

**UJI INHIBISI ENZIM  $\alpha$ -AMILASE TERHADAP FRAKSI  
OLIGOSTILBEN DARI KAYU TUMBUHAN RARU  
(*Cotylelobium melanoxylon*)**

Tesis

Oleh

**MENTARI YUNIKA SARI**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRACT

### **$\alpha$ -AMYLASE INHIBITION AGAINST OLIGOSTILBENE FRACTION FROM RARU WOOD (*Cotylelobium melanoxyton*)**

By

**Mentari Yunika Sari**

Diabetes is a chronic disease identified by the elevation of blood glucose and disturbance of carbohydrate, fat, and protein metabolisms that occurs either when the pancreas does not produce enough insulin or when the body cannot effectively utilize the insulin it produces. In this study, further purification of the raru wood extract was carried out so that the activity test of an active fraction was more specific. The main purpose of this study was to determine the  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of the active compound in raru wood. The extraction method was using maceration technique with methanol as solvent, while the compound purification was performed with column chromatography and TLC preparative technique with several ratios of organic solvents. FT-IR analysis showed absorption at 3388.93  $\text{cm}^{-1}$  and 831.32  $\text{cm}^{-1}$ , which indicated the presence of phenolic groups in the structure of the compound. Sample analysis using UPLC-MS showed retention time of 6.224 and 7.061 minutes, with  $m/z$  680.21 and 694.19 respectively. Based on this analysis, the suggested compound is a stilbene namely vaticanol G/A/E or viniferol D and cotylelophenol. This study is the first to document the presence of cotylelophenol in the raru wood species (*C. melanoxyton*). The results of the  $\alpha$ -amylase inhibition test showed that the E10a4a fraction and acetone fraction was able to inhibit the activity of the  $\alpha$ -amylase enzyme quite well at a concentration of 2000 ppm, with the highest inhibition percentage of 47.23% and 51.63% respectively, when compared to acarbose (76.06%) with the same concentration.

**Keywords:** raru wood, *Cotylelobium melanoxyton*,  $\alpha$ -amylase, diabetes mellitus

## ABSTRAK

### UJI INHIBISI ENZIM $\alpha$ -AMILASE TERHADAP FRAKSI OLIGOSTILBEN DARI KAYU TUMBUHAN RARU (*Cotylelobium melanoxyton*)

Oleh

Mentari Yunika Sari

Diabetes adalah penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan glukosa darah dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi terhadap ekstrak kayu raru sehingga uji aktivitas fraksi aktif lebih spesifik. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase dari fraksi aktif dalam kayu raru. Metode ekstraksi menggunakan teknik maserasi dengan pelarut metanol yang selanjutnya dipartisi dengan n-heksana. Fraksi metanol diuapkan pelarutnya hingga diperoleh ekstrak padat yang kemudian dilarutkan dalam aseton. Fraksi aseton difraksinasi lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom dan teknik KLT preparatif dengan pelarut kloroform-metanol (4:1). Analisis FT-IR menunjukkan serapan pada  $3388,93\text{ cm}^{-1}$  dan  $831,32\text{ cm}^{-1}$  yang mengindikasikan adanya gugus fenolik pada struktur senyawa. Analisis fraksi E10a4a menggunakan UPLC-MS menunjukkan waktu retensi 6,22 dan 7,06 menit, masing-masing mempunyai m/z 680,21 dan 694,19. Berdasarkan analisis tersebut, dalam fraksi teridentifikasi adanya turunan stilben yaitu vatikanol G/A/E atau viniferol D dan kotilelofenol. Penelitian ini adalah yang pertama melaporkan keberadaan kotilelofenol pada spesies kayu raru (*C. melanoxyton*). Hasil uji inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase menunjukkan bahwa fraksi E10a4a dan fraksi aseton mampu menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dengan baik pada konsentrasi 2000 ppm, dengan persentase inhibisi tertinggi masing-masing sebesar 47,23% dan 51,63%, jika dibandingkan dengan akar bosa (76,06%) dengan konsentrasi yang sama.

Kata kunci: kayu raru, *Cotylelobium melanoxyton*,  $\alpha$ -amilase, diabetes melitus

**UJI INHIBISI ENZIM  $\alpha$ -AMILASE TERHADAP FRAKSI  
OLIGOSTILBEN DARI KAYU TUMBUHAN RARU**

**Oleh**

*Mentari Yunika Sari*

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
**MAGISTER SAINS**

Pada

Program Pascasarjana Magister Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

Judul Tesis : **UJI INHIBISI ENZIM  $\alpha$ -AMILASE  
TERHADAP FRAKSI OLIGOSTILBEN DARI  
KAYU TUMBUHAN RARU (*Cotylelobium  
Melanoxylon*)**

Nama : **Mentari Yunika Sari**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2027011006**

Program Studi : **Magister Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. Komisi Pembimbing

**Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**  
NIP. 195405101988032001

**Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.**  
NIP. 197007052005011003

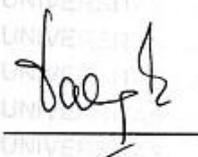
2. Ketua Program Studi Magister Kimia  
FMIPA Universitas Lampung

**Dr. Nurhasanah, M.Si.**  
NIP. 197412111998022001

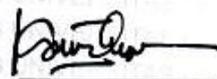
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

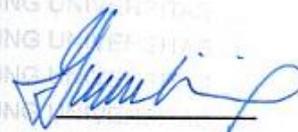
**Ketua : Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.**



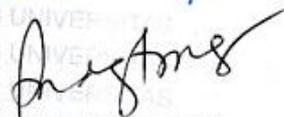
**Sekretaris : Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc.**



**Penguji Bukan Pembimbing Anggota : Dr. Zipora Sembiring, M.S.**



**Anggota : Prof. Dr. Rudy T.M. Situmeang, M.Sc.**



**Anggota : Dr. Nurhasanah, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.**  
NIP. 197407052000031001

**3. Direktur Program Pascasarjana**

**Prof. Dr. Ir. Ahmad Saudi Samosir, S.T., M.T.**  
NIP. 197104151998031005

**Tanggal Lulus Ujian Tesis: 18 Januari 2023**

## SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mentari Yunika Sari  
Nomor Pokok Mahasiswa : 2027011006  
Program Studi : Magister Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa tesis saya yang berjudul “Uji Inhibisi Enzim  $\alpha$ -Amilase terhadap Fraksi Oligostilben dari Kayu Tumbuhan Raru” adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak melakukan penjiplakan (*plagiarism*) atas karya penulis lain dengan cara yang tidak sesuai dengan tata etika ilmiah yang berlaku. Hak intelektual karya ilmiah ini saya serahkan kepada Universitas Lampung dan saya tidak keberatan jika data tesis ini dikemudian hari dipergunakan oleh pihak dosen atau Prodi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya dicantumkan.

Atas pernyataan ini, apabila dikemudian hari ditemukan adanya ketidakbenaran maka saya bersedia menerima sanksi sesuai hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 26 Januari 2023



buat Pernyataan,

Mentari Yunika Sari  
NPM 2027011006

## **RIWAYAT HIDUP**

Penulis dilahirkan di Kota Metro pada tanggal 02 Juni 1997, anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Ngasaroh dan Ibu Eka Ratnawati, S.E.

Penulis mengawali pendidikan formal di TK Pertiwi Metro Barat yang diselesaikan pada tahun 2003, kemudian menyelesaikan studi di Sekolah Dasar (SD) Negeri 6 Metro Barat pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Metro tahun 2012, dan Sekolah Menengah Akhir (SMA) Negeri 1 Metro pada tahun 2015. Penulis kemudian terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri) pada tahun 2015 dan lulus sebagai sarjana sains pada tahun 2019. Pada tanggal 7 Februari 2021, penulis menikah dengan Randy Yuki Pratama, S. Mat. dan dikaruniai satu orang putra yang bernama Umar Shakir Saad.

Untuk,

*Mama, Ayah, dan Suamiku*

yang selalu memberikan kasih sayang, doa, cinta, motivasi, serta pengorbanan demi keberhasilanku.

## SANWACANA

*Assalamualaikum warahmatullahi wabarokatuh.*

*Alhamdulillah* segala puji bagi Allah *subhanahu wa taala* atas rahmat dan ridhonya, penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Shalawat senantiasa penulis haturkan kepada Nabi Muhammad ﷺ, semoga kita termasuk orang yang mendapatkan syafaatnya di Yaumul Qiyamah kelak. Aamiin.

Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Nurhasanah, M.Si. selaku Ketua Program Studi Magister Kimia FMIPA Universitas Lampung.
2. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. selaku pembimbing I yang telah memotivasi, membimbing, dan mengarahkan penulis selama penelitian dan penulisan skripsi.
3. Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Si. selaku pembimbing II atas bantuan, arahan, dan kesabarannya kepada penulis selama menyelesaikan skripsi.
4. Dr. Zipora Sembiring, M.S., Prof. Rudy T.M.S., M.Sc. dan Dr. Nurhasanah, M.Si. selaku Pembahas yang memberikan masukan dan saran demi terselesikannya tesis ini.
5. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan banyak pengetahuan selama belajar di Universitas Lampung, terima kasih atas ilmu dan pengalaman yang luar biasa.

6. Para Staff dan Laboran, khususnya mbak Wiwit, yang telah memberikan banyak bantuan selama penelitian di Laboratorium Organik.
7. Suamiku, Randy, yang selalu sabar memberikan dukungan dan semangat yang tak ternilai harganya.
8. Mama dan Ayah, terima kasih untuk doa, kasih sayang, dan dukungan yang tak pernah berhenti hingga saat ini.
9. Adik-adikku tersayang, Puspa dan Naufal yang telah memberikan keceriaan, semangat, dan motivasi yang tidak ternilai harganya.
10. Sahabatku Siwi, terima kasih atas persaudaraan, kebersamaan serta kehangatan dalam suka dan duka yang telah dilewati bersama penulis, semoga persahabatan ini terus terjalin hingga surga kelak.
11. Penghuni Laboratorium Organik yang menjadi tim penelitianku Rinda, Riski, Kania, dan mba Kartika, terima kasih atas bantuan dan dukungannya kepada penulis.
12. Teman-teman S2 NPM 2027 atas kebersamaan dan keceriaan yang mewarnai kehidupan kampus.
13. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Mohon maaf jika penulis tidak menyebutkan satu per satu.

