian medicinal plants that can be used as antibacterial, antimalarial, and anti-inflammatory. This research aims to isolate and identify secondary metabolites from sungkai leaves and to conduct in silico study of its potential antivirus of COVID-19.

This research was carried out through several steps including sample preparation, extraction, fractination, purification, and analysis structure of the compounds. Extraction was done using maceration technique while fractionation and purification were conducted using vacuum liquid chromatography and coloumn chromatography. Two isolated compounds were obtained as white crystal (20,3 mg; code: NV20) and pale yellow crystal (4,0 mg; code: NV21). The structure elucidations of isolated compounds was identified using NMR spectroscopic including 1D NMR such as ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR, along with 2D NMR such as HMBC and HMQC. Based on the analysis of spectroscopic data, the compound NV21 was identified as flavonoid type of flavone with the molecular formula $C_{18}H_{16}O_7$ namely 5,2' dihydroxy-7,8,4'- trimethoxyflavone, while the possible structure of the compound NV20 could not be predicted. Further analysis is needed to confirm the exact structure of NV21 and predict the possible structure of NV20.

Docking study was carried out on NV21 compound as a test ligand using AutoDock software, namely AutoDock 4 and AutoDock vina. The results of the docking study showed that the bond energy between NV21 and protein was higher than the cocrystal ligand, is -6.84 kcal/mol an inhibition constant value of 12.64

μM. While the results with the value of docking study using AutoDock vina obtained Gibbs free energy (ΔG) is -6,66 kcal/mol, which is higher than the cocrystal ligand. The bond energy value of the test ligand was negative, meaning that the compound also succeeded in forming bonds with SARS-CoV-2 Mpro. Therefore the bond energy values obtained from the docking study indicate that the test ligand obtained from sungkai leaves has the potential as an inhibitor of the SARS-CoV-2 Mpro enzyme.

Key words : Sungkai leaves, flavonoid, in silico, *P. canescens*, SARS-CoV-2 Mpro, COVID-19 virus

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *CORONAVIRUS DISEASE* 2019 (COVID-19) SECARA *IN SILICO*

Oleh

USWATUN KHASANAH

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021

Judul Skripsi	:	**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) SERTA STUDI POTENSI ANTIVIRUS *CORONAVIRUS DISEASE* 2019 (COVID-19) SECARA *IN SILICO***
Nama Mahasiswa	:	**Uswatun Khasanah**
Nomor Pokok Mahasiswa	:	**1617011057**
Jurusan	:	**Kimia**
Fakultas	:	**Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 19731119 199802 2 001

Dr. Setyanto Tri Wahyudi, M.Si.
NIP 19760731 200501 1 003

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**

Sekretaris : **Dr. Setyanto Tri Wahyudi, M.Si.**

Penguji
Bukan Pembimbing : **Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.
NIP. 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **15 Oktober 2021**

SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI

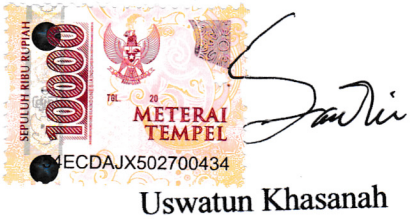
Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Uswatun Khasanah
NPM	: 1617011057
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul **"Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Serta Studi Potensi Antivirus *Coronavirus Disease* 2019 (COVID-19) Secara *In Silico*"** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasill, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 10 November 2021
Yang menyatakan



Uswatun Khasanah
NPM. 1617011057

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Uswatun Khasanah, dilahirkan di Sribusono pada tanggal 23 Agustus 1998, sebagai anak pertama dari 3 bersaudara pasangan bapak M. Yunus dan ibu Mujiati. Penulis menyelesaikan pendidikan formal di TK Bratasena Adiwarna pada tahun 2004, SD N 03 Sribusono dan selesai pada tahun 2010, SMPS TMI Metro dan selesai pada tahun 2013, lalu dilanjutkan dengan 3 tahun pendidikan di SMAS TMI Metro. Pada tahun 2016 penulis diterima di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur undangan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Sejak menempuh pendidikan di SD, penulis telah aktif berorganisasi sebagai ketua regu Praja Muda Karana (PRAMUKA). Memasuki pendidikan di SMP penulis menjadi anggota Organisasi Siswa Intra Sekolah (OSIS), juga masuk sebagai anggota di organisasi Rohani Islam (ROHIS). Memasuki pendidikan di SMA penulis menjadi OSIS. Memasuki dunia perkuliahan penulis menjadi anggota di organisasi Rohani Islam (ROIS) dan kader muda Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) pada tahun 2016. Penulis juga menjadi anggota aktif biro kesekretariatan HIMAKI pada tahun 2017 hingga tahun 2018. Pada periode 2019 penulis terpilih menjadi koordinator *Chemistry English Club* (CEC) Jurusan Kimia. Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di Laboratorium Kimia Bahan Alam Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Serpong pada tahun 2019. Selama menempuh perkuliahan penulis aktif menjadi asisten praktikum di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Pada tahun 2019 penulis menjadi asisten Praktikum Kimia Organik II Jurusan Kimia

FMIPA. Thun 2020 penulis juga menjadi asisten Praktikum Kimia Organik I Jurusan Kimia.

MOTTO

"...Janganlah kamu berduka cita, sesungguhnya Allah selalu bersama kita..."
(Q.S. At-Taubah : 40)

"...Allah tidak membebani seseorang itu melainkan sesuai dengan kesanggupannya..."
(Q.S. Al-Baqarah : 286)

"Maka, nikmat Tuhanmu manakah yang Engkau dustakan?"
(Q.S. Ar-Rahman : 56)

"Semua orang memiliki langkah masing-masing, langkahmu juga istimewa. Jadi jangan terlalu peduli pada orang lain, jalani saja seperti yang kau tuju, karena itu akan mengarah ketempat yang sangat istimewa"
(Christopher Bang)

"*Haters gonna hate, player gonna play, live a life guys, good luck*"
(Mic drop-BTS)

"*I don't wanna be somebody, just wanna be me*"
(Wannabe-ITZY)

"Bahkan hal-hal kecil yang kita dapat, adalah pemberian dari tuhan, jangan berfikir itu semua terasa kurang, itu semua sudah cukup"
(Get cool-Stray Kids)

PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulliah Puji Syukur Atas Kehadirat Allah SWT yang senantiasa mencurahkan rahmat dan hidayah-Nya dalam menjalankan kehidupan ini

Sholawat beriring salam selalu tercurahkan kepada Nabi agung Muhammad SAW yang senantiasa dinanti-nantikan syafa'atnya kelak di hari akhir.

Kupersembahkan sebuah karya kecil ini untuk Ayahanda dan Ibunda Tercinta, yang tiada pernah henti-hentinya selama ini memberikan semangat, do'a, dorongan, nasihat, kasih sayang dan juga pengorbanan yang tak tergantikan hingga aku selalu kuat menjalani setiap rintangan yang ada.

Adik-adikku tercinta.

Rasa hormat dan bakti saya kepada: ***Dr. Noviany, S,Si., M.Si. Dr. Setyanto Tri Wahyudi, M.Si. dan Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Si.***

Teruntuk Bapak dan Ibu guru, dosen yang selama ini telah memberikan banyak ilmu, bimbingan dan pelajaran.

Kepada sahabat-sahabat yang telah memberikan dukungan, bantuan, dan motivasi, serta saling menguatkan satu sama lain

serta

Almamater tercinta

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamin, alhamdulillah alladzi bini'matihi tatimmush-shalihat. Puji syukur atas kehadirat Allah SWT, dengan nikmat-Nya segala amal shalih sempurna dan hanya pertolongan serta kemudahan dari-Nya yang membuat penulis mampu menyelesaikan skripsi ini. Shalawat beriring salam tak lupa penulis haturkan kepada suri tauladan terbaik umat manusia, Rasulullah Muhammad *shallahu 'alaihi wasalam* yang senantiasa diharapkan syafa'atnya kelak di hari akhir.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini, banyak pihak yang telah turut serta membantu penulis. Teriring doa dengan segala kerendahan hati, penulis mengucapkan *Jazakumullah khoiron katsir wa jazakumullah ahsanal jaza'* kepada:

1. Ibunda Mujiati dan Ayahanda M. Yunus tercinta yang telah membesarkan, mendidik, memberi motivasi dan kasih sayang yang sangat tulus, serta do'a, dukungan dan semangat yang tak terhingga kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Terimakasih yang teramat dalam penulis ucapkan atas kerja keras Bapak dan Mamah dalam membiayai sekolah hingga sarjana. Semoga kesehatan, rezeki dan keberkahan selalu dilimpahkan oleh Allah SWT didalam keluarga dan semoga penulis dapat menjadi orang yang sukses dan bermanfaat seperti yang Bapak dan Mamah harapkan, *Aamiin.*
2. Adik-adikku tersayang Lailatul Badriyah dan M. Hatim S., terimakasih telah banyak memberi bantuan, dukungan motivasi, semangat dan rela berkorban untuk penulis hingga penulis dapat menyelesaikan menyelesaikan studi. Semoga kelaik kalian dapat menjadi anak yang berbakti pada orang tua, dapat

mewujudkan impian masing-masing, serta menjadi orang yang sukses dan bermanfaat untuk nusa dan bangsa, *Aamiin*.

3. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku pembimbing akademik sekaligus Pembimbing utama atas kesediaannya, telah banyak memberikan ilmu, bimbingan, motivasi, kritik dan saran dalam proses penyelesaian selama perkuliahan. Semoga SWT membalasnya dengan kebaikan.
4. Dr. Setyanto Tri Wahyudi, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing 2 atas kesediaan dan kesabarannya dalam memberi ilmu, bimbingan, kritik, dan saran salam penyelesaian skripsi ini. Semoga Allah SWT membalasnya dengan kebaikan.
5. Prof. Sutopo Hadi, Ph.D., selaku dosen penguji penelitian skripsi yang telah banyak memberi kritikan, masukan, dan saran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Bapak Mulyono,Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberi ilmu dan bimbingan selama penulis belajar di Jurusan Kimia. Semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak dan Ibu.
8. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas MIPA Universitas Lampung.
9. Ibu Puspa, Prof. Hanafi, dan Bu Teni selaku pembimbing Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Lembaga Ilmu Penelitian Indonesia (LIPI) Serpong yang telah memberi banyak ilmu dan pengetahuan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT membalasnya dengan kebaikan.
10. Keluarga besarku yang telah banyak sekali memberi dukungan bagi penulis untuk dapat menyelesaikan studi.
11. Keluarga seperjuangan “Apaajalah Squad” sahabat spesial Wiwin Agustina, Nadiya Salimah, Violita Panca, Anita Anggrahini, Dea Sagita yang telah memberi banyak kasih sayang, semangat, motivasi serta saling mendukung merangkul satu sama lain. Terimakasih untuk kesolidan, kebersamaan, keceriaan, serta canda tawa yang tercipta selama ini. Terimakasih sudah hadir

dan tetap bertahan. Semoga kalian menjadi orang sukses yang tidak lupa tetap rendah hati dan tetap terjalin silaturahmi. *I love you more.*

12. Keluarga besar "Kimia 16B" dan "Chemistry Fam's" yang telah memberikan canda tawa dan banyak bantuan dalam kesulitan belajar sehingga membuat penulis semangat menyelesaikan studi.
13. *Partner* pejuang S.Si. *Noviany's Research Group* (NRG'16) Habibah Monanisa, Elma Munika, dan Chandra Hardianto, terimakasih atas bantuan, dukungan, serta motivasi untuk penulis selama ini.
14. *Noviany's Research Group* (NRG) kak Arif, kak Hanif, kak Tosa, kak Isnaini, kak Eva, kak Dicky, kak Rizky, kak Santi, kak Ella, kak Ufi, Fajri, Eka serta adik-adik Ditha, Feni, Gadis, Malik, terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya selama ini.
15. Penghuni Lab. Organik FMIPA Unila, mbak Mentari, mbak Rinda, kak Rizky, Novita, Fitri, Isti, Nurvita, Eci, Ika, Caca, Nurhuda, Mae, Alya, Ilham, Irfan, Kadek, Jerem, Upik, Kak Via, Rani, Anan, Rami.
16. Mbak Wiwit, Mbak Liza, Mbak Monic, Pak Mulyadi, Mas nomo, Mbak Umi. Terimakasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis.
17. BTS, SKZ, Treasure, Ateez, TXT, Bigbang, iKON, Winner, yang telah menjadi *mood boosters* penulis dan memberikan banyak motivasi dan cinta kepada penulis dikala penulis mulai kehilangan semangat, serta menemani penulis menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
18. Keluarga besar HIMAKI periode 2019 dan 2018 yang telah memberi banyak pengalaman, canda tawa, pembelajaran dan keseruan mengenal arti dari kekeluargaan
19. Keluarga kosan mbak Di, Adel, Suci, Wahyu, Ulfiatun, Sasma, mbak Lela, Anggun, Mei, mbak Wid, mbak Dora, Rita yang telah memberi canda tawa dan banyak pengalaman hebat, merangkul layak keluarga.
20. *Best Sisters* Rahma, mbak Fah, mbak Am, mbak Reni, Vidia dan Khomsatun yang telah memberi banyak kasih sayang kepada penulis serta mau mendengar dan memberi solusi permasalahan penulis dalam menyelesaikan studi ini. *I love you more.*

21. *Partner* penelitian LIPI mbak Ita, mbak Sifa, mbak Des, Hani, Iis, mbak Uci, mbak Devi, bu Lia, bu Mimin, dan teman-teman Sulawesi: Kokom, Wahyu, Dilla, Mulki, kak Nova, Haris.
22. Teman-teman KKN Tematik desa Banjar Setia (Gamel, Ucok, Isna, bang Chan, Rifni) sebuah pengalaman luar biasa bersama kalian.
23. Fandom "seperbucinan" Army, stay, atiny, teume, VIP, Inseo, ikonic, MOA yang berpartisipasi memberikan konten *bias* dan membuat penulis semangat kembali.
24. Almamater tercinta, Universitas Lampung.
25. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi orang banyak secara umum.