Semoga Allah *subhanahu wa taala* membalas kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, akan tetapi penulis berharap agar tesis ini dapat berguna dan bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan. Aamiin.

Wassalamualaikum warahmatullahi wabarokatuh

Bandar Lampung, 25 Januari 2023

Penulis,

*Mentari Yunika Sari*

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1. Dipterocarpaceae.....	5
2.2. <i>Cotylelobium melanoxylon</i> (Tumbuhan Raru).....	7
2.3. Stilben.....	8
2.3.1. Klasifikasi Stilben.....	9
2.3.1.1. Kelompok A.....	9
2.3.1.2. Kelompok B.....	10
2.3.1.3. Kelompok C.....	11
2.3.1.4. Kelompok D.....	12
2.3.1.5. Kelompok E.....	13
2.3.2. Stilben dalam Famili Dipterocarpaceae.....	15
2.3.3. Stilben dalam Genus <i>Cotylelobium</i> .....	15
2.3.4. Biosintesis Senyawa Turunan Stilben.....	16
2.3.5. Bioaktivitas Senyawa Stilben.....	20
2.4. Ekstraksi dan Pemisahan Senyawa Stilben.....	22
2.4.1. Ekstraksi.....	22

2.4.1.1. Ekstraksi Padat-Cair.....	22
2.4.1.2. Ekstraksi Cair-Cair.....	23
2.4.2. Pemisahan secara Kromatografi.....	24
2.4.2.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	25
2.4.2.2. Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	26
2.4.2.3. Kromatografi Kolom (KK).....	26
2.5. Identifikasi secara Spektroskopi.....	27
2.5.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir (NMR).....	27
2.5.2. <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FT-IR).....	28
2.6. <i>Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy</i> .....	29
2.7. Uji Aktivitas Antidiabetes .....	29
<b>III. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>31</b>
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian .....	31
3.2. Alat dan Bahan .....	31
3.3. Prosedur Penelitian.....	32
3.3.1. Persiapan Sampel .....	32
3.3.2. Maserasi (Ekstraksi Padat-Cair).....	32
3.3.3. Partisi (Ekstraksi Cair-Cair) .....	33
3.3.4. Uji Fitokimia Ekstrak Kasar.....	33
3.3.5. Monitoring dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	34
3.3.6. Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV) .....	35
3.3.7. Kromatografi Kolom .....	35
3.3.8. KLT Preparatif .....	35
3.3.9. Analisis Spektroskopi .....	36
3.3.9.1. Spektrofotometri Inframerah (IR).....	36
3.3.9.2. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)....	36
3.3.10. Analisis UPLC-MS.....	37
3.3.11. Uji Inhibisi Enzim $\alpha$ -amilase.....	37

<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	40
4.1. Ekstrak dan Kandungan Fitokimia Kayu Raru .....	40
4.2. Kromatogram KLT Ekstrak Metanol Kayu Raru.....	42
4.3. Ekstrak Aseton dan Heksana Hasil Partisi .....	43
4.4. Fraksi-Fraksi Hasil Pemurnian Ekstrak Aseton Kayu Raru.....	44
4.4.1. Fraksi Hasil Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	44
4.4.2. Hasil Pemurnian Fraksi D' (KCV Pertama).....	46
4.4.3. Data Spektroskopi FT-IR dan NMR Fraksi D2j1c.....	52
4.4.4. Hasil Pemurnian Fraksi E (KCV Kedua) .....	55
4.4.5. Data Spektroskopi FT-IR Fraksi E10a4a .....	59
4.4.6. Data LC-MS Fraksi E10a4a .....	60
4.4.7. Inhibisi Fraksi E10a4a terhadap Enzim $\alpha$ -Amilase .....	63
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN</b> .....	67
5.1. Simpulan.....	67
5.2. Saran.....	67
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	68
<b>LAMPIRAN</b> .....	76
1. Struktur senyawa stilben dari tumbuhan <i>C. lanceolatum</i> (Ito <i>et al.</i> , 2005)..	77
2. Diagram alir penelitian.....	79
3. Perhitungan % Inhibisi Enzim $\alpha$ -Amilase.....	81

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Beberapa genus dari famili Dipterocarpaceae di Indonesia dan jumlah spesiesnya (Purwaningsih, 2004). ....	7
2. Senyawa Stilben Sederhana (Kelompok A) (Xiao <i>et al.</i> , 2008) .....	9
3. Senyawa Stilben Terprenilasi dan Tergeranilasi (Kelompok B) (Xiao <i>et al.</i> , 2008) .....	10
4. Senyawa Stilben Turunan Aril Benzofuran (Kelompok C) (Xiao <i>et al.</i> , 2008) .....	11
5. Senyawa Stilben Tersubstitusi Karbon (Kelompok D) (Xiao <i>et al.</i> , 2008) ...	12
6. Senyawa Stilben Hibrida (Kelompok E) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	13
7. Hasil Analisis Fitokimia Ekstrak Kasar Kayu Raru.....	41
8. Bilangan Gelombang dan Gugus Fungsi pada Sampel D2j1c.....	53
9. Absorbansi sampel pada panjang gelombang 600 nm.....	64
10. Hasil perhitungan % inhibisi sampel terhadap enzim $\alpha$ -amilase.....	65

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Klasifikasi taksonomi famili Dipterocarpaceae (Satiraphan, 2012).....	6
2. Pohon raru ( <i>Cotylelobium melanoxyton</i> Pierre) (Pasaribu, <i>et al.</i> , 2007) .....	8
3. Kerangka umum dua isomer stilben (Ziaullah <i>and</i> Rupasinghe, 2015).....	9
4. Struktur senyawa stilben sederhana (Kelompok A) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	10
5. Struktur senyawa stilben terprenilasi dan tergeranilasi (Kelompok B) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	11
6. Struktur senyawa stilben turunan aril benzofuran (Kelompok C) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	12
7. Struktur senyawa stilben tersubstitusi karbon (Kelompok D) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	13
8. Struktur senyawa stilben hibrida (Kelompok E) (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	14
9. Struktur senyawa stilben tetramer (Xiao <i>et al.</i> , 2008).....	15
10. Struktur senyawa stilben dari kayu tumbuhan <i>C. melanoxyton</i> (Matsuda <i>et al.</i> , 2009).....	16
11. Reaksi resveratrol membentuk radikal fenoksil (Ito, 2020) .....	16
12. Skema Biosintesis senyawa-senyawa oligostilben (Ito <i>et al.</i> , 2005).....	18
13. Diagram Alir Penelitian.....	39
14. Kromatogram KLT ekstrak metanol kayu raru dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar <i>UV</i> 254 nm; b) Sinar <i>UV</i> 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....	42
15. Kromatogram KLT fraksi heksana dan aseton kayu raru dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar <i>UV</i> 254 nm; b) Sinar <i>UV</i> 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....	44
16. Kromatogram KLT fraksi gabungan dari KCV pertama dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar <i>UV</i> 254 nm; b) Sinar <i>UV</i> 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....	45

17. Kromatogram KLT fraksi gabungan dari KCV kedua dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat. ....45
18. Kromatogram KLT gabungan fraksi hasil KK fraksi D' dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....46
19. Kromatogram KLT gabungan fraksi hasil KK kedua Fraksi D' dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....47
20. Kromatogram KLTp fraksi D'B dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm dan b) Sinar *UV* 366 nm.....48
21. Kromatogram KLT noda hasil KLTp fraksi D'B dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....48
22. Kromatogram KLT fraksi D''2 dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....49
23. Kromatogram KLT fraksi hasil KK fraksi D''2 dibawah sinar *UV* 366..... 50
24. Kromatogram KLTp fraksi D2j di bawah sinar *UV* 254 nm. ....50
25. Kromatogram KLT noda hasil KLTp fraksi D2j1 dengan plat silika, fasa gerak aseton-DCM 2:3 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat. ....51
26. Kromatogram KLT fraksi D2j1c di bawah sinar *UV* 254 nm dengan sistem eluen; a) kloroform-metanol 4:1; b) aseton-DCM 2:3; dan c) kloroform-metanol 1:1.....52
27. Spektrum FTIR Sampel D2j1c.....52
28. Spektrum H-NMR dari sampel D2j1c dalam DMSO-d<sub>6</sub>.....54
29. Spektrum H-NMR dan struktur molekul hopeafenol-O-glukosida dari kulit kayu *Anisoptera marginata* (*Dipterocarpaceae*) (Atun, 2009) .....55
30. Kromatogram KLT gabungan fraksi hasil KK fraksi E dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm dan b) Sinar *UV* 366 nm.....56
31. Kromatogram KLT fraksi E10a dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) Sinar *UV* 254 nm; b) Sinar *UV* 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....57
32. Kromatogram KLT; a) hasil KK fraksi E10a dan b) fraksi gabungan hasil KK fraksi E10a.....57

33. Kromatogram KLT fraksi E10a4a dengan plat silika, fasa gerak kloroform-metanol 4:1 di bawah: a) sinar <i>UV</i> 254 nm; b) sinar <i>UV</i> 366 nm; c) menggunakan pereaksi serum sulfat.....	58
34. Spektrum FT-IR dari sampel E10a4a.....	59
35. Kromatogram UPLC-MS dari sampel E10a4a.....	60
36. Spektrum MS pada; a) RT= 6,224 dan b) RT= 7,061.....	61
37. Struktur senyawa vaticanol A, E, G dan viniferol D.....	62
38. Struktur senyawa kotilelofenol.....	63
39. Grafik % inhibisi sampel dengan variasi konsentrasi terhadap enzim $\alpha$ -amilase.....	66

## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Perubahan konsumsi makanan dan gaya hidup manusia menjadi salah satu penyebab meningkatnya penyakit diabetes mellitus (Xiao *and* Högger, 2015). Diabetes melitus (DM) adalah salah satu gangguan metabolisme kronis yang ditandai dengan meningkatnya glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat gangguan kerja dan/atau sekresi insulin. DM merupakan salah satu masalah kesehatan global yang sangat penting, berdasarkan survey yang dilakukan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2019, DM merupakan penyebab kematian tertinggi kesembilan di dunia, dengan kenaikan presentasi yang signifikan sebesar 70% sejak tahun 2000 (WHO, 2020). Federasi Diabetes Internasional (IDF) memperkirakan bahwa jumlah kasus diabetes di dunia diperkirakan akan meningkat dari 285 juta orang pada tahun 2009 menjadi 438 juta orang pada tahun 2030 (Atlas, 2009). Namun, banyak obat antidiabetes yang beredar saat ini menunjukkan tingkat kesembuhan yang terbatas dan efek samping yang berbahaya (Zhao *et al.*, 2018).