Bandar Lampung, 10 Oktober 2021

Uswatun Khasanah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI ..... **iv**

DAFTAR TABEL ..... **vi**

DAFTAR GAMBAR ..... **vii**

I. PENDAHULUAN **1**

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Tujuan Penelitian 3

1.3. Manfaat Penelitian 3

II. TINJAUAN PUSTAKA **4**

2.1. Verbenaceae 4

2.2. Sungkai (*Peronema canescens* Jack) 4

2.3. Kegunaan dan Efek Farmakologi Tanaman Sungkai 6

2.4. Kandungan Fitokimia dalam Tanaman Sungkai 6

2.5. Senyawa Metabolit Sekunder 7

2.6. Senyawa Metabolit Sekunder dari *P. canencens* 9

2.7. Metode Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder 10

2.7.1. Isolasi 10

2.7.2. Ekstraksi 10

2.7.3. Kromatografi 12

2.8. Analisis Kemurnian 16

2.9. Karakterisasi Senyawa Secara Spektroskopi 17

2.9.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI) 17

2.10. *Coronavirus disease* 2019 (COVID-19) 19

2.11. Antivirus 22

2.12. Studi *In Silico* (*Molecular Docking*) 23

III. METODE PENELITIAN 27
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian 27
3.2. Alat dan Bahan 27
3.2.1. Alat-alat yang digunakan 27
3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan 28
3.3. Prosedur Penelitian 28
3.3.1. Persiapan Sampel 28
3.3.2. Ekstraksi dengan Berbagai Pelarut 28
3.3.3. Uji Fitokimia 29
3.3.4. Kromatografi Cair Vakum (KCV) 30
3.3.5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 31
3.3.6. Kromatografi Kolom (KK) 31
3.3.7. Analisis Kemurnian 32
3.3.8. Identifikasi Senyawa 32
3.3.9. Uji Potensi Antivirus COVID-19 secara *In Silico* 33
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN 35
4.1. Persiapan Sampel 35
4.2. Ekstraksi 35
4.3. Kromatografi Cair Vakum 38
4.4. Kromatografi Kolom (KK) 40
4.5. Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi 44
4.6. Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Secara *In Silico* 50
V. SIMPULAN DAN SARAN 56
5.1. Simpulan 56
4.2. Saran 57
DAFTAR PUSTAKA 58
LAMPIRAN 66

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak 12
2. Urutan kepolaran eluen, elusi senyawa dan kekuatan adsorben..... 14
3. Uji fitokimia beberapa ekstrak kasar daun sungkai..... 37
4. Fraksi gabungan hasil KCV 39
5. Fraksi gabungan hasi KK FE5..... 41
6. Data pergeseran kimia ^{1}H-NMR senyawa NV20..... 45
7. Data pergeseran kimia ^{13}C-NMR senyawa NV20..... 46
8. Hasil elusidasi ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR NV21..... 49
9. Informasi 6WNP dar RCSB PDB 51
10. Data hasil doking SARS-CoV-2 Mpro..... 53
11. Data hasil doking *AutoDock vina* 55

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Tanaman sungkai 5
2. Struktur senyawa 1,1’ binaphthalane-2,2’-diol 8
3. Struktur *Sesbagrandiflorain* A dan *Sesbagrandiflorain* B 8
4. Struktur senyawa *Sesbagrandiflorain* C 8
5. Struktur diterpen yang diisolasi dari daun sungkai (*P. canescens*) 9
6. Letak pergeseran kimia dalam spektra ^{1}H-NMR 18
7. Letak pergeseran kimia dalam spektra ^{13}C-NMR 19
8. Siklus hidup virus SARS-Cov-2 21
9. Pengkodean genom SARS-CoV-2 23
10. Perbedaan Fungsi *scoring* dan pencarian algoritma pada *AutoDock 4* dan *AutoDock Vina* 26
11. Proses maserasi 36
12. Hasil uji fitokimia 37
13. Hasil KLT ekstrak kasar etil asetat 38
14. Hasil KCV ekstrak etil asetat daun sungkai 40
15. Kromatogram KLT fraksi gabungan hasil KK fraksi FE5 41
16. Senyawa NV20 42
17. Kromatogram KLT senyawa NV20 42
18. Struktur senyawa NV21 dengan korelasi HMBC 43
19. Kromatografi KLT senaywa NV21 43
20. Spektrum ^{1}H-NMR senyawa NV20 44
21. Spektrum ^{13}C-NMR senyawa NV20 45
22. Spektrum ^{1}H-NMR senyawa NV21 47
23. Spektrum ^{13}C-NMR senyawa NV21 48

24. Senyawa NV21 dengan korelasi HMBC.....49
25. Struktur *4H-1-Benzopyran-4-one, 2,3-dihydro-5-hydroxy2-(2-hydroxy-6-methoxyphenyl)-7,8-dimethoxy* 50
26. Struktur 3D makromolekul SARS-CoV-2 51
27. Hasil pemisahan menggunakan USCF *Chimera*.....52

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dunia saat ini diresahkan dengan wabah penyakit pneumonia “misterius” yang pertama kali dilaporkan di Wuhan, Provinsi Hubei, Cina pada bulan Desember 2019 lalu. Sumber penularan kasus ini masih belum diketahui pasti, tetapi kasus pertama dikaitkan dengan pasar ikan di Wuhan (Rothan *and* Byrareddy, 2020). Wabah penyakit akut yang berhubungan dengan virus corona yang dinamai oleh WHO sebagai COVID-19, merupakan kasus ketiga dalam dua dekade yang telah mengakibatkan epidemi global (Gorbalenya *et al.*, 2020).

Terjadi peningkatan kasus COVID-19 di Cina setiap harinya dan kasus memuncak dari akhir Januari hingga awal Februari 2020. Mulanya kebanyakan laporan datang dari Hubei dan provinsi di sekitar, kemudian bertambah hingga ke provinsi-provinsi lain dan seluruh Cina (Wu *and* McGoogan, 2020). Menurut data dari Badan Kesehatan Dunia WHO (2021), negara-negara diseluruh dunia dengan kasus dan kematian yang dikonfirmasi laboratorium COVID-19 oleh badan WHO pada pukul 6:28 CEST, 17 Agustus 2020, mencapai 207.784.507 total kasus, dan 4.370.424 total kematian. Benua Amerika merupakan wilayah dengan kasus COVID-19 tertinggi yaitu sebanyak 80.425.345 kasus yang telah dikonfirmasi oleh WHO. Di wilayah Asia Tenggara, Indonesia menempati peringkat ketiga kasus COVID-19 setelah India dengan 3.892.479 kasus dikonfirmasi sehingga menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara pandemi COVID-19 di Asia Tenggara (WHO, 2021).

Para peneliti berupaya melakukan penanganan untuk pasien yang terinfeksi guna memutuskan rantai penyebaran COVID-19. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan beberapa obat-obatan yang digunakan pada wabah SARS dan MERS yang pernah menjadi pandemi global beberapa tahun lalu seperti *chloroquine, hydroxychloroquine*, remdesivir, ribavirin, lopinavir atau ritonavir. Fakta tersebut mendorong para peneliti untuk mencoba menggunakan jenis obat-obatan yang sama untuk penanganan pada pasien yang terinfeksi virus COVID-19 sebagai salah satu strategi pengobatan, namun hingga saat ini belum ada bukti berkualitas tinggi untuk efektivitas pengobatan menggunakan obat-obatan tersebut pada SARS, MERS, maupun COVID-19 (Sanders *et al.*, 2020). Pendekatan lainnya yang kebanyakan digunakan masyarakat lokal saat ini seperti di Cina dan Indonesia dalam mengatasi wabah COVID-19 di negara masing-masing adalah melalui penggunaan bahan-bahan alam khususnya yang dikenal berkhasiat sebagai obat tradisional (Susiarti, 2015). Menurut Anonymous (2020), salah satu tanaman yang diklaim oleh masyarakat dapat mengobati penyakit yang disebabkan oleh virus COVID-19 adalah tanaman sungkai.

Tanaman sungkai (*P. canescens)* merupakan bahan baku obat herbal yang digunakan untuk menurunkan demam (Yani, 2013). Menurut Yani dan Putranto (2014), pengobatan dengan ekstrak daun muda sungkai sebagai obat herbal, memiliki kelebihan daripada menggunakan imunos sebagai obat tunggal, karena dalam obat herbal (dalam bentuk jamu) terdapat kandungan beberapa senyawa bioaktif seperti peronemin, sitosterol, isopropanol, pitol, diterpenoid, dan flavonoid yang saling bersinergi untuk meningkatkan jumlah leukosit dalam tubuh. Hal tersebut ditunjukkan dalam pengobatan kekebalan, dosis ekstrak daun muda sungkai dalam konsentrasi 0,567 mg/Kg b/b dapat meningkatkan jumlah leukosit sebesar 36%. Sebaliknya, pengobatan dengan menggunakan imunos dapat meningkatkan jumlah leukosit sebesar 23% saja.

Selain itu daun sungkai juga dilaporkan menunjukkan keaktifan sebagai antimalaria. Kajian terkini juga dilakukan terkait dengan toksisitas beberapa ekstrak daun sungkai, berdasarkan penelitian tersebut dilaporkan bahwa dari masing-masing ekstrak aseton, etanol, dan air daun sungkai memiliki aktivitas

antiplasmodial yang medium, rendah, rendah dengan nilai IC_{50} sebesar 23,37±5,63 ; 629,46±24,85 dan 634,00±144,82 µg/mL serta memiliki indeks selektifitas yang meningkat pada ekstrak aseton, etanol, dan air yaitu 0,89 ; 16,46 ; 51,70 (Suwandi *et al.,* 2018). Tanaman sungkai memiliki potensi antivirus. Berdasarkan peranan daun sungkai yang banyak dijadikan obat tradisional untuk beberapa penyakit dan belum banyak penemuan senyawa aktif metabolit sekunder yang terkandung dalam daun sungkai yang berperan sebagai agen antivirus mendorong penulis untuk melakukan penelitian lebih lanjut. Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat menjadi bukti spesifik dalam memvalidasi klaim masyarakat mengenai kekhasiatan daun sungkai sebagai obat COVID-19.

Pada penelitian ini akan dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder yang difokuskan pada bagian daun sungkai (*P. canescens*) yang selanjutnya akan diuji potensi metabolit sekundernya sebagai anti COVID-19 secara *in silico*.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun sungkai (*Peronema canencens* Jack).
2. Melakukan kajian potensi antivirus COVID-19 senyawa hasil isolasi secara *in silico*.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai antivirus COVID-19 pada daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) dan menjadi bukti ilmiah dalam memvalidasi kekhasiatan daun sungkai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Verbenaceae

Verbenaceae merupakan salah satu famillі dari ordo Lamiales. Famili verbenaceae terdiri dari 30 genus dan sekitar 1.100 spesies, famili ini juga biasa dikenal sebagai *Verbena* atau *Vervain*. Bunganya diagregasikan dalam lonjakan, kelompok, atau raceme dan biasanya terdiri dari tabung yang melebar menjadi empat atau lima lobus yang hampir sama-sama dipotong. Jenis genus *Verbena* mengandung sekitar 200 hingga 250 spesies, hampir semuanya berasal dari Belahan Bumi Barat. Salah satu spesies dari *Verbenaceae* adalah *Peronema canescens* (Heywood *et al*., 2007).

2.2. Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Sungkai merupakan tanaman yang termasuk dalam family *Verbenceae*, tanaman ini tumbuh dihutan hujan tropis dan tersebar di wilayah Indonesia seperti Sumatra Barat, Jambi, Bengkulu, Sumatra Selatan, Lampung, dan Jawa Barat (Yani, 2013). Di beberapa negara seperti Malaysia sungkai dikenal dengan nama sukai, cherek, dan di Thailand dikenal sebagai sangkae (Soerianegara dan Lemmens 1994). Tanaman sungkai (*P. canescens*) memiliki nama lain diantaranya sekai, sungkih (Sumatera), longkai, lurus, jati sabrang, sungke (Jawa). Sungkai juga sering disebut sebagai jati sabrang, ki sabrang, kurus, sungkai, sekai yang termasuk dalam famili *Verbenaceae* (Martawijaya dkk., 1981). Daerah sebaran sungkai adalah di daerah Sumatera Selatan, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan

Selatan dan Kalimantan Tengah. Tempat tumbuh utama sungkai di hutan sekunder yang berair dan kadang-kadang terdapat juga di hutan sekunder yang kering, akan tetapi tidak dijumpai di hutan primer serta daerah yang periodik tergenang air. Sungkai umumnya tumbuh baik pada ketinggian 0 – 600 meter dengan tipe iklim A – C menurut tipe curah hujan Schmidt dan Ferguson. Penanaman pohon sungkai memerlukan tanah yang baik sedangkan ditanah margel tidak dianjurkan karena tumbuhan akan menjadi layu dan kering (Khaerudin, 1994).

Menurut Plantamor (2004) klasifikasi tanaman sungkai masuk dalam kingdom *Plantae*, divisi *Magnoliophyta*, kelas *Magnoliopsida*, sub-kelas *Asteridae*, ordo *Lamiales*, familia *Verbenaceae*, genus *Peronema*, dan spesies *Peronema canescens.* Tanaman sungkai dapat dilihat pada Gambar 1 di bawah ini:

(a) **(b)** **(c)** **(d)** **(e)**

Gambar 1. Tanaman sungkai **(a)**; batang sungkai **(b)**; daun sungkai **(c)**; bunga sungkai **(d)**; akar sungkai **(e).**

Tinggi pohon sungkai mencapai 20–30 m panjang batang bebas cabang mencapai 15 m, dengan diameter 60 cm atau lebih, batang lurus dan sedikit berlekuk dangkal, tidak berbanir, dan ranting penuh bulu halus. Kulit luar berwarna kelabu atau sawo muda, beralur dangkal, mengelupas kecil-kecil dan tipis. Kayu teras berwarna krem atau kuning muda. Tekstur kayu kasar dan tidak merata. Arah serat lurus, kadang-kadang bergelombang dengan permukaan kayu agak kesat. (Departemen kehutanan, 2006).

2.3. Kegunaan dan Efek Farmakologi Tanaman Sungkai

Kulit batang sungkai dilaporkan dapat digunakan untuk mengobati luka luar, luka dalam, dan diare berdarah. Hasil penelitian Prasiwi dkk. (2018) menunjukkan bahwa fraksi etanol daun *P. canescens* memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan parasit *P.berghei* dalam darah *M. musculus* (mencit) yang lebih baik dibandingkan dengan obat sintesis kloroquin. Fraksi *n*-heksana daun *P. canescens* dapat menurunkan jumlah parasetemia terhadap *M. musculus* jantan yang diinfeksi dengan parasit *P. berghei.* (Andriani dan Sundaryono, 2017). Ekstrak air daun sungkai memiliki potensi yang besar sebagai antiplasmodial dengan tingkat toksisitas yang rendah dibandingkan dengan ekstrak etanol dan ekstrak aseton (Suwandi *et al.*, 2018).

Hasil penelitian Kusriani dkk. (2017) menunjukan bahwa ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi metanol kulit batang sungkai tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli.* Sedangkan ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi metanol daun sungkai memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *S. aureus* berturut-turut 1024 µg/ml, 1024 µg/ml, dan 512 µg/ml, sedangkan terhadap *E. coli*, ekstrak dan fraksi memiliki KHM dan KBM 512 µg/ml. Dari hasil bioautografi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E.coli* dapat disimpulkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri dari ekstrak dan fraksi daun sungkai diperkirakan golongan senyawa alkaloid dan flavonoid.

2.4. Kandungan Fitokimia dalam Tanaman Sungkai

Senyawa metabolit sekunder merupakan komponen aktif dalam tumbuhan yang banyak dimanfaatkan dibidang kedokteran atau farmakologi dan juga dibidang pertanian (Rupa, 2015). Kusriani dkk. (2017) menunjukan adanya kandungan fenolik, tanin, alkaloid, steroid dan saponin pada ekstrak kulit batang sungkai

sedangkan ekstrak daun mengandung senyawa fenolik, tanin, flavonoid, alkaloid, steroid, dan saponin. Pada fraksi etil asetat daun sungkai mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenolik (Ramadenti *et al*., 2018). Pada tanaman sungkai memiliki beberapa komponen metabolit sekunder seperti pada kulit batang mengandung alkaloid dan terpenoid (Rupa, 2015).

2.5. Senyawa Metabolit Sekunder

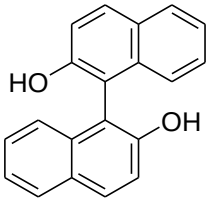
Salah satu senyawa organik yang dapat dihasilkan pada tanaman yaitu metabolit. Metabolit diklasifikasikan menjadi dua, yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Metabolit primer merupakan senyawa yang dibentuk pada tanaman dalam jumlah terbatas yang penting untuk pertumbuhan tanaman (Yuhernita dan Juniarti, 2011). Sedangkan metabolit sekunder merupakan hasil metabolisme makhluk hidup yang tidak esensial bagi perkembangan dan pertumbuhan makhluk hidup yang umumnya merupakan senyawa aromatik. Metabolit sekunder ini merupakan bentuk pertahanan diri yang diproduksi hanya saat dibutuhkan dan umumnya dihasilkan oleh tanaman. Metabolit sekunder memiliki struktur yang beragam yang dipengaruhi oleh letak geografis, paparan sinar matahari, atau keragaman secara genetis (Handayani, 2013).

Jenis metabolit sekunder tersebut diantaranya yaitu golongan senyawa fenolik, flavonoid, saponin, minyak atsiri, tanin, alkaloid (terbatas pada beberapa genus), dan steroid (Saifudin, 2002).

a. Senyawa Fenolik

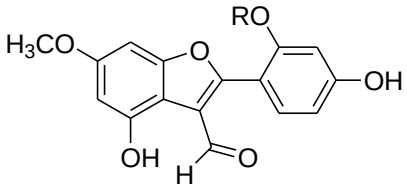
Senyawa fenolik merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksi yang menempel di gugus aromatik. Dalam keadaan murni senyawa fenolik berupa zat padat tidak berwarna, kelarutan

dalam air bertambah jika gugus hidroksil makin banyak. Salah satu tanaman yang menghasilkan senyawa fenolik adalah (*S. grandiflora* (L.) Pers) (Hasan *et al.*, 2012).



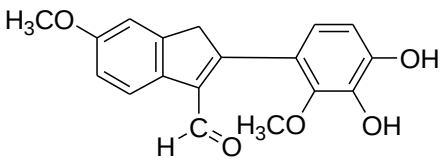
Gambar 2. Struktur senyawa *1,1' binaphthalane-2,2'-diol.*

Senyawa metabolit sekunder telah berhasil diisolasi dari turi putih (*S. grandiflora* (L.) Pers) yaitu senyawa *1, 1' binaphtalane-2,2'-diol* (Noviany *et al*., 2012). Selain itu, telah diisolasi juga senyawa *Sesbagrandiflorain* A dan *Sesbagrandiflorain* B dan telah direvisi stukturnya.



Gambar 3. Struktur *Sesbagrandiflorain* A (R = $CH_{3)}$; *Sesbagrandiflorain* B (R = H) (Noviany, 2021).

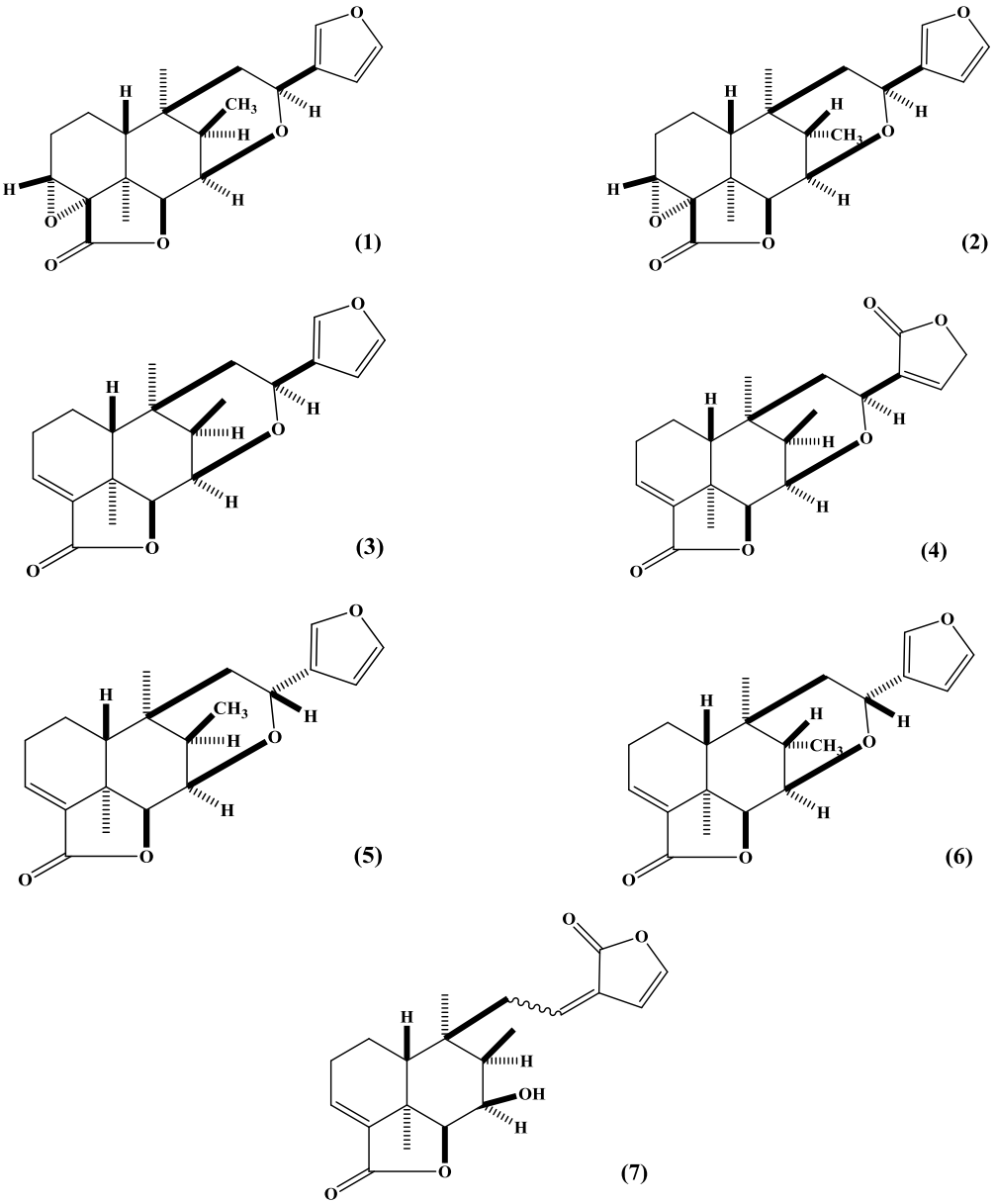
Baru-baru ini Noviany *et al.,* (2020) juga telah berhasil mengisolasi senyawa baru 2-arilbenzofuran, *Sesbagrandiflorain* C dari ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora.*



Gambar 4. Struktur senyawa *Sesbagrandiflorain* C.