Berbagai tingkat resistensi insulin (Pontiroli, 2004) dan hiperglikemia postprandial memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit diabetes tipe 2 dan komplikasi yang terkait (Lee *et al.*, 2012). Sejumlah pendekatan farmakologis telah digunakan untuk mengontrol gula darah berdasarkan mode tindakan yang berbeda seperti stimulasi pelepasan insulin, peningkatan aktivitas transportasi glukosa, penghambatan glukoneogenesis, dan pengurangan absorpsi glukosa dari usus (Thilagam *et al.*, 2013). Sejumlah agen antidiabetes yang tersedia saat ini menimbulkan efek samping yang serius bahkan berakibat fatal

jika dikonsumsi dalam jangka panjang (Lee *et al.*, 2014). Misalnya metformin yang memiliki efek samping antara lain anoreksia, urtikaria, dan hepatitis, sedangkan akarbosa yang dapat menyebabkan infeksi saluran pencernaan dan hepatitis (BPOM, 2015). Dengan demikian, pencarian dan penyelidikan agen hipoglikemik yang lebih efektif dan lebih aman dari sumber alami terus menjadi tantangan bagi para peneliti (Vinayagam *et al.*, 2017).

Senyawa bahan alam, baik dalam bentuk murni atau ekstrak tumbuhan, memiliki peluang dalam mengembangkan penemuan senyawa obat baru karena mampu memberikan struktur senyawa utama yang dapat dimodifikasi sehingga aktivitasnya dapat ditingkatkan atau toksisitasnya dapat dikurangi. Produk dari bahan alam misalnya dari ekstrak tumbuhan memiliki nilai medisinal karena terdapat kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, stilben. Stilben adalah suatu senyawa organik dengan rumus struktur  $C_6H_5CH=CHC_6H_5$  (Xiao *et al.*, 2008), senyawa ini diklasifikasikan sebagai diarilena karena memiliki gugus etilen pada bagian tengah struktur dan dua substituen fenil pada setiap ujung atom karbon-karbon alkenanya. Senyawa turunan stilben banyak dikenal sebagai oligostilbenoid yang merupakan hasil kondensasi dari stilbene atau resveratrol (Ito, 2020).

Sebagian besar senyawa golongan stilben diisolasi dari tumbuhan famili Dipterocarpaceae (Sahidin *et al.*, 2005). Tumbuhan dengan genus *Cotylelobium* termasuk dalam famili Dipterocarpaceae, yaitu termasuk dalam subfamili Dipterocarpoideae yang terdiri dari enam spesies yang tersebar di Asia Tenggara (Ashton, 1982). Salah satu spesies yang dapat dijumpai di Indonesia adalah *Cotylelobium melanoxyton* atau dikenal sebagai tumbuhan raru atau raru tembaga (Pasaribu *et al.*, 2007). Masyarakat Sumatra Utara memanfaatkan daun dan kulit batang tumbuhan raru sebagai obat tradisional untuk pengobatan beberapa penyakit seperti diabetes, malaria, dan diare (Soerianegara dan Lemmens, 1994). Hal ini didukung dengan beberapa penelitian yang mengungkapkan bahwa senyawa golongan stilben mampu meningkatkan sensitivitas insulin pada pasien DM tipe 2 dan tikus diabetes (Zhu *et al.*, 2017). Pasaribu (2011) menguji inhibisi aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak kasar etanol kulit kayu raru yang berasal dari

Kabupaten Tapanuli Tengah, Sumatera Utara. Ekstrak kasar kulit kayu tumbuhan raru tersebut menunjukkan aktivitas inhibisi yang tinggi, yaitu sebesar 94,86%, jika dibandingkan dengan kontrol positif (glukobay) yang memiliki inhibisi sebesar 97,05%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Matsuda *et al.* (2009) menunjukkan keberadaan senyawa stilben dari kayu tumbuhan *C. melanoxylon* yang diperoleh dari Thailand, yaitu melanosilin A, vatikanol G, (+)-ampelopsin F, (+)-isoampelopsin F, dan (+)- $\epsilon$ -viniferin. Pengujian efek senyawa vatikanol G dan ekstrak metanol tersebut menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari tumbuhan *C. melanoxylon* secara signifikan mampu menghambat peningkatan level glukosa pada plasma tikus yang diberi asupan sukrosa pada dosis 250 mg/kg.

Peneliti-peneliti sebelumnya telah menguji efek antidiabetes secara *in vivo* maupun melalui kemampuan inhibisi ekstrak etanol tumbuhan *C. melanoxylon* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase. Berdasarkan kajian literatur tersebut, maka dapat dinyatakan bahwa senyawa stilben mampu berperan sebagai agen antidiabetes yang baik. Namun pengaruh senyawa stilben dalam menghambat kerja enzim  $\alpha$ -amilase dalam mengurai polisakarida menjadi monosakarida belum pernah diteliti. Dengan demikian, pada penelitian ini telah dilakukan pengujian aktivitas antidiabetes melalui uji inhibisi dari fraksi aseton dan hasil fraksinasi lebih lanjut terhadap enzim  $\alpha$ -amilase.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh fraksi aktif yang mengandung senyawa golongan stilben dari kayu raru.
2. Mengetahui jenis senyawa stilben yang terdapat dalam fraksi aktif dari kayu raru.
3. Mengetahui % inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dari fraksi aktif yang mengandung senyawa stilben dari kayu raru.
4. Membandingkan % inhibisi fraksi aseton dan fraksi aktif dari kayu raru terhadap enzim  $\alpha$ -amilase.

### **1.3. Manfaat Penelitian**

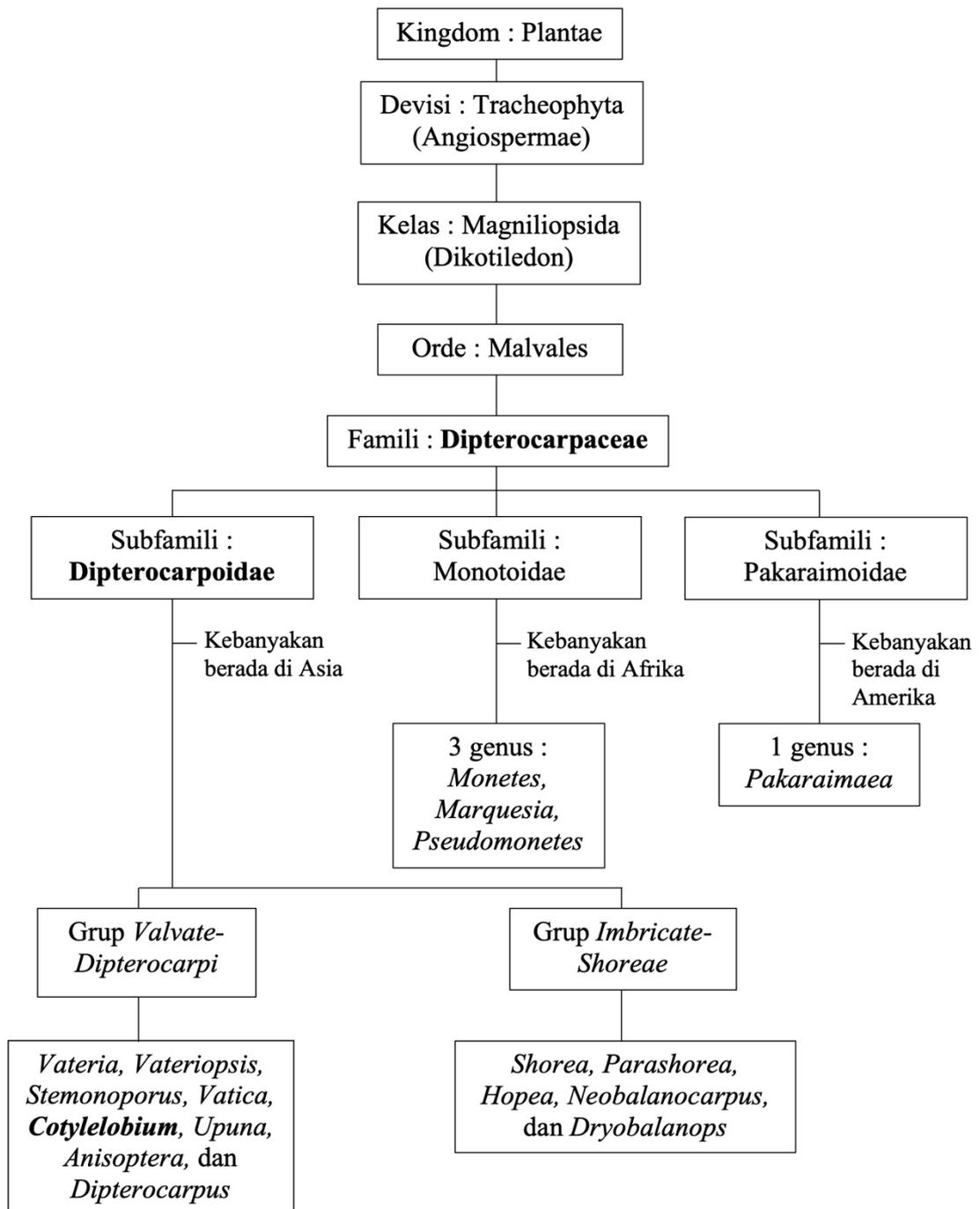
Data yang diperoleh dari penelitian ini dapat digunakan untuk mendukung penelitian senyawa bahan alam yang berpotensi sebagai antidiabetes. Di bidang farmakokimia, hasil penelitian ini dapat juga digunakan sebagai acuan dalam mempertimbangkan senyawa stilben untuk dijadikan kandidat obat diabetes.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Dipterocarpaceae