2.6. Senyawa Metabolit Sekunder dari *P. canencens*

Senyawa aktif metabolit sekunder diterpenoid tipe clerodane dari daun sungkai (*P. canencens*) telah berhasil diisolasi yang diberi nama peronemin A2 (1), A3 (2), B1 (3), B2 (4), B3 (5), C1 (6) dan D3 (7) disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur senyawa diterpen yang diisolasi dari daun sungkai (*P. canescens*) (Kitagawa *et al*., 1994).

Diantara diterpenoid tersebut, senyawa (1), (2), (3), (4) dan (6) telah dilakukan uji aktivitas antimalaria secara *in vitro*. Di antara senyawa ini, senyawa (4) dan (6) menunjukkan beberapa aktivitas penghambatan dengan nilai IC_{50} sebesar 13.1 µM untuk senyawa (4) dan 83% penghambatan pada nilai IC_{50} sebesar 118 µM untuk senyawa (6) melawan proliferasi patogen malaria *Plasmodium falciparum* (*strain* K1; *strain* yang resisten klorokuin pada eritosit manusia) (Kitagawa *et al*., 1994).

2.7. Metode Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder

2.7.1. Isolasi

Isolasi adalah suatu proses pemisahan yang digunakan untuk memisahkan atau memurnikan suatu senyawa atau sekelompok senyawa yang mempunyai susunan kimia yang berkaitan dari suatu bahan, baik dalam skala laboratorium maupun skala industri. Metode pemisahan bertujuan untuk mendapatkan zat murni atau beberapa zat murni dari suatu campuran, sering disebut sebagai pemurnian dan juga untuk mengetahui keberadaan suatu zat dalam suatu sampel yang dianalisis laboratorium. Ada beberapa macam teknik isolasi, dan teknik isolasi yang sering digunakan yaitu ekstraksi (Harborne, 1987).

2.7.2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan yang digunakan untuk memisahkan senyawa aktif atau komponen tertentu dari komponen lain yang tidak diinginkan berdasarkan prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut yang dimulai dari pelapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut. Beberapa macam metode ekstraksi yang dapat digunakan salah satunya adalah maserasi. Prinsip metode maserasi yaitu penyarian zat aktif yang

dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar terlindung dari cahaya, cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel. Isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan dan penggantian cairan penyari setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan. Ekstraksi ini didasarkan pada kaidah *like dissolved like* yang artinya suatu senyawa akan larut pada suatu pelarut jika tingkat kepolarannya sama. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam simplisia (Harborne, 1987).

Metode ekstraksi lain adalah partisi (ekstraksi cair-cair). Ekstraksi cair-cair adalah proses pemisahan zat terlarut di dalam dua macam zat pelarut yang tidak saling bercampur atau dengan kata lain perbandingan konsentrasi zat terlarut dalam pelarut organik, dan pelarut air. Hal tersebut memungkinkan karena adanya sifat senyawa yang dapat larut air dan ada pula senyawa yang larut dalam pelarut organik. Satu komponen dari campuran akan memiliki kelarutan dalam kedua lapisan tersebut (biasanya disebut fase) dan setelah beberapa waktu dicapai keseimbangan biasanya dipersingkat oleh pencampuran kedua fase tersebut dalam corong pisah (Tobo, 2001).

Menurut Johnson dan Stevenson (1991), kromatografi digolongkan menjadi beberapa golongan berdasarkan jenis fasa diam dan fasa gerak yang dipartisi, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Penggolongan kromatografi berdasarkan fasa diam dan fasa gerak

Fasa diam	Fasa gerak	Sistem kromatografi
Padat	Cair	Cair-adsorpsi
Padat	Gas	Gas-adsorpsi
Cair	Cair	Cair-partisi
Cair	Gas	Gas-partisi

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dan partisi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Nugroho, 2017).

2.7.3. Kromatografi

Kromatografi merupakan dasar teknik pemisahan *multistage* pada perbedaan antara komponen penyerap permukaan atau pelarut pada cairan (Meloan, 1996). Kromatografi digunakan untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponen. Kromatografi bekerja berdasarkan prinsip, bahwa semua kromatografi memiliki fase diam (dapat berupa padatan, atau kombinasi cairan-padatan) dan fase gerak (berupa cairan atau gas). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang terdapat dalam campuran. Komponen-komponen yang berbeda bergerak pada laju yang berbeda. Kromatografi juga digunakan untuk keperluan preparatif, terutama untuk isolasi dalam sejumlah kecil bahan yang memiliki nilai intrinsik yang relatif tinggi. Dalam satu langkah proses kromatografi dapat memisahkan campuran ke dalam komponen masing-masing (Scott, 2003).

Pada penelitian ini akan digunakan beberapa jenis metode kromatografi serta analisis kemurnian. Metode kromatografi yang digunakan antara lain kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom (KK).

a. Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi Cair Vakum (KCV) merupakan salah satu metode fraksinasi dengan cara memisahkan *crude extract* menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana. Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fasa diam (*stationer*) dan aliran fasa geraknya (*mobile*) yang dibantu dengan pompa vakum. Fasa diam atau absorben yang digunakan dapat berupa silika gel atau alumunium oksida (Ghisalberti, 2008). Efek dari vakum ini akan mengurangi tekanan dan meningkatkan kecepatan alir dari pelarut yang digunakan. Kromatografi ini dilakukan berdasarkan perbedaan kemampuan migrasi diferensial senyawa melewati fase diam. Perbedaan kemampuan partisi dan kelarutan senyawa menyebabkan pemisahan berupa pita-pita pada fase diam kemudian keluar meninggalkan kolom dan ditampung lalu dideteksi. KCV biasa digunakan untuk analisis senyawa murni, analisis kuantitatif suatu senyawa dan cocok untuk senyawa yang bersifat *non*-volatil. Urutan eluen yang digunakan dalam KCV diawali dari eluen yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah kemudian kepolarannya ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettmann *et al*., 1995).

Eluen merupakan pelarut yang dipakai dalam proses migrasi atau pergerakan dalam membawa komponen-komponen zat sampel atau fasa yang bergerak melalui fasa diam dan membawa komponen-komponen senyawa yang akan dipisahkan. Kemampuan pelarut pengembang untuk menggerakkan senyawa pada fase diam saling berkaitan dengan polaritas pelarut. Adapun urutan kepolaran eluen, elusi senyawa dan adsorben dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Urutan kepolaran eluen, elusi senyawa dan kekuatan adsorben

Urutan Polaritas Eluen	**Urutan Elusi Senyawa**	**Urutan Adsorben**
Petrolium eter	Hidrokarbon tak jenuh	Selulosa
Karbon tetraklorida	Alkena	Gula
Benzene	Hidrokarbon aromatik	Asam silika (silika gel)
Kloroform	Eter	Florisil (Magnesium silikat)
Dietil eter	Aldehida, Keton, Ester	Aluminium oksida
Etil asetat	Alkohol	
Aseton	Asam karboksilat	
Etanol		
Metanol		
Air		

(Hostettmann *et al.,* 1995).

b. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode kromatografi yang fleksibel dan banyak digunakan. Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan alikuot kecil sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam *chamber*. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil, fase gerak yang terjebak dalam lempeng dikeringkan, dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (*visual*) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok. Deteksi senyawa menjadi mudah ketika senyawa secara alami dapat berwarna atau berberfluoresensi atau menyerap sinar UV. Pada umumnya senyawa aromatik terkonjugasi dan beberapa senyawa tak jenuh dapat menyerap sinar UV. Senyawa-senyawa ini dapat dianalisis dengan KLT dengan fase diam yang

diimpregnasi indikator fluoresensi dan deteksi dapat dilakukan hanya dengan pemeriksaan di bawah sinar UV 254 nm (Wulandari, 2011).

Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah plat atau lapisan diletakkan ke dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan) senyawa akan bergerak jika memiliki sifat kepolaran yang sama dengan fase geraknya. Selanjutnya, senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Metode analisis kromatografi lapis tipis (KLT) telah menjadi bagian dari teknik analisis rutin pada laboratorium analisis dan pengembangan produk karena memiliki beberapa keuntungan. Keuntungan utama metode analisis kromatografi lapis tipis dibandingkan metode analisis kromatografi cair kinerja tinggi adalah analisis beberapa sampel dapat dilakukan secara simultan dengan menggunakan fase gerak dalam jumlah kecil sehingga lebih hemat waktu dan biaya analisis serta lebih ramah lingkungan (Wulandari, 2011).

c. Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom merupakan salah satu jenis kromatografi cair. Kromatografi kolom adalah suatu metode pemisahan, dimana senyawa-senyawa tersebut dipisahkan berdasarkan pemisahan migrasinnya dalam suatu sistem dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Fase gerak cair disebut dengan eluen, sedangkan fase diam padatan dikenal dengan absorben, sehingga prinsip kerjanya adalah adsorpsi atau cair prinsip kerjanya adalah partisi. Kromatografi kolom diterapkan secara luas untuk pemisahan senyawa-senyawa hasil alam khususnya metabolit sekunder. Pemisahan dapat terjadi dikarenakan perbedaan daya serap atau partisi fase diam terhadap komponen-komponen sampel yang akan dipisahkan yang digerakkan oleh fase gerak (eluen). Komponen yang berinteraksi lemah dengan absorben

akan keluar terlebih dahulu sedangkan komponen yang interaksinya kuat akan keluar paling akhir dari dalam kolom (Ibrahim dan Sitorus, 2013). Ukuran partikel khusus untuk kromatografi kolom silika yang digunakan untuk tahap fraksinasi adalah:

a) 40-63 µm (230-400 Mesh), luas penggunaan yang lazim digunakan.
b) 63-200 µm (70-230 Mesh), untuk kolom yang mengandalkan gravitasi.

Ukuran lebih kecil dari 40 µm digunakan untuk KLT (Saifudin, 2002).

Pada kromatografi kolom ini, sampel yang berupa campuran yang akan dipisahkan diletakan berupa pita di bagian atas kolom penjerap yang berada dalam tabung kaca. Pelarut (fase gerak) dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan gaya berat. Pita senyawa linarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah dan dikumpulkan berupa fraksi, kemudian dimonitor dengan kromatografi lapis tipis (Gritter *et al*., 1991).

2.8. Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian senyawa hasil isolasi dapat dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan pengujian titik leleh. Timbulnya noda tunggal pada kromatogram KLT menunjukan kemurnian suatu senyawa yang dapat diamati langsung atau dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 245-366 nm, atau reagen penampak warna. Uji titik leleh ditentukan dengan alat *Melting Point.* Sebelum dilakukan pengukuran alat harus dalam kondisi bersih dari pengotor untuk menghindari kesalahan pengukuran. Zat amorf yang akan diuji kemurniannya dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang tertutup salah satu ujungnya setinggi 1 mm, selanjutnya dimasukkan ke dalam alat tersebut. Pengamatan dilakukan saat zat amorf mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya. Suatu zat dikatakan murni apabila *range* titik lelehnya lebih kecil dari 2°C (Etika dan Suryelita, 1992).

2.9. Karakterisasi Senyawa Secara Spektroskopi

Salah satu teknik yang dapat digunakan dalam penentuan struktur dari suatu senyawa organik adalah teknik spektroskopi. Spektrofotometri merupakan metode analisis kimia yang didasarkan pada interaksi antara radiasi elektromagnetik (Fessenden dan Fessenden, 1991). Radiasi elektromagnetik tersebut dapat berupa radiasi sinar γ, sinar-X (X-*ray*), UV-*Vis* (ultra ungu-tampak), IR (*infrared*), gelombang mikro, dan gelombang radio (Harvey, 2000).