Dipterocarpaceae merupakan salah satu famili tumbuhan yang cukup besar dengan jumlah spesies di seluruh dunia mencapai 506 spesies (Satiraphan, 2012). Famili ini memiliki letak daun yang tersebar (*alternate*) pada batangnya dan bunga memiliki lima kelopak (Apanah and Turnbull, 1998). Famili Dipterocarpaceae dibagi menjadi tiga subfamili, yaitu Dipterocarpoideae, Monotoideae, dan Pakaraimoideae. Dipterocarpoideae merupakan subfamili terbesar dengan 13 genus dan 470 spesies yang tersebar di Asia, sedangkan subfamili Monotidae memiliki 3 genus dan lebih dari 30 spesies yang berada di Afrika dan Madagaskar, sedangkan subfamili Pakaraimoideae memiliki 1 genus dan 1 spesies yang ditemukan di Amerika Selatan (Satiraphan, 2012) (Gambar 1).

Menurut Ashton (1982), penyebaran famili Dipterocarpaceae di Indonesia tidak merata, semakin ke Timur keberagamannya semakin berkurang, bahkan tidak dijumpai sama sekali. Secara keseluruhan, jumlah tumbuhan Dipterocarpaceae di Indonesia mencapai 238 spesies. Kalimantan dan Sumatera merupakan dua pulau yang memiliki persebaran yang lebih dominan, baik dari populasi ataupun jumlah spesies. Bahkan hutan primer yang saat ini tersisa di Kalimantan disebut sebagai hutan Dipterocarpaceae. Berdasarkan data spesimen yang ada di Herbarium Bogoriense, hutan Kalimantan menyimpan tumbuhan Dipterocarpaceae yang paling banyak di dunia, yaitu sekitar 200 spesies (tidak termasuk Kalimantan Utara), sedangkan di Sumatera ditemukan sekitar 111 spesies (Purwaningsih, 2004).



Gambar 1. Klasifikasi taksonomi famili Dipterocarpaceae (Satiraphan, 2012).

Tabel 1. Beberapa genus dari famili Dipterocarpaceae di Indonesia dan jumlah spesiesnya (Purwaningsih, 2004)

Genus	Jumlah Spesies
<i>Shorea</i>	95
<i>Vatica</i>	35
<i>Dipterocarpus</i>	38
<i>Hopea</i>	44
<i>Anisoptera</i>	7
<i>Parashorea</i>	8
<i>Dryobalanops</i>	7
<i>Cotylelobium</i>	3
<i>Upuna</i>	1
Jumlah	238

Berdasarkan Tabel 1, spesies pada Dipterocarpaceae di Indonesia dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan jumlahnya, yaitu kelompok dalam jumlah spesies yang besar terdiri dari 4 genus yaitu *Shorea*, *Vatica*, *Dipterocarpus*, dan *Hopea*, kelompok ini memiliki jumlah spesies lebih dari 10 jenis. Sedangkan pada kelompok kecil ada 5 genus yaitu *Anisoptera*, *Dryobalanops*, *Parashorea*, *Cotylelobium*, dan *Upuna*.

## 2.2. *Cotylelobium Melanoxylon* (Tumbuhan Raru)

*Cotylelobium melanoxylon* atau dikenal sebagai raru, sebagian besar dimanfaatkan oleh masyarakat Sumatera Utara sebagai campuran minuman tradisional beralkohol (tuak). Hal ini ditujukan untuk mengurangi busa, meningkatkan kadar alkohol dan memperkuat citarasa dari minuman tersebut (Heyne, 1987). Sebagian masyarakat juga memanfaatkan daun dan kulit batang tumbuhan ini sebagai obat tradisional untuk pengobatan beberapa penyakit seperti diabetes, malaria, dan diare (Soerianegara and Lemmens, 1994).

*Cotylelobium* adalah salah satu genus dari famili Dipterocarpaceae yang dapat ditemukan di Sri Lanka, Thailand, Malaysia, dan Indonesia (Appanah and Turnbull, 1998). Pasaribu *et al.*, (2007) menemukan bahwa salah satu tumbuhan baru yang berasal dari Kabupaten Tapanuli Tengah diidentifikasi sebagai *Cotylelobium melanoxyton* Pierre. Lebih lanjut disebutkan bahwa jenis ini memiliki komponen kimia dalam kayu berturut-turut adalah sebagai berikut: hemiselulosa 29,26%, alfa-selulosa 37,35%, lignin 22,26% dan pentosan 17,31%.

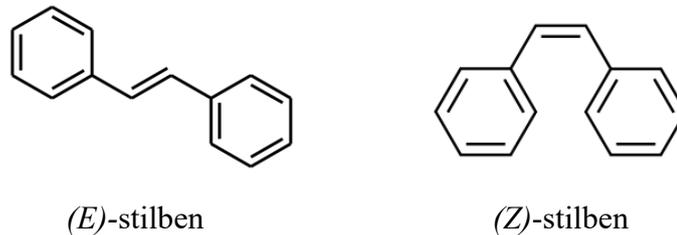


Gambar 2. Pohon baru (*C. melanoxyton*) (Pasaribu *et al.*, 2007).

### 2.3. Stilben

Stilben atau stilbenoid digambarkan sebagai suatu senyawa resveratrol (5-[(*E*)-2-(4-hidroksifenil)-etenil]-benzena-1,3-diol), senyawa golongan ini memiliki beragam aktivitas biologis (Ito *et al.*, 2005). Nama stilben (1,2-difeniletilen) berasal dari bahasa Yunani yaitu stilbos yang berarti bersinar. Stilben merupakan senyawa organik yang memiliki struktur kimia  $C_6H_5CH=CHC_6H_5$ . Ikatan rangkap dua tidak dapat melakukan rotasi secara bebas, maka hanya terdapat dua kemungkinan struktur, yaitu dalam konfigurasi *trans*-(*E*) atau *cis*-(*Z*) (Gambar 3). Senyawa dalam bentuk (*Z*) (*cis*-stilben) memiliki struktur yang lebih terhalang sterik dan kurang stabil, sedangkan (*E*) (*trans*-stilben) tidak terhalang sterik, sehingga di alam biasanya ditemukan dalam bentuk konfigurasi *trans* (Ito *et al.*,

2005). Selama beberapa tahun terakhir, senyawa berbasis stilben telah dipelajari secara ekstensif karena peran biologisnya yang beragam pada manusia (Weiskirchen *and* Weiskirchen, 2016).



Gambar 3. Kerangka umum dua isomer stilben (Ziaullah *and* Rupasinghe, 2015).

### 2.3.1. Klasifikasi Stilben

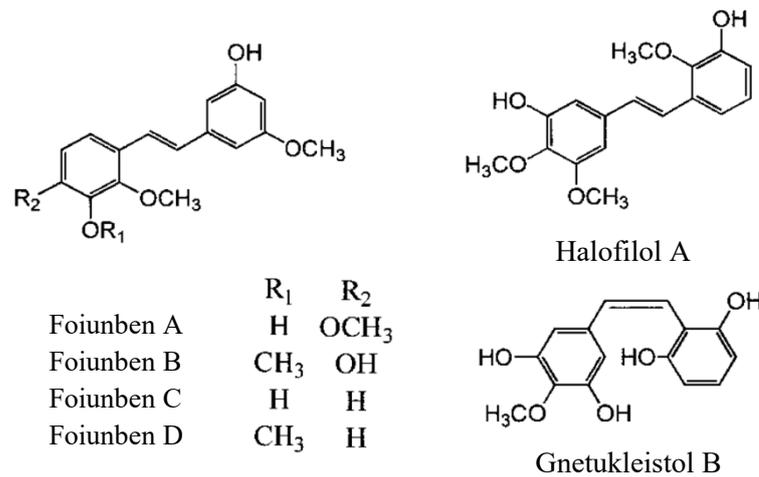
Klasifikasi senyawa golongan stilben dapat dibagi menjadi lima kelompok berdasarkan keberadaan gugus fungsi yang terikat pada kerangka utama stilben, yaitu kelompok A, B, C, D, dan E (Xiao *et al.*, 2008).

#### 2.3.1.1. Kelompok A

Kelompok A merupakan stilben sederhana yang memiliki gugus fungsi oksigen pada cincin aromatik, meliputi turunan metilendioksi, dan glikosida.