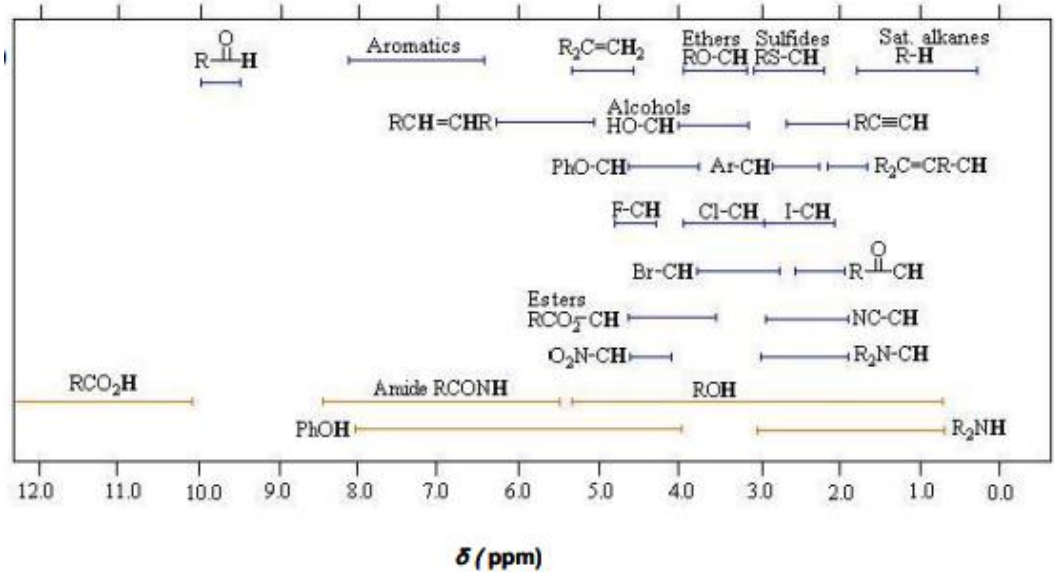
Alat untuk analisis secara spektrofotometri disebut spektrofotometer, yang dapat digunakan untuk menganalisa suatu senyawa secara kuantitatif maupun kualitatif (Suharmanto dan Kurniawan, 2013). Metode spektroskopi yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain yaitu spektroskopi resonansi magnetik inti (RMI) berupa ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR.

2.9.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI)

Spektroskopi Resonansi Magnet Inti (RMI) merupakan salah satu bentuk dari spektroskopi serapan. Dalam RMI senyawa menyerap energi pada daerah frekuensi radio dari spektrum elektromagnetik di bawah pengaruh medan magnet yang kuat (Silverstein *et al*., 2005). Karakterisasi yang dilakukan terhadap senyawa murni hasil isolasi adalah dengan menggunakan alat spektrometer resonansi magnet inti proton (^{1}H-NMR) yang merupakan alat yang berguna pada penentuan struktur molekul organik. Spektroskopi resonansi magnetik inti proton (^{1}H-NMR) didasarkan pada pengukuran absorbsi radiasi elektromagnetik pada daerah frekuensi radio 4-600 MHz atau panjang gelombang 75-0,5 m, oleh partikel (inti atom) yang berputar di dalam medan magnet (Harborne, 1987).

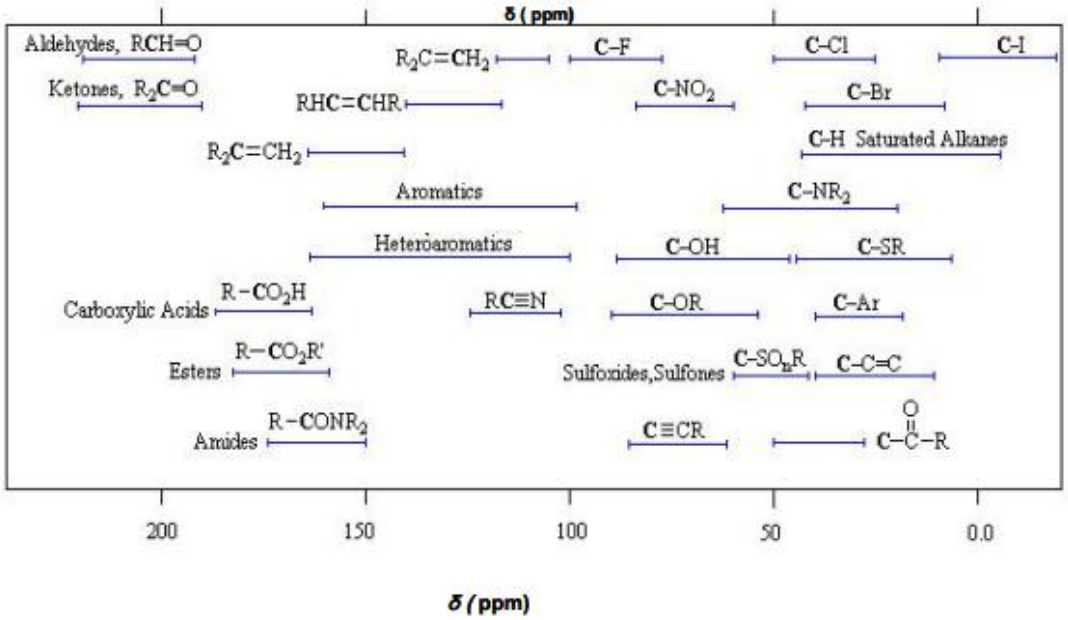
Atom-atom deuterium mempunyai sifat megnetik yang sedikit berbeda dengan hidrogen, sehingga mereka akan menghasilkan puncak pada area spektrum yang

berbeda. Gambar 6 menunjukkan letak pergeseran kimia beberapa senyawa organik dalam spektra ^{1}H NMR.



Gambar 6. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^{1}H-NMR (Banwell, 1994).

Terdapat dua jenis spektroskopi NMR yaitu ^{1}H-NMR dan ^{13}C NMR. Melalui spektra ^{13}C NMR maka dapat diketahui jenis-jenis atom karbon yang terkandung dalam suatu senyawa. Letak pergeseran kimia dalam spektra ^{13}C NMR untuk beberapa senyawa organik dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^{13}C NMR (Banwell, 1994).

2.10. *Coronavirus disease* 2019 (COVID-19)

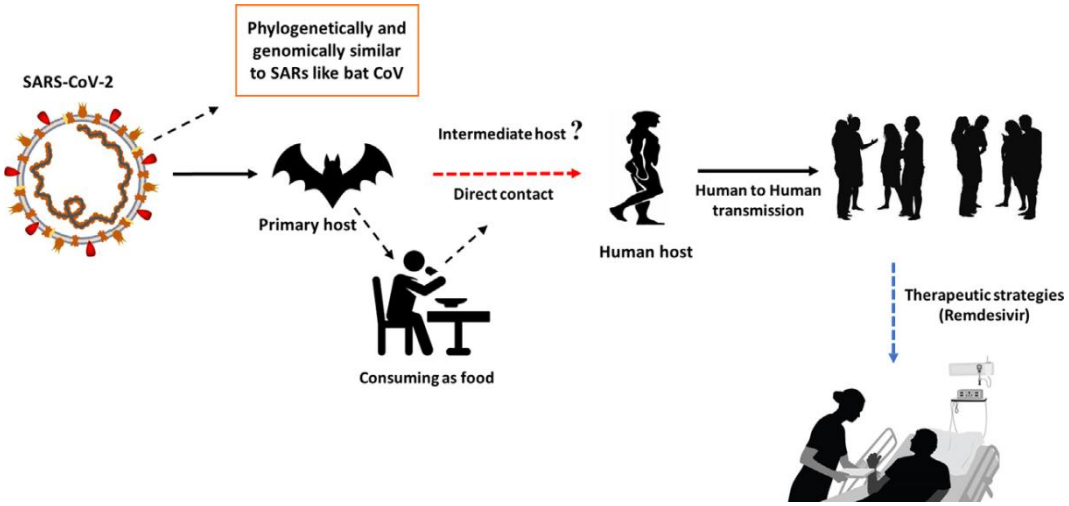
Coronaviruses merupakan virus RNA beruntai tunggal dengan indera besar, terselubung dan positif dapat menginfeksi hewan dan manusia dan merupakan penyebab utama penyakit saluran pernapasan bagian atas manusia yang disebabkan oleh *Severe acute respiratory syndrome coronavirus*-2 (SARS-Cov-2) (Lai *and* Cavanagh, 1997).

Penyakit COVID-19 adalah infeksi virus yang sangat mudah menular dan disebabkan oleh SARS-CoV-2, yang muncul di Wuhan, Cina dan menyebar ke seluruh dunia. Analisis genom mengungkapkan bahwa SARS-CoV-2 secara filogenetik terkait dengan beberapa virus kelelawar seperti sindrom pernapasan akut (seperti SARS), oleh karena itu kelelawar bisa menjadi reservoir primer yang mungkin. Sumber perantara asal dan transfer ke manusia tidak diketahui, namun, transfer manusia ke manusia yang cepat telah dikonfirmasi secara luas (Shereen *et al.*, 2020).

Kelompok Studi Coronaviridae atau *Coronaviridae Study Group* (CSG) dari Komite Internasional tentang Taksonomi Virus, yang bertanggung jawab untuk mengembangkan klasifikasi virus dan nomenklatur taksonomi dari keluarga *Coronaviridae*, telah menilai penempatan patogen manusia, tentatif bernama 2019-nCoV dalam *Coronaviridae*. Berdasarkan filogeni, taksonomi, dan praktik yang telah berkembang, CSG mengakui virus ini sebagai pembentuk saudara bagi prototipe manusia dan kelelawar yang terkandung virus *Severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoVs) dari spesies *coronavirus* terkait sindrom pernafasan akut yang parah, dan menandainya sebagai SARS-CoV-2 (Gorbalenya *et al.*, 2020).

2.10.1. Siklus Hidup SARS-CoV-2

Virus *Corona* berasal dari pasar makanan laut Hunan di Wuhan, Cina, dimana kelelawar, ular, anjing, rakun, musang, palem, dan hewan lainnya dijual, dan dengan cepat menyebar ke 109 negara. Sumber zoonotik SARS-CoV-2 tidak dikonfirmasi, namun analisis berbasis urutan menyarankan kelelawar sebagai reservoir utama. Rekombinasi DNA ditemukan terlibat pada *spike* glikoprotein yang menggunakan berbagai macam SARS-CoV (CoVZXC21 atau CoVZC45) dengan RBD dari CoV β lain, dengan demikian dapat menjadi alasan penularan lintas spesies dan infeksi yang cepat (Shereen *et al.*, 2020). Menurut tingkatan filogenetik, SARS-CoV lebih dekat dengan CoV kelelawar mirip dengan SARS. Siklus hidup virus SARS-Cov-2 disajikan pada Gambar 8.



Gambar 8. Siklus hidup virus SARS-CoV-2.

Berbagai antivirus spektrum luas yang sebelumnya digunakan untuk melawan influenza, SARS dan MERS *coronavirus* telah dievaluasi baik sendiri atau dalam kombinasi untuk mengobati pasien COVID-19, model tikus, dan isolat klinis. Obat-obat seperti remdesivir, lopinavir, ritonavir, dan oseltamivir secara signifikan memblokir infeksi COVID-19 pada pasien yang terinfeksi (Shereen *et al.*, 2020).