Tabel 2. Senyawa Stilben Sederhana (Kelompok A) (Xiao *et al.*, 2008)

Senyawa	Jenis Tumbuhan
foiunben A, B, C, D	<i>Pholidota yunnanensis</i> ROLFE
3,4-dihidroksi-3'-metoksistilben	<i>Marchesina bongardiana</i>
halofilol A	<i>Iris halophila</i>
gnetukleistol B	<i>Gnetum cleistostachyum</i>
3,3',5,5'-tetrametoksi-trans-stilben	<i>Centipeda minima</i>
5,4'-dihidroksi-3-metoksistilben	<i>Rumex bucephalophorus</i>
(Z)-3,5-dihidroksistilben	<i>Alpinia katsumadai</i>



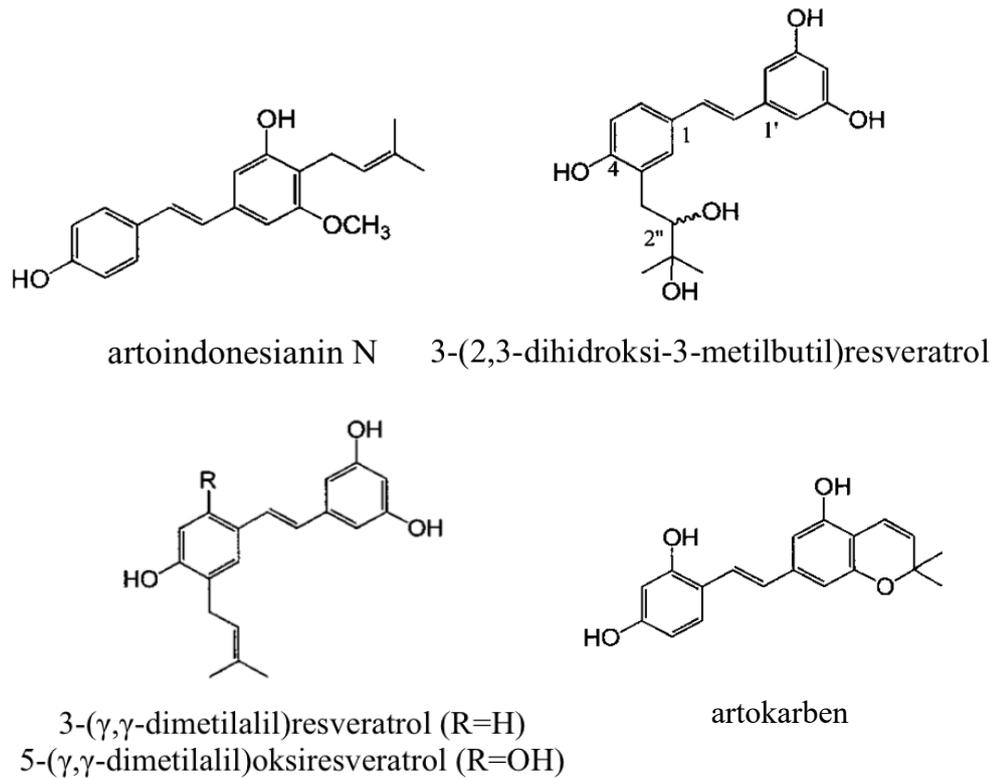
Gambar 4. Struktur Senyawa Stilben Sederhana (Kelompok A)  
(Xiao *et al.*, 2008).

### 2.3.1.1. Kelompok B

Kelompok B merupakan stilben terprenilasi dan tergeranilasi, meliputi posisi substitusi dan termasuk turunan yang tersiklisasi.

Tabel 3. Senyawa Stilben Terprenilasi dan Tergeranilasi (Kelompok B)  
(Xiao *et al.*, 2008)

Senyawa	Jenis Tumbuhan
artoindonesianin N	<i>Artocarpus gomezianus</i>
3-(2,3-dihidroksi-3-metilbutil)resveratrol	<i>Artocarpus dadah</i>
3-( $\gamma,\gamma$ -dimetilalil)resveratrol	<i>Artocarpus dadah</i>
5-( $\gamma,\gamma$ -dimetilalil)oksiresveratrol	<i>Artocarpus dadah</i>
artokarben	<i>Artocarpus incisus</i>
kirikanin A, B, C, D, E	<i>Lonchocarpus chiricanus</i>



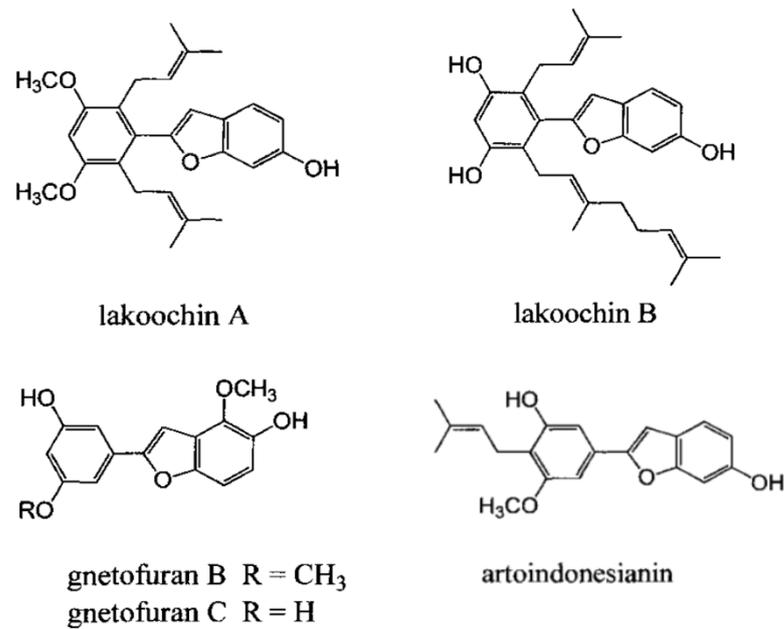
Gambar 5. Struktur Senyawa Stilben Terprenilasi dan Tergeranilasi (Kelompok B) (Xiao *et al.*, 2008).

### 2.3.1.3. Kelompok C

Kelompok C merupakan turunan aril benzofuran.

Tabel 4. Senyawa Stilben Turunan Aril Benzofuran (Kelompok C) (Xiao *et al.*, 2008)

Senyawa	Jenis Tumbuhan
gnetofuran B dan C	<i>Gnetum klossii</i>
lakoochin A dan B	<i>Artocarpus lakoocha</i>
artoindonesianin	<i>Artocarpus gomezianus</i>
3-( $\gamma,\gamma$ -dimetilpropil)morasin M	<i>Artocarpus dadah</i>



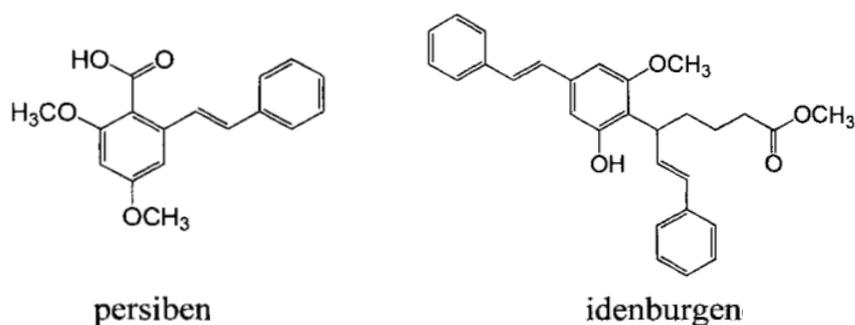
Gambar 6. Struktur Senyawa Stilben Turunan Aril Benzofuran (Kelompok C) (Xiao *et al.*, 2008).

#### 2.3.1.4. Kelompok D

Kelompok D merupakan stilben tersubstitusi karbon selain yang terprenilasi dan tergeranilasi, C-glukosida dan yang ada pada kelompok C.

Tabel 5. Senyawa Stilben Tersubstitusi Karbon (Kelompok D) (Xiao *et al.*, 2008)

Senyawa	Jenis Tumbuhan
idenburgen	<i>Cryptocarya idenburgensis</i>
gnetupendin A	<i>Gnetum pendulum</i>
gnetupendin B	<i>Gnetum pendulum</i>
persiben	<i>Polygonum persicaria</i> L.



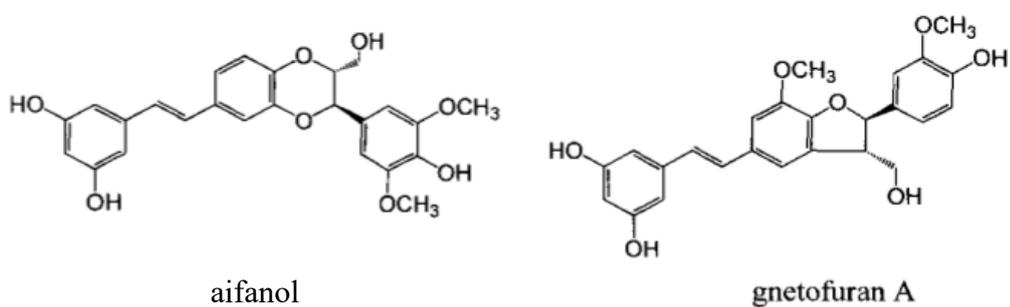
Gambar 7. Struktur Senyawa Stilben Tersubstitusi Karbon (Kelompok D) (Xiao *et al.*, 2008).

### 2.3.1.5. Kelompok E

Kelompok E merupakan stilben hibrida lain yang tidak dapat diklasifikasikan dalam kelompok A, B, C, dan D.

Tabel 6. Senyawa Stilben Hibrida (Kelompok E) (Xiao *et al.*, 2008)

Senyawa	Jenis Tumbuhan
aifanol (kerangka stilbenolignan)	<i>Aiphanes aculeata</i>
gnetofuran A	<i>Gnetum klossii</i>
scherinfurtin A, B, D	<i>Macaranga schweinfurtii</i>
gnetumontanin C dan D	<i>Gnetum montanum f. megalocarpum</i>

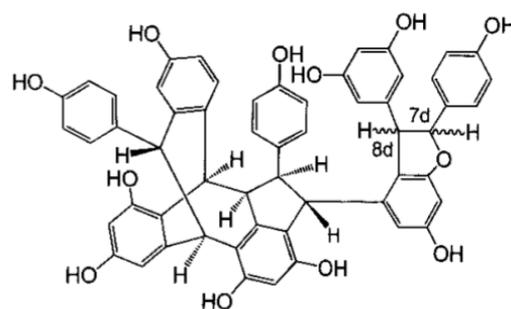


Gambar 8. Struktur Senyawa Stilben Hibrida (Kelompok E) (Xiao *et al.*, 2008)

Stilben oligomer atau oligostilben adalah kelompok senyawa yang memiliki lebih dari satu kerangka stilben dalam satu senyawa. Saat ini oligostilben alami terkondensasi paling banyak merupakan suatu oktamer yaitu vateria A yang diisolasi dari kulit batang *Vateria indica* (Dipterocarpaceae) oleh Ito *et al.* (2001). Famili Dipterocarpaceae, Gnetaceae, dan Vitaceae menyumbangkan struktur

senyawa oligostilben dengan jumlah yang cukup signifikan. Sedangkan sumber oligostilben paling banyak ditemukan dalam genus *Vatica* (Dipterocarpaceae). Identifikasi struktur dan karakterisasi NMR dari senyawa oligostilben masih menjadi suatu hal yang sulit dipelajari karena struktur yang rumit dan terkadang memiliki stereokimia dengan beberapa diastereomer sehingga sukar dipahami, misal epimer vatikanol B dan isovatikanol B, serta enantiomer (-)-isohopeafenol dan (+)-hopeafenol (Xiao *et al.*, 2008).

Sotheeswaran *and* Pasupathy (1993) memaparkan senyawa-senyawa oligostilben dari tumbuhan dan membaginya menjadi dua kelompok. Kelompok A adalah senyawa yang setidaknya memiliki satu cincin benzofuran lima anggota, biasanya *trans*-2-aryl-2,3-dihydrobenzofuran. Oligostilben yang termasuk dalam kelompok ini adalah suatu dimer ( $\epsilon$ -viniferin, balanocarpol, gnetin F dan gnetin G), trimer ( $\alpha$ -viniferin, distikol, kanalikulatol, gnetin H dan I), dan tetramer (hopeafenol, vaticafinol, kobofenol A dan B). Sedangkan kelompok B adalah senyawa yang tidak memiliki cincin heterosiklik oksigen, misal stilben siklodimerik dan tetralin. Xiao *et al.*, (2008) menambahkan kelompok C, yaitu senyawa yang memiliki cincin heterosiklik oksigen selain cincin benzofuran, misalnya 1,4-dioksan dan benzopiran. Beberapa contoh senyawa oligostilben yang ditemukan dalam genus *Cotylelobium* yaitu; stilben dimer: (+)-ampelopsin F dan (+)-isoampelopsin F (Gambar 10), stilben trimer: kotilelofenol A dan B (Lampiran 1), dan stilben tetramer: kotilelofenol C (Gambar 9) dan vatikanol G (Gambar 10).



Kotilelofenol C

Gambar 9. Struktur senyawa stilben tetramer (Xiao *et al.*, 2008).

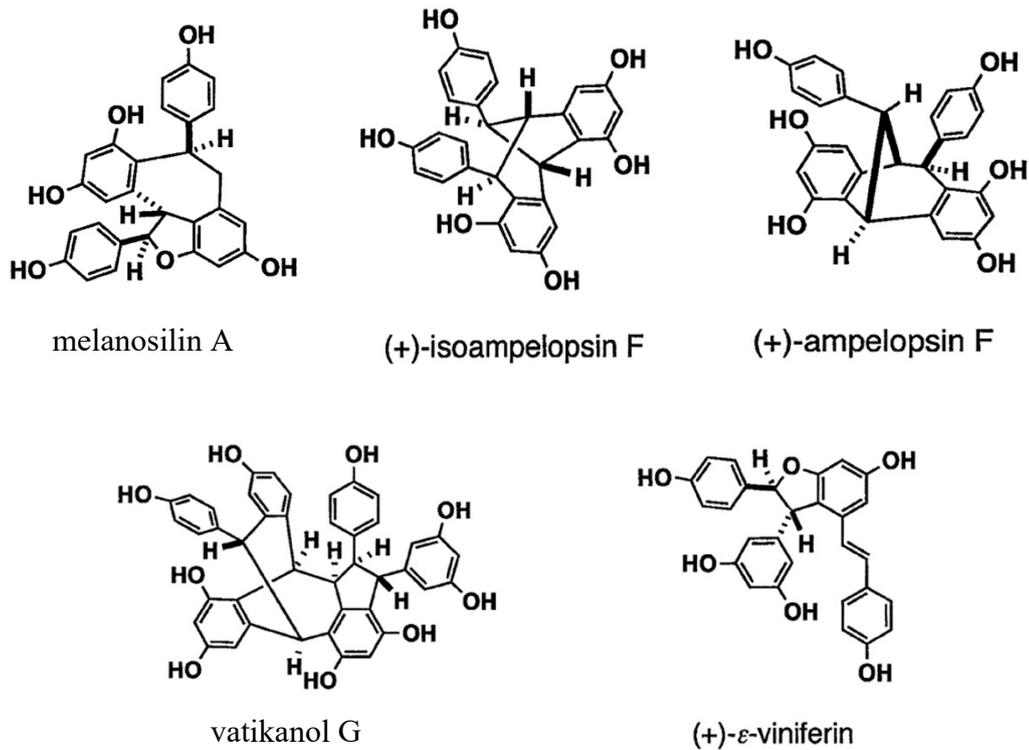
### 2.3.2. Stilben dalam Famili Dipterocarpaceae

Dari segi kimia, famili tumbuhan ini sebagian besar dilaporkan mengandung oligostilbenoid. Senyawa ini terbentuk melalui kopling oksidatif antara radikal bebas stilben resveratol (*E*-3,5,4'-trihidroksi stilben) membentuk dimer, trimer sampai oktamer. Di samping itu, senyawa terpenoid, flavonoid, arilpropanoid dan turunan asam galat juga diidentifikasi terdapat dalam famili ini. Senyawa golongan oligostilben merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan pada famili Dipterocarpaceae (Atun, 2009). Senyawa-senyawa ini memiliki struktur molekul yang bervariasi sehingga menunjukkan aktivitas biologis yang menarik seperti: antioksidan (Pasaribu dan Setyawati, 2011), antidiabetes (Matsuda *et al.*, 2009), antibakteri (Idrumsa *et al.*, 2018), dan antikanker (Kamarozaman *et al.*, 2013).

Senyawa oligostilben yang hampir selalu ada dalam tiap spesies Dipterocarpaceae adalah  $\epsilon$ -vinerin dan hopeanol, masing-masing merupakan dimer resveratol dan tetramer resveratrol. Senyawa  $\epsilon$ -viniferin secara biogenetik dianggap sebagai prekursor yang merupakan senyawa intermediet untuk pembentukan hampir semua oligostilben, sehingga diusulkan sebagai *chemical marker* dari famili tumbuhan ini. Sedangkan hopeafenol juga hampir selalu ditemukan dalam setiap spesies Dipterocarpaceae (Ito *et al.*, 2005).

### 2.3.3. Stilben dalam Genus *Cotylelobium*

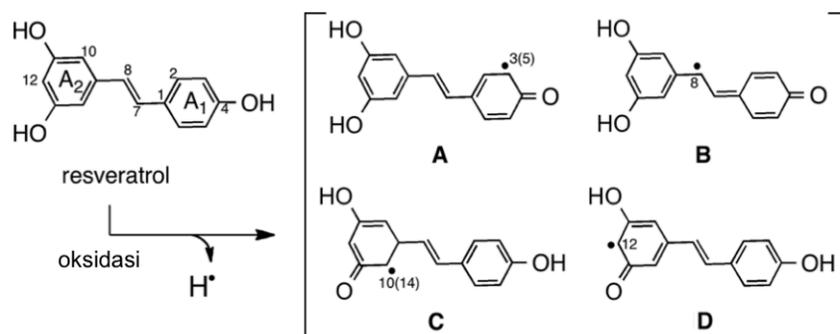
Matsuda *et al.* (2009) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi satu senyawa stilben dimer baru, melanosilin A, bersamaan dengan empat turunan stilben lain, yaitu vaticanol G, (+)-ampelopsin F, (+)-isoampelopsin F, dan (+)- $\epsilon$ -viniferin dari kayu batang *C. melanoxylon* (Gambar 9). Dua stilben trimer ditemukan dari tumbuhan *C. lanceolatum*, yaitu kotilelofenol A dan B, bersama dengan sepuluh oligomer resveratrol lain, yaitu vaticanol G, A, B, C, D, H, I, J, pauciflorol A, dan (-)- $\epsilon$ -viniferin. Senyawa kotilelofenol A merupakan resveratrol trimer pertama yang mengalami penataan ulang pada gugus hidroksifenil (Ito *et al.*, 2005).



Gambar 10. Struktur senyawa stilben dari kayu tumbuhan *C. melanoxylon* (Matsuda *et al.*, 2009).