2.10.2. Penyebaran COVID-19

Cara penyebaran beberapa virus atau patogen dapat melalui kontak dekat, lingkungan atau benda yang terkontaminasi virus, droplet saluran napas, dan partikel *airborne*. *Droplet* merupakan partikel berisi air dengan diameter >5um. Droplet dapat melewati sampai jarak tertentu (biasanya 1 meter) ke permukaan mukosa yang rentan. Partikel droplet cukup besar sehingga tidak akan bertahan atau mengendap di udara dalam waktu yang lama. Produksi droplet dari saluran napas diantaranya batuk, bersin atau berbicara serta tindakan invasif prosedur respirasi seperti aspirasi sputum atau bronkoskopi, insersi tuba trakea. Partikel *airborne* merupakan partikel dengan diameter yang kurang dari 5 µm yang dapat

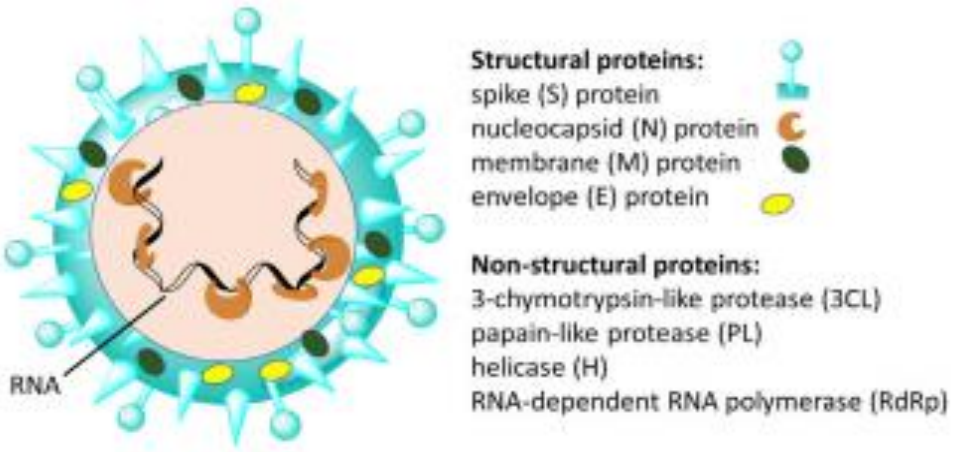
menyebar dalam jarak jauh dan masih infeksius. Patogen *airborne* dapat menyebar melalui kontak. Kontak langsung merupakan transmisi patogen secara langsung dengan kulit atau membran mukosa dan darah atau cairan darah yang masuk ke tubuh melalui membran mukosa atau kulit yang rusak (Wang *et al.*, 2020).

2.11. Antivirus

Antivirus merupakan salah satu penggolongan obat yang secara spesifik digunakan untuk mengobati infeksi virus. Obat-obat antivirus digunakan untuk mencegah replikasi virus dengan menghambat salah satu dari tahap-tahap replikasi sehingga dapat menghambat virus untuk bereproduksi (Kee, 1996). Pengembangan antivirus dapat digunakan dengan berbagai metode, salah satunya menggunakan metode studi *in silico* dengan penambahan molekul ligan-protein.

2.11.1. 3-*chymotrypsin-like protease* (3CLpro) atau *main protease* (Mpro)

Protein dapat digunakan sebagai target antivirus, salah satunya adalah 3Clpro atau disebut juga Mpro, yang mana protein tersebut merupakan protease yang berperan dalam membantu proses perubahan polipeptida replikase menjadi protein fungsional yang berperan penting dalam perbanyakan virus, sehingga menjadikan protein ini sebagai salah satu target antivirus. *Severe acute respiratory syndrome coronavirus*-2 *main protease* (SARS-CoV-2 Mpro) merupakan molekul protein target yang berperan sebagai protease sistein yang memotong dan memproses poliprotein virus SARS-CoV-2. Meskipun ukuran genom virus RNA agak besar ~ 30.000 basa, genom SARS-CoV-2 mengkodekan beberapa protein yang disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Pengkodean genom SARS-CoV-2

Dari genom yang disajikan pada Gambar 9, protein lonjakan struktural (S), protein nukleokapsid (N), protein membran (M), dan protein amplop (E), merupakan bagian struktur yang diperlukan untuk menghasilkan partikel virus yang lengkap secara struktural (Dömling *and* Gao, 2020). Selain itu, genom SARS-CoV-2 mengkodekan 16-17 protein non-struktural (ns1 hingga ns17), seperti *main protease* (Mpro), *protease-like papain* (PLpro), *helicase*, dan RNA-dependent RNA polimerase (RdRp). Kedua protease 3CLpro dan PLpro yang disandikan virus terlibat dalam pemrosesan dari dua poliprotein virus secara terkoordinasi, dan dengan demikian terdiri dari bagian penting dalam penargetan obat. Struktur, fungsi, dan penghambatan CoV MPro baru-baru ini ditinjau secara komprehensif (Pillaiyar *et al.,* 2016). Pada penelitian ini, digunakan kristal protein SARS-CoV-2 Mpro dengan kode protein yang dapat diekstrak dari situs PDB yaitu 6WNP.

2.12. Studi *In Silico* (*Molecular Docking*)

Studi *in silico* merupakan pendekatan pada suatu kondisi/keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu dalam mendesain obat.

Metode *in silico* merupakan suatu metode yang menarik dan menjanjikan dalam mengidentifikasi senyawa baru karena lebih cepat dan biaya yang lebih ekonomis (Geldenhuys, 2006).

Salah satu metode *in silico* yang sering digunakan adalah *molecular docking*. *Molecular docking* atau penambahan molekul adalah salah satu komputasi yang banyak digunakan untuk studi pengakuan molekuler, yang bertujuan untuk memprediksi mode pengikatan dan afinitas pengikatan kompleks yang dibentuk oleh dua atau lebih molekul penyusun dengan struktur yang diketahui. Tipe penting dari penambahan molekul adalah penambahan protein-ligan karena aplikasi terapeutiknya dalam desain obat berbasis struktur modern. Tujuan penambahan molekul adalah untuk menyajikan prediksi kompleks ligan dan reseptor. Program penambahan molekul protein-ligan terdiri dari komponen pengambilan sampel dan penilaian. Pengambilan sampel mengacu pada generasi orientasi pengikatan latif yang diduga di dekat situs pengikatan protein. Penilaian adalah prediksi dari keketatan yang mengikat untuk orientasi ligan individu dengan fungsi energi fisik atau empiris (Huang *and* Zou, 2010).

2.12.1. Sumber Informasi Database

a. PubChem

PubChem (http://PubChem.nbi.nlm.nih.gov) adalah sebuah database yang menyimpan beberapa kumpulan data dari molekul-molekul dalam bentuk tiga dimensi yang berasal dari kontribusi para peneliti biologi molekuler di seluruh dunia (Fathiyah, 2015). Situs PubChem ini bisa digunakan untuk memperoleh struktur senyawa kimia yang akan digunakan dalam penambahan molekul yang berfungsi sebagai ligan.

b. Protein Data Bank (PDB)

Catatan atom termasuk nama atom, nama residu, pengidentifikasi rantai polimer, dan nomor urut polimer. Satu set "catatan header" berisi metadata terbatas. Model struktural dibatasi hingga 99.999 atom dan hubungan antara berbagai item data tersirat. Kelemahan ini dan lainnya dari format arsip PDB adalah keahlian materi pelajaran yang mendalam diperlukan untuk membuat dan menggunakan perangkat lunak yang mengandalkan format ini. Pada 1990-an, *International Union of Crystallography* (IUCr) menugaskan sebuah komite untuk membuat model data yang lebih informatif dan dapat diperluas untuk arsip PDB (Burley *et al.*, 2017).

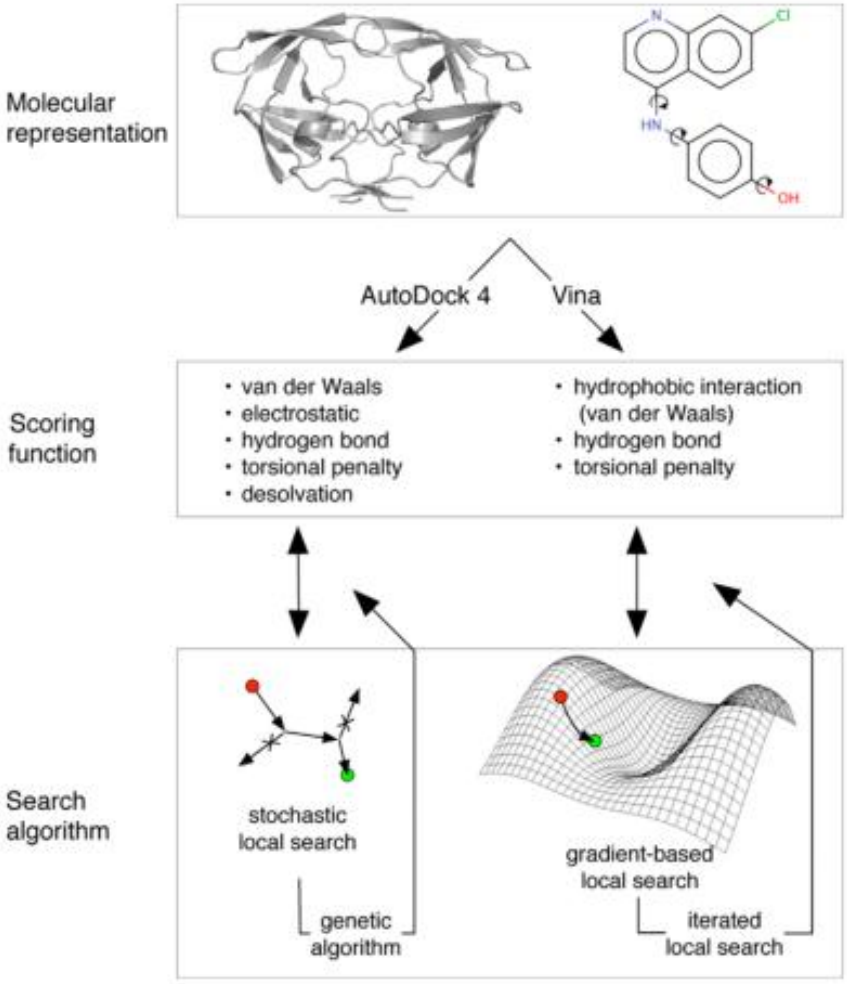
2.12.2. Perangkat Lunak

a. *Autodock*

Perangkat lunak *AutoDock* adalah rangkaian otomatis alat penghubung protein-ligan. *AutoDock tool* disingkat ADT dirancang untuk memprediksi interaksi protein dengan molekul kecil seperti molekul obat dan substrat. Penggunaan alat ini sangat luas, mulai dari perancangan obat berbasis struktur, optimasi molekul timbal, penambahan molekul protein-ligan, penambahan molekul protein-protein, analisis dan validasi mekanisme kerja molekul obat. *AutoDock* memiliki dua versi yaitu, *AutoDock* 4 dan *AutoDock Vina* (Ravi *and* Kannabiran, 2016).

Perangkat *AutoDock* 4 dan *AutoDock Vina* beroperasi dengan cara yang hampir sama, yaitu memasangkan fungsi penilaian yang diukur secara empiris dengan algoritme pengoptimalan global. Perbedaan utama terletak pada fungsi pencarian lokal dan parameterisasi fungsi penilaian. Selain itu, *AutoDock Vina* dirancang untuk beroperasi lebih cepat dan akurasinya dalam kompleks protein-ligan lebih besar dari *AutoDock* 4. Perangkat menggunakan jenis file masukan yang sama

yang menggambarkan ligan reseptor (umumnya kaku) dan fleksibel. Fungsi penilaian keduanya memiliki parameter yang serupa, tetapi telah dikalibrasi secara berbeda. Perbedaan utama antara program-program tersebut adalah algoritma pencarian lokal. *AutoDock* 4 menggunakan pencarian stokastik yang menghasilkan konformasi acak untuk diuji sedangkan *AutoDock Vina* menghitung gradien sambil mencari optimal lokal (Chang *et al.*, 2010). Perbedaan fungsi *scoring AutoDock 4* dan *AutoDock Vina* dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Perbedaan Fungsi *scoring* dan pencarian algoritma pada *AutoDock 4* dan *AutoDock Vina* (Chang *et al.*, 2010).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada bulan September 2020 - Agustus 2021 yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor. Analisis spektroskopi resonansi magnetik inti (RMI) dilakukan di Laboratorium NMR LIPI Serpong, Tangerang Selatan.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat-alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, penguap putar vakum (*rotary evaporator*), satu set alat kromatografi cair vakum (KCV), satu set alat kromatografi lapis tipis (KLT), satu set alat kromatografi kolom (KK), pengukur titik leleh, lampu UV, neraca analitik, dan spektrofotometer NMR.