### 2.3.4. Biosintesis Senyawa Turunan Stilben

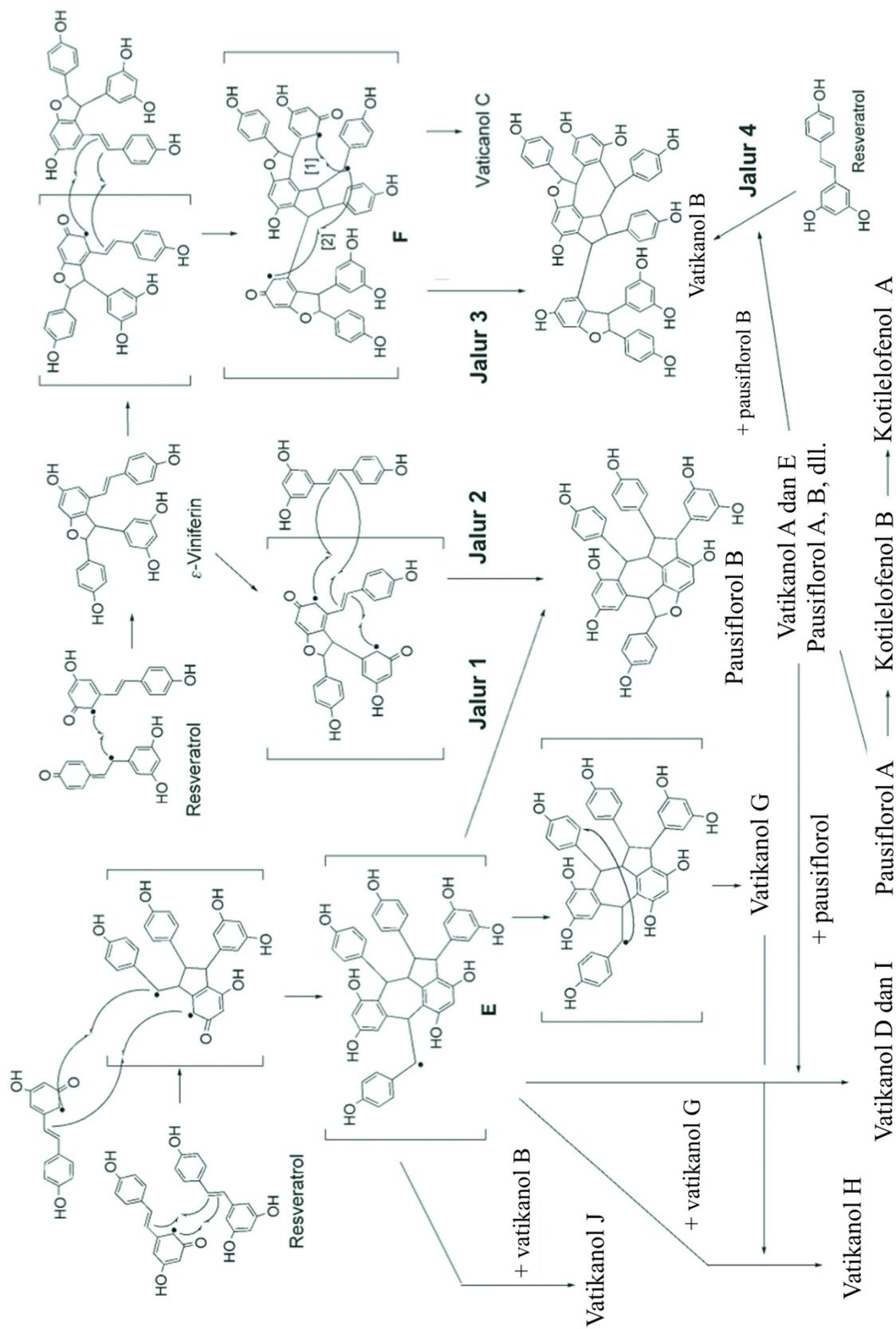
Oligostilben yang diisolasi dari *C. lanceolatum* (Gambar 10) diperoleh dari kopling oksidatif berturut-turut dari suatu monomer resveratrol dan/atau  $\epsilon$ -viniferin (dimer). Biosintesis diawali dengan kopling senyawa radikal (Ito, 2020), seperti yang digambarkan pada skema Gambar 11.



Gambar 11. Reaksi resveratrol membentuk radikal fenoksil (Ito, 2020)

Reaksi biosintesis senyawa stilben secara keseluruhan terdapat pada Gambar 12. Tiga unit resveratrol radikal mengalami kopling oksidatif membentuk senyawa radikal intermediet E, diikuti dengan pembentukan cincin dihidrobenzofuran pada langkah terakhir membentuk pauciflorol B (Jalur 1). Pada jalur lain melibatkan kopling suatu dimer  $\epsilon$ -viniferin, yang memiliki cincin dihidrobenzofuran, dengan resveratrol (Jalur 2). Seperti yang dijelaskan Sotheeswaran *and* Pasupathy (1993), secara biogenetik oligostilben dibedakan menjadi dua kelompok berdasarkan keberadaan cincin dihidrobenzofuran. Kelompok A merupakan senyawa yang memiliki cincin dihidrobenzofuran yang dapat dikaitkan dengan cincin yang ada pada (-)- $\epsilon$ -viniferin. Dengan demikian, biosintesis senyawa-senyawa yang berada pada kelompok A melibatkan Jalur 1 dan 2. Artinya, senyawa antara berupa radikal trimerik yang dilambangkan dengan E berpartisipasi dalam pembentukan cincin furan selain  $\epsilon$ -viniferin, dengan alasan struktur antara E cenderung berpasangan dengan unit resveratrol lainnya.

Pada kasus oligomer resveratrol pada tumbuhan *C. lanceolatum*, radikal E digabungkan dengan vatikanol G dan B menghasilkan pembentukan vatikanol H dan J. Ketika E digabungkan dengan pauciflorol B maka terbentuk senyawa vatikanol D dan I. Vatikanol G adalah konstituen utama dari tanaman ini, dan dibiosintesis melalui radikal trimerik E. Ini adalah contoh langka dari trimer resveratrol yang tidak memiliki cincin dihidrobenzofuran (Ito *et al.*, 2005). Selain Jalur 1 dan 2, terdapat dua rute lain (Jalur 3 dan 4) dapat diusulkan untuk pembentukan oligostilben (oligomer resveratrol). Vatikanol B, yang merupakan tetramer resveratrol utama, memiliki kerangka indane (C<sub>6</sub>-C<sub>5</sub>) yang khas. Sehingga biosintesis diduga dapat dibangun melalui radikal intermediet F (Jalur 3), yang mencakup reaksi kondensasi sepasang  $\epsilon$ -viniferin. Di Jalur 4, penggabungan pauciflorol B dengan resveratrol terjadi membentuk vatikanol B. Ketika keberadaan vatikanol B dan C sebagai produk utama dipertimbangkan, maka rute yang lebih disukai untuk senyawa vatikanol B adalah Jalur 3.



Gambar 12. Skema biosintesis senyawa-senyawa oligostilben (Ito *et al.*, 2005).

Senyawa pauciflorol A dapat dianggap sebagai prekursor senyawa kotilelofenol A dan B. Meskipun mekanismenya belum jelas, kotilelofenol B diproduksi melalui pauciflorol A, dan kerangka kotilelofenol A diperoleh melalui penataan ulang cincin A<sub>1</sub> setelah beberapa konversi, termasuk oksidasi pauciflorol A.

Pertimbangan ini cukup merasionalisasi biosintesis dari tiga sistem bisiklik yang berbeda, yaitu : dibenzobisiklo[3.2.1]oktadiena (untuk vaticanol C), dibenzobisiklo[3.3.0]oktadiena (untuk vaticanol A dan B, kotilelofenol A dan B, serta pausiflorol A), dan tribenzobisiklo[3.3.2]oktatriena (untuk vaticanol G dan H) (Ito *et al.*, 2005).

Berdasarkan biosintesis tersebut, maka akan menghasilkan keberagaman struktur oligostilben yang tinggi, di alam biasanya dijumpai dalam bentuk dimer-tetramer, namun oligomer yang lebih tinggi juga ditemukan. Dimerisasi merupakan langkah awal dari jalur biosintesis senyawa kimia secara global. Oligostilben pada Dipterocarpaceae mengalami biosintesis secara regioselektif melalui kopling oksidatif suatu resveratrol menghasilkan radikal fenoksil (A-D) (Gambar 11) (Ito, 2020). Secara stereokimia, karbon asimetris yang ada pada struktur resveratrol sebanding dengan derajat oligomerisasi, misalnya, dalam banyak kasus, dimer dan tetramer resveratrol masing-masing memiliki empat dan delapan atom kiral. Senyawa  $\epsilon$ -viniferin adalah salah satu resveratrol dimer yang paling melimpah, yang telah diisolasi dari sebagian besar keluarga tanaman yang mengandung oligostilben, seperti Dipterocarpaceae, Vitaceae, Cyperaceae, Fabaceae, Paeoniaceae, dan Gnetaceae, di antaranya ditemukan dalam bentuk enansiomer (R) atau (-). Masalah stereokimia ini sangat penting dalam mempertimbangkan konfigurasi absolut senyawa yang nantinya akan berkaitan dengan aktivitas farmakologi dan toksisitasnya. Keragaman struktur oligostilben nantinya dapat dikaitkan dengan variasi kerangka dan adanya stereoisomerisme (Ito, 2020).

### 2.3.5. Bioaktivitas Senyawa Stilben

Resveratrol adalah stilbenoid paling populer dan paling banyak dipelajari hingga saat ini. Hal ini dikarenakan jumlah aktivitas biologis yang dimiliki resveratrol; seperti antioksidan (Gülçin, 2010), antitumor (Khan *et al.*, 2016), antivirus (Yiu *et al.*, 2010), dan anti-inflamasi (Tili *et al.*, 2010). Resveratrol memainkan perannya dalam memperpanjang rentang hidup melalui mekanisme pembatasan kalori dan karena mampu mengatur metabolisme (Bonkowski *and* Sinclair, 2016). Studi terbaru ini menunjukkan bahwa resveratrol adalah agen antidiabetes dan obat-obatan yang mirip dengan resveratrol dianggap dapat digunakan sebagai terapi tambahan yang efektif untuk pengobatan diabetes mellitus tipe 2 (Sharma *et al.*, 2011).