3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah serbuk daun sungkai (*P. canensces*) (kode determinasi: NV7/NRGD/2020) yang diambil di Desa Sribusono, Kecamatan Way Seputih, Kabupaten Lampung Tengah pada bulan Mei 2020. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan fraksinasi berkualitas teknis yang telah didestilasi. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain etil asetat (EtOAc), metanol (MeOH), *n*-heksana (*n*-C_6H_{14}), kloroform ($CHCl_3$), isopropil alkohol(IPA), dikloro metana (DCM), aseton (C_3H_6O), akuades (H_2O), serium sulfat 1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2 N, diklorometana (CH_2Cl_2), silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel 60 GF_{254} (35-70 Mesh), dan plat KLT silika gel F254 Merck.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan Sampel

Daun sungkai (*P. canescens*) sebanyak 2.8 kilogram dibersihkan dari kotoran yang menempel kemudian dikeringkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama 7 hari. Daun sungkai yang sudah kering kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus, serbuk yang sudah dihaluskan kemudian digunakan sebagai sampel dalam penelitian ini.

3.3.2. Ekstraksi dengan Berbagai Pelarut

Ekstraksi daun sungkai (*P. canescens*) dilakukan menggunakan metode maserasi. Daun sungkai yang sudah dihaluskan lalu ditimbang sebanyak 2800 gram kemudian direndam dengan menggunakan pelarut metanol 1x24 jam sebanyak 3

kali pengulangan. Selanjutnya maserat dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat metanol yang diperoleh kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya. Tahap selanjutnya, ekstrak pekat metanol dipartisi cair-cair dengan menggunakan pelarut *n*-heksana, diperoleh fraksi *n*-heksana dan fraksi ekstrak metanol. Fraksi *n*-heksana dievaporasi menghasilkan ekstrak *n*-heksana. Fraksi metanol sisa ditambahkan air dan dipartisi dengan pelarut etil asetat diperoleh fraksi metanol-air dan fraksi etil asetat. Hasil partisi dari fraksi-fraksi dievaporasi pada suhu 30-40ºC sampai diperoleh ekstrak metanol-air dan ekstrak etil asetat.

3.3.3. Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui jenis metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol-air dari daun tumbuhan sungkai (*P. canescens*) dengan menggunakan metode yang dilaporkan oleh Harborne,1987..

a. Uji Saponin

Masing-masing ekstrak sebanyak 1 mL dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan akuades sebanyak 0,5 mL dan dikocok selama 30 detik. Uji positif mengandung saponin jika menimbulkan busa dengan ketinggian 1-3 cm selama 15 menit.

b. Uji Terpenoid dan Steroid

Masing-masing ekstrak sebanyak 0,5 mL ditambahkan asam asetat glasial dan 0,5 mL asam sulfat pekat. Uji positif mengandung terpenoid jika menghasilkan warna merah atau ungu sedangkan hasil positif mengandung steroid menghasilkan warna hijau atau biru.

c. Uji Alkaloid

Masing-masing ekstrak sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes kloroform dan pereaksi Meyer (1 gram KI dilarutkan dalam 20 mL akuades dan 0,271 gram $HgCl_2$ hingga larut). Uji positif ekstrak mengandung alkaloid memberikan warna putih kecoklatan.

d. Uji Flavonoid

Masing-masing ekstrak sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dirtambahkan 0,5 gram sebuk Mg kemudian ditambahkan 5 mL HCl pekat dilakukan dalam lemari asam secara perlahan-lahan. Uji positif ekstrak mengandung flavonoid memberikan perubahan warna menjadi kuning atau merah dan terdapat busa.

3.3.4. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak kasar difraksinasi dengan menggunakan metode Kromatrografi KCV. Mula-mula fase diam silika gel halus sebanyak 10 kali berat sampel dimasukkan ke dalam kolom KCV. Kemudian kolom dikemas kering dalam keadaan vakum menggunakan alat vakum. Urutan eluen yang ditambahkan untuk mengelusi kolom KCV yaitu dari kepolaran terendah hingga kepolaran tertinggi. Eluen dimasukkan dengan hati-hati ke permukaan silika gel halus terlebih dahulu kemudian divakum kembali. Kolom dihisap hingga kering dengan alat vakum.

Ekstrak kasar yang telah dilarutkan dalam aseton dan diimpregnasi menggunakan silika gel kasar hingga homogen, kemudian dimasukkan pada bagian atas kolom yang telah berisi fase diam dan kemudian dihisap secara perlahan-lahan ke dalam kolom KCV dengan cara memvakumkannya. Selanjutnya dilakukan proses pengelusian menggunakan eluen etil asetat:*n*-heksana 0% sampai etil asetat 100%.

Hasil elusi dari masing-masing pelarut ditampung dan dilakukan monitoring menggunakan metode KLT. Fraksi-fraksi yang memiliki nilai R*f* yang sama maka digabung dalam satu wadah (Pratiwi dan Ersam, 2013).

3.3.5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pada percobaan ini, uji KLT dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi yang akan difraksinasi dan fraksi-fraksi yang didapat setelah perlakuan fraksinasi. Uji KLT ini dilakukan untuk melihat pola pemisahan terbaik komponen-komponen senyawa yang akan difraksinasi. Uji KLT dilakukan menggunakan sistem campuran eluen, eluen yang biasa digunakan diantaranya adalah pelarut *n*-heksana, etil asetat, aseton, metanol, kloroform, isopropil alkohol dan diklorometana. Hasil KLT tersebut kemudian disemprot menggunakan larutan serium sulfat atau asam sulfat 10% untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Ketika diperoleh pemisahan terbaik atau fraksi yang lebih sedikit bercak/noda dilihat di bawah lampu UV setelah dilakukan elusi terhadap plat KLT. Fraksi-fraksi yang menghasilkan pola pemisahan dengan *Retention factor* (R*f*) yang sama pada kromatogram, digabung dan dipekatkan sehingga diperoleh beberapa fraksi gabungan yang difraksinasi lebih lanjut.

3.3.6. Kromatografi Kolom (KK)

Setelah dihasilkan fraksi-fraksi dengan jumlah atau massa yang lebih sedikit dan memiliki pola pemisahan terbaik, tahapan fraksinasi selanjutnya dilakukan menggunakan teknik kromatografi kolom. Adsorben silika gel Merck (35-70 Mesh) dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan dalam proses pengelusian. Bubur (*slurry)* dari silika gel yang sudah bercampur sempurna dengan pelarut dimasukkan terlebih dahulu ke dalam kolom, fase diam diatur hingga rapat (tidak

berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah diimpregnasi dimasukkan pada silika gel ke dalam kolom yang telah berisi fase diam secara perlahan-lahan. Pada saat sampel dimasukkan ke dalam kolom, diusahakan kolom dalam keadaan tidak kering atau kehabisan pelarut karena akan mengganggu fase diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tidak akan terganggu (Gritter *et al*., 1991). Eluat ditampung dalam botol vial kecil secukupnya (± 10 mL eluat) dan eluat yang keluar dalam volume yang sangat banyak, ditampung dalam botol vial yang lebih besar. Fraksi dengan pola pemisahan yang sama berdasarkan uji KLT dapat disatukan menjadi fraksi baru.

3.3.7. Analisis Kemurnian

Pada percoban ini, identifikasi kemurnian senyawa murni dilakukan dengan metode KLT dan uji titik leleh. Identifikasi kemurnian dengan uji KLT menggunakan beberapa campuran eluen. Kemudian suatu senyawa murni ditunjukkan dengan munculnya bercak/noda tunggal pada kromatogram (plat KLT) menggunakan serium sulfat, cara pembuatannya adalah 1,5 gram serium sulfat ($Ce(SO_4)_2$) dilarutkan dalam 10 mL akuades, kemudian dimasukkan asam sulfat (H_2SO_4) dengan konsentrasi 1,8 M lalu dihomogenkan (Khopkar, 2002). Isolat atau senyawa murni dapat disebut relatif murni secara uji KLT jika isolat tetap menunjukkan noda tunggal, hal tersebut dikarenakan isolat atau senyawa murni yang didapat mengandung satu jenis senyawa.

3.3.8. Identifikasi Senyawa

Isolat murni berupa kristal yang diperoleh dari proses fraksinasi kemudian dianalisis strukturnya dengan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) berupa analisis ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR, sehingga dapat diketahui nama dan struktur dari kristal murni tersebut.

a. Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

Pada percobaan ini, sampel berupa padatan murni dilarutkan terlebih dahulu dalam pelarut inert yang tidak mengandung proton seperti CCl_4 dan $CDCl_3$, kemudian ditambahkan sedikit senyawa acuan. Selanjutnya larutan diletakkan dalam tabung gelas tipis dengan ketebalan 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (*rf*) di antara dua kutub magnet yang sangat kuat, kemudiann energi dari kumparan *rf* ditambahkan secara terus-menerus. Energi pada frekuensi yang terpasang dari kumparan *rf* yang diserap oleh cuplikan akan direkam dan ditunjukkan sebagai spektrum NMR (Silverstain *et al*., 2005).

3.3.9. Uji Potensi Antivirus COVID-19 secara *In Silico*

a. Perangkat Keras (*Hardware)*

Perangkat keras berupa Laptop Acer dengan prosesor Intel® Celeron® 2955U 1,4 GHz dengan 2MB L3 *cache*, RAM (*Random Access Memory*) dua *gigabyte*, dengan Sistem Operasi Windows 7 Original.

b. Perangkat Lunak *(Software)*

Perangkat lunak *AutoDock* 4 dan *AutoDock Vina* digunakan untuk semua perhitungan penambahan molekul dan skor. Senyawa diekstraksi dari database PubChem dalam format SDF dan digabungkan dalam satu file. File itu kemudian diimpor ke *AutoDock*. Koordinat atom dari struktur kristal protein Mpro diambil dari Bank Data Protein (PDB) dan disiapkan dengan menghilangkan semua pelarut dan menambahkan hidrogen dan minimalisasi minimum di hadapan ligan terikat menggunakan *Protein Preparation Wizard*. Ionizer digunakan untuk menghasilkan keadaan terionisasi semua senyawa pada pH target 7. Konformer ligan berenergi rendah yang disiapkan ini diambil sebagai input untuk penambahan molekul yang diinduksi. Protokol penambahan molekul yang

diinduksi-fit secara bertingkat dengan menggunakan perangkat *AutoDock* 4 dan *AutoDock Vina*. Hasil dari masing-masing perangkat digunakan untuk memberi peringkat pada senyawa target berdasarkan prediksi energi ikatnya. Pemeringkatan ini digunakan untuk mengevaluasi kemampuan *AutoDock* 4 dan *AutoDock Vina* yang secara istimewa memilih senyawa aktif yang diklasifikasikan oleh DSF dan untuk menentukan konformasi yang disukai secara konsisten (Seri *et al.,* 2020; Chang *et al.,* 2010).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari daun sungkai (*P. canescens*) serta studi potensi antivirus COVID-19 secara *in silico* diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Telah berhasil diisolasi senyawa NV20 berupa kristal jarum putih sebanyak 20,3 mg dan NV21 berupa kristal jarum berwarna kuning sebanyak 4,0 mg dari fraksi etil asetat daun sungkai (*P. canescens*).
2. Berdasarkan hasil doking dengan menggunakan *AutoDock4,* energi ikatan antara senyawa NV21 dengan protein lebih besar dibandingkan ligan kokristal yaitu -6,84 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi sebesar 12,64 µM. Sedangkan hasil doking menggunakan *AutoDock vina,* energi bebas gibbs (ΔG) antara senyawa hasil isolasi dengan protein yaitu -6,66 kkal/mol.
3. Nilai energi ikatan ligan uji bernilai negatif, nilai tersebut mengidentifikasikan bahwa senyawa NV21 berhasil membentuk ikatan dengan SARS-CoV-2 Mpro, sehingga dapat dinyatakan bahwa ligan uji daun sungkai berpotensi sebagai inhibitor SARS-CoV-2.
4. Elusidasi senyawa NV21 diidentifikasi sebagai senyawa flavonoid baru dengan rumus molekul yaitu $C_{18}H_{16}O_7$ dengan nama sistematik 5,2’ dihidroksi-7,8,4’-trimetoksiflavon.

4.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Perlu dilakukan analisis lebih lanjut seperti spektroskopi MS dan NMR 2D meliputi DEPT 135, dan NOESY untuk mengkonfirmasi struktur molekul NV20 dan NV21.
2. Perlu dilakukan isolasi lebih lanjut terhadap fraksi lain daun sungkai (*P. canescens*) agar diperoleh informasi lebih luas mengenai jenis senyawa lain yang terkandung didalamnya.
3. Perlu dilakukan uji antivirus secara *in vivo* untuk mendukung data antivirus COVID-19.