Menurut Milne *et al.* (2007), resveratrol dapat memperbaiki resistensi insulin, dimana infus resveratrol secara intracerebroventrikular jangka panjang diketahui menormalkan hiperglikemia dan sangat meningkatkan hiperinsulinemia pada tikus diabetes (Ramadori *et al.*, 2009). Senyawa ini adalah senyawa stilben yang diperoleh dari beberapa spesies tanaman dan terbukti memberikan banyak efek menguntungkan, termasuk pencegahan diabetes dan pengurangan beberapa komplikasi diabetes pada tikus eksperimental yang diinduksi streptozotocin (Sharma *et al.*, 2006) serta streptozotocin-nicotinamide (STZ-NAD) (Palsamy *and* Subramanian, 2008).

Beberapa stilben lain juga memiliki aktivitas antidiabetes, Pasaribu (2011) telah melakukan penelitian untuk menguji inhibisi aktivitas  $\alpha$ -glukosidase pada ekstrak kasar kulit kayu *C. melanoxylon* secara *in vitro*. Pengujian inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dilakukan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes dari ekstrak tersebut. Ekstrak kasar tumbuhan *C. melanoxylon* memiliki aktivitas inhibisi sebesar 94,86 %, jika dibandingkan dengan kontrol positif (glukobay) yang memiliki inhibisi sebesar 97,05 %, maka ekstrak kasar *C. melanoxylon* menunjukkan aktivitas inhibisi yang sangat baik. Selain itu, Idramsa *et al.* (2018) melakukan penelitian terhadap isolat bakteri endofitik ER-2 dari jaringan batang

tumbuhan *C. melanoxyton* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan tingkat inhibisi tergolong medium.

Penelitian yang dilaporkan oleh Matsuda *et al.* (2009) menunjukkan senyawa dengan rendemen terbanyak yang diperoleh dari kayu *C. melanoxyton* adalah vaticanol G dan  $\epsilon$ -viniferin. Kedua senyawa tersebut juga telah ditemukan sebelumnya pada tumbuhan lain dan telah diuji bioaktivitasnya. Senyawa *trans*- $\epsilon$ -viniferin dan *cis*- $\epsilon$ -viniferin dari tumbuhan *Paeonia lactiflora* menunjukkan sifat sitotoksik melawan sel HeLa (sel epitel dari kanker serviks) dan sel MCF-7 (sel kanker payudara pada manusia), dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 20,4 dan 21,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  (Kim, 2002). Sahidin *et al.* (2005) melakukan uji sitotoksik terhadap sel leukemia P-388 pada senyawa (+)- $\epsilon$ -viniferin, hasilnya menunjukkan adanya kemampuan sitotoksik yang medium dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $25,8 \pm 0,7 \mu\text{M}$ . Uji kemampuan oksidatif pada senyawa  $\epsilon$ -viniferin dari *Vatica pauciflora* dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa ini dalam melindungi sel liver Chang dari kerusakan oksidatif yang diinduksi dengan hidrogen peroksida, hasilnya senyawa  $\epsilon$ -viniferin menunjukkan kemampuan antioksidan yang tinggi dalam melindungi sel liver Chang dari kerusakan oksidatif (Kamarozaman *et al.*, 2013).

Fraksi metanol dari ekstrak kayu *C. melanoxyton* ditemukan secara signifikan mampu menghambat peningkatan level glukosa pada plasma tikus yang diberi asupan sukrosa pada dosis 250 mg/kg, *per os* (*p.o.*). Sedangkan senyawa vaticanol G yang diperoleh dari fraksi tersebut diketahui memiliki kemampuan menghambat kenaikan glukosa darah pada dosis 50 mg/kg, *p.o.* (Matsuda *et al.*, 2009). Vaticanol G yang diperoleh dari *Hopea nigra* memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong aktif sebagai penangkap radikal bebas dengan metode Halliwel, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 683,96  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Namun pada uji antikanker terhadap sel HeLa ternyata tidak menunjukkan aktivitas antikanker (Atun *et al.*, 2008).

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa senyawa stilbenoid yang berasal dari famili yang sama, yaitu (-)-hopeafenol dan analognya vatalbinoside A dan vaticanol B, mampu menghambat SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome*

*Coronavirus 2*) varian B.1.1.7 (“varian Inggris”) dan B.1.351 (“Afrika Selatan”) dengan menghalangi interaksi *spike* protein virus dengan reseptor ACE2 seluler. Hasil ini memberikan informasi bahwa senyawa analog stilbenoid lain yang memiliki struktur yang mirip dengan (–)-hopeafenol berpotensi sebagai penghambat masuknya virus yang kuat dan selektif di beberapa varian SARS-CoV-2, termasuk peningkatan infektivitas dan/atau penurunan kerentanan terhadap vaksin yang ada (Tietjen *et. al*, 2021).

## **2.4. Ekstraksi dan Pemisahan Senyawa Stilben**

### **2.4.1. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa atau komponen pada suatu sampel menggunakan pelarut yang sesuai, prinsip ekstraksi yaitu didasarkan pada distribusi senyawa yang terlarut (Khopkar, 2003).

#### **2.4.1.1. Ekstraksi Padat-Cair**

Proses ekstraksi sangat diperlukan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan (Lenny, 2006). Hasil ekstraksi dengan metode maserasi menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan rendemen dengan metode refluks. Rendemen ekstrak dengan metode maserasi *C. melanoxylon* adalah sebesar 30,11 %. Sementara rendemen dengan metode refluks adalah sebesar 4,35 % (Pasaribu, 2011). Metode maserasi dipilih untuk ekstraksi kayu tumbuhan *C. melanoxylon* untuk mendapatkan ekstrak kayu yang lebih banyak. Ito *et. al* (2005) melakukan ekstraksi dari batang tumbuhan *C. lanceolatum* dengan pelarut aseton, sampel tumbuhan diperoleh dari Kebun Raya Bogor, Indonesia. Penelitian tersebut berhasil mengisolasi dua stilben trimer baru, kotilelofenol A dan B, bersamaan dengan sepuluh oligomer stilben lain yang sudah diketahui sebelumnya yaitu vatikanol G, A, B, C, D, H, I, dan J.

Pada proses ekstraksi padat-cair diperlukan kontak yang cukup lama antara sampel padat dan pelarut yang digunakan. Proses ini sangat umum digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa yang terdapat dalam sampel bahan alam. Sampel bahan alam yang digunakan juga berperan untuk menentukan keberhasilan proses ekstraksi, misalnya ukuran partikel bahan yang dipakai. Bahan yang akan digunakan dalam proses ekstraksi sebaiknya berukuran seragam agar mempermudah kontak antara pelarut dan bahan sehingga proses ekstraksi dapat berlangsung sempurna (Sudarmadji *et al.*, 1996).

#### **2.4.1.2. Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)**

Menurut Khopkar (2003), ekstraksi cair-cair merupakan salah satu metode ekstraksi berdasarkan sifat kelarutan komponen atau senyawa target dan distribusinya dalam dua pelarut yang tidak saling campur. Senyawa polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa semipolar akan terlarut dalam pelarut semipolar, dan senyawa non-polar akan larut pada pelarut non-polar. Ekstraksi ini dilakukan secara bertahap dengan corong pisah, campuran dua pelarut akan membentuk lapisan dengan berat jenis (densitas) lebih besar akan berada pada lapisan bawah.

Ketika larutan ditempatkan dalam corong pemisah dan diguncang dengan pelarut yang tidak bercampur, pelarut terpisah menjadi kedua lapisan. Komponen dikatakan "partisi" di antara dua lapisan, atau mendistribusikan diri di antara dua lapisan. Ketika kesetimbangan telah terbentuk, rasio konsentrasi zat terlarut di setiap lapisan adalah konstan untuk setiap sistem, dan ini dapat diwakili oleh nilai  $K_D$  (disebut koefisien partisi atau koefisien distribusi). Koefisien partisi ( $K_D$ ) adalah rasio konsentrasi senyawa dalam lapisan organik dibandingkan dengan lapisan air. Biasanya dilakukan beberapa kali ekstraksi untuk mengisolasi senyawa yang diinginkan, karena metode ini lebih efisien daripada ekstraksi tunggal. Pada prosedur ekstraksi berulang, sejumlah pelarut digunakan untuk mengekstraksi satu lapisan (biasanya pelarut air) beberapa kali berturut-turut. Ekstraksi diulang dua hingga tiga kali, atau mungkin lebih banyak lagi jika

senyawa tersebut memiliki koefisien partisi yang rendah dalam pelarut organik (Nichols, 2019).

#### 2.4.2. Pemisahan secara Kromatografi

Prinsip pemisahan kromatografi yaitu adanya distribusi komponen-komponen dalam fasa diam dan fasa gerak berdasarkan perbedaan sifat fisik komponen yang akan dipisahkan. Kromatografi dapat digunakan untuk analisa kualitatif dan kuantitatif. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fasa yaitu fasa diam (*stationer*) dan fasa gerak (*mobile*) (Ardianingsih, 2009). Persyaratan utama kromatografi adalah sebagai berikut :

- a. Ada fasa diam dan fasa gerak.
- b. Fasa diam tidak boleh bereaksi dengan fasa gerak.
- c. Komponen sampel (contoh) harus larut dalam fasa gerak dan berinteraksi dengan fasa tetap (diam).
- d. Fasa gerak harus bisa mengalir melewati fasa diam, sedangkan fasa diam harus terikat kuat di posisinya.

Pemisahan dengan metode kromatografi dilakukan dengan memanfaatkan sifat-sifat fisik dari sampel, seperti kelarutan, adsorpsi, keatsirian dan kepolaran.

Kromatografi merupakan metode pemisahan suatu senyawa yang didasarkan atas perbedaan laju perpindahan dari komponen-komponen dalam campuran. Sehingga metode kromatografi ini didefinisikan sebagai pemisahan berdasarkan distribusi senyawa dalam fasa gerak dan fasa diam (Murniasih, 2003). Pelarut murni atau sistem pelarut tunggal dapat digunakan untuk mengelusi semua komponen. Selain itu, sistem gradien pelarut juga digunakan. Pada elusi gradien