DAFTAR PUSTAKA

Agistia, D. D., Purnomo, H., Tegar, M., Nugroho, A. E. 2013. Interaksi Senyawa Aktif dari *Aegle marmelos* Correa sebagai Anti Inflamasi dengan Reseptor COX1 dan COX-2. *Traditional Medicine Journal*. Vol.18:80-87.

Andriani, F., dan Sundaryono, A. 2017. Uji Aktivitas Antiplasmodium Fraksi N-Heksana Daun Peronema canescens Terhadap Mus Musculus. *Jurnal Pendidikan Dan Ilmu Kimia*. **1**(1): 33–38.

Anonymous. 2020. Solopos.com: Daun Sungkai, Tanaman Asli Indonesia Jadi Penangkal Virus Corona. https://www.solopos.com/daun-sungkai-tanaman-asli-indonesia-jadi-penangkal-virus-corona-1059014. Diakses pada 2 Agustus 2020.

Banwell, C. N. 1994. *Fundamentals of Molecular Spectroscopy in 3rd Edition*. Hlm. 265-275.

Burley, S. K., Berman, H. M., Kleywegt, G. J., Markley, J. L., Nakamura, H., Velankar, S. 2017. Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. *Methods Mol Biol*. 1607: 627-641.

Chang, M. W., Ayeni, C., Breuer, S., and Torbett, B. E. 2010. Virtual screening for HIV protease inhibitors: a comparison of AutoDock 4 and Vina. *PloS one*. **5**(8): e11955.

Departemen Kehutanan. 2006. *Seleksi Pohon Plus*. Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura. Sumedang.

Dömling, A. *and* Gao, L. 2020. Chemistry and Biology of SARS-CoV-2. *Chem*. **6**(6):1283-1295.

Etika, S. B., dan Suryelita. 1992. Isolasi Steroid dari Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*). *Jurnal Eksakta*. **1** (2):60–65.

Fathiyah. 2015. *Prinsip dasar Bioinformatika.*UB Press. Malang. Hlm. 65.

Fessenden, R. J. dan Fessenden J. S. 1991. *Kimia Organik* Jilid II. Erlangga. Jakarta. Hlm. 311-317.

Geldenhuys, W. J., Gaasch, K. E., Watson, M., Allen, D. D., *and* Van der Schyf, C. J. 2006. Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug discovery today*. **11**(3-4). 127–132.

Ghisalberti, E. L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation and Structural Determination*. Taylor and Francis Group. Inc. USA. Hlm. 23-27.

Gritter, R. J., Bobbit, J. M., *and* Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 266.

Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., Groot, D., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., Haagmans, B. L., Lauber, C., Leontovich, A. M., Neuman, W. B., Penzar, D., Pelrman, S., Poon, L. L. M., Samborsky, D. V., Sidorov, I. A., Sola, I., Ziebuhr, J. 2020. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology.* 5: 536–544.

Handayani, S. 2013. *Kandungan Flavonoid Kulit Batang dan Daun Pohon Api-Api (Avicennia marina (ForksVierh.) sebagai Senyawa Aktif Antioksidan.* Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogir, Bogor.

Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia. Ed II*. Diterjemahkan Oleh Kosasih Patmawinata dan Iwang Sudiro. Bandung: ITB. Hlm.147.

Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Terbitan ke-11.* Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. ITB press. Bandung. Hlm. 46-81.

Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry in 1st Edition*. Hlm. 369;372;402.

Hasan, N., Osman, H., Mahamad, S., Chong, W.K., Awang, K., Zahariluddin, A.S.M. 2012. The Chemical Components of *Sesbania grandiflora* Root and Their ANtituberculosis Activy. *Pharmaceuticals.* **5**(1):882-889.

Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A. *and* Seberg, O. 2007: *Flowering Plant Families of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew.

Hostettmann, K., Hostettmann, M., dan Manson, A. 1995. *Cara kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih bahasa Kosasih. Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 27-34.

Huang, S. Y. *and* Zou, X. 2010. Advances and challenges in protein-ligand docking. *International journal of molecular sciences*. **11**(8). 3016-3034.

Ibrahim, H. M., dan Sitorus, M. 2013. *Teknik Laboratorium Kimia Organik*.Graha Ilmu. Yogyakarta. Hlm 140.

Jain, A. N. and A. Nicholls. 2008. Recommendation for Evaluation of Computational Methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. 22:133-139.

Johnson, L. E. dan Stevenson, R. 1991. *DasarKromatografi Cair*. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. Hlm. 365.

Kartasasmita, R.E., Herowati, R., Harmastuti, N., dan Gusdinar, T. 2010. Querectin Derivatives Docking Based On Study of Flavonoids Interaction to Cyclooxygenase -2 Docking: Turunan Kuersetin Berdasarkan Studi Interaksi Flavonoid Terhadap Enzim. *Indonesian Journal of Chemistry*. **9**(2):297-302.

Kee, J. L. 1996. *Farmakologi: Pendekatan Proses Keperawatan.* EGC.

Khaerudin. 1994. *Pembibitan Tanaman HTI*. Penebar Swadaya. Jakarta. Hlm. 110.

Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia. Jakarta.

Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., *et al*. 1994. Indonesian medical plant. VII. Seven new clerodane-type diterpenoids, Peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1, from the leaves of *Peronema canescens* (*Verbenaceae*). *Chemical Pharmacheutical Bulletin.* **42** (5) :1050.

Kusriani, H. R., Nawawi, A., dan Turahman, T. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Dan Fraksi Kulit Batang Dan Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Staphylococcus Aureus Atcc 25923 Dan Escherichia Coli Atcc 25922. *Jurnal Farmasi Galenika*. **02**:01.

Lai, M. M. *and* Cavanagh, D. 1997. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res.* 48:1–100.

Laksmiani, N. P. L., Paramita, N. L. P. V., and Wirasuta, I. M. A. G. 2016. In Vitro and In Silico Antioxidant Activity of Purified Fractions from Purple Sweet Potato Ethanolic Extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 8:177-181.

Martawijaya, A., Kartasujana, I., Mandang, Y. I., Prawira, S. A., Kadir, K. 1981. *Atlas Kayu Indonesia Jilid I*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan.

Mayor, L. and Sereno, A. M. 2004. Modelling Shrinkage During Convective Drying of Food Materials: A riview. *Journal of Food Engineering.* 373-386.

Meloan, C. F. 1996. *Chemical Separation. Prinsiples, Techniques and Expremints*. John Wiley and Sons Inc. New York.

Noviany, N., Osman, H., Chong, W.K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012. Isolation and characterisation of 1,1'- binaphthalene-2,2'-diol, A New Biaryl Natural Product from *Sesbania grandiflora* Root. *Journal of Basic and Apllied Sciences.* **8**(3):53-256.

Noviany, N., Samadi, A., Yuliyan, N., Hadi, S., Aziz, M., Purwitasari, N., Mohamad, S., Ismail, N.N., Gable, P.K., and Mahmud, T. 2020. Structure characterization and biological activity of 2-arylbenzofurans from an Indonesian plant, *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochemistry Letters.* 35:211-215.

Noviany N., Samadi, A., Carpenter, E.L., Abugrain, M.E., Hadi, S., Purwitasari, N., Indra, G., Indra, A., et al. 2021. Structural revision of sesbagrandiflorains A and B, and synthesis and biological evaluation of 6-methoxy-2-arylbenzofuran derivatives. *Journal of Natural Medicines*. 75:66-75.

Nugroho, A. 2017. *Buku Ajar: Teknologi Bahan Alam.* Universitas Lambung Mangkurat Press. Banjarmasin. Hlm. 155.

Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V., Hayashi, Y., Jung, S. H. 2016. An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. *Journal of Medicinal Chemistry*. **59**(10):1021.

Plantamor. 2008. Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Spesies Pala. http://www.plantamor.com/index.php?plant=883.diakses pada 28 Desember 2019.

Prasiwi, D., Sundaryono, A., dan Handayani, D. 2018. Aktivitas Fraksi Etanol Dari Ekstrak Daun Peronema canescens Terhadap Tingkat Pertumbuhan Plasmodium Berghei. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2018. **2**(1):25 – 32.

Pratiwi, A. dan Ersam, T. 2013. Uji Kemurnian Dua Senyawa dari Ekstrak Metanol Kayu Batang *Garcinia cylindrocarpa. Jurnal Sains dan Seni Pomits.* **2**(1):1-4.

Ramadenti, F., Sudaryono, A., Dewi, H. 2018. Uji Fraksi Etil Asetat Daun *Peronema canencens* Terhadap *Plasmodium berghe*i Pada *Mus musculus*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia.* **1**(2) : 89-92.

Ravi, L., *and* Kannabiran K. 2016. A Handbook on Protein-Ligand Docking Tool: AutoDock 4. *Innovare Journal of Medical Sciences.* **4**(3): 28-33.

Rothan, H. A. *and* Byrareddy, S. N. 2020. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal Autoimmun*. **5** (109):102433.

Rupa, D. 2015. Identifikasi Struktur Sekretori Dan Analisis Histokimia Serta Fitokimia Tumbuhanobat Anti-Infeksi Di Kawasan Taman Nasional Bukit Duabelas Jambi. (*Thesis*). Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Sanders, J. M., Monogue, M. L., Jodlowski, T. Z., Cutrell, J. B. 2020. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA.* **323**(18):1824–1836.

Saifudin, A. 2002. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. Hlm. 33;39;46;52;87;88.

Scott, R. P. W. 2003. *Principles and Practice of Chromatography*. Hlm. 1.

Seri, J., Suwon, K., Dong, H. S. *and* Mi-Sun, K. 2020. Inhibition of SARSCoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **35**(1) : 145-151.

Shereen, M. A., Khan, S., Kazmi, A., Bashir, N., Siddique, R. 2020. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. *Journal Advanced Research*. **24**:91-98.

Silverstein, R. M., Webster, F. X., *and* Kiemle, D. J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds in 7th ed*. Hlm. 191-195.

Soerianegara, I. dan Lemmens, R. H. M. J. 1994. *Plant Resource of South-East Asia*. Timber Trees: Major Commercial Timbers. Prosea. Bogor Indonesia. **1**:5.

Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi. diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro.* ITB. Bandung.

Suharmanto, E., dan F. Kurniawan. 2013. Adaptif Probe Serat Optik untuk Spektrofotometer Genesys 10s Uv-Vis Generasi Kedua. *Jurnal Sains dan Seni*. **2**(1):2-4.

Suwandi, J.F. *and* Wijayanti, M. A. 2018. Original Article In Vitro Antiplasmodial And Cytotoxic Activities Of A Sungkai (*Peronema canescens*) Leaf Extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 10:10.

Susiarti, S. 2015. Pengetahuan dan pemanfaatan tumbuhan obat masyarakat lokal di Pulau Seram, Maluku. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*. **1**(5):1083–1087.

Tobo, F. 2001. *Buku Pegangan Laboratorium Fitokimia* I. Universitas Hasanuddin. Makassar.

Wang, Z., Qiang, W., Ke, H. 2020. *A Handbook of 2019-nCoV Pneumonia Control and Prevention*. Hubei Science and Technologi Press. China.

World Health Organization (WHO). 2021. Coronavirus disease (COVID-19) Situation Report : 2021. Montenegro. Case and Death Counts Adjusted between 15 August and 17 August. Diakses pada 17 Agustus 2021

Wu, Z. *and* McGoogan, J. M. 2020. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China:

Summary of a Report of 72314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. **323**(13):1239–1242.

Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo. Jember. Hlm.1-4.

Yani, A. P. 2013. *Kearifan Lokal Penggunaan Tumbuhan Obat oleh Suku Lembak Delapan di Kabupaten Bengkulu Tengah Bengkulu.* Seamirata. Universitas Lampung. Lampung.

Yani, A. P. dan Putranto, A. M. H. 2014. Examination of The Sungkai's Young Leaf Extract (*Peronema canescens*) as An Antipiretic, Immunity, Antiplasmodium and Teratogenity in Mice (*Mus. muculus*). *International Journal of Science and Engineering*. **7**(1):30-34.

Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. **15** (1):48-52.

.

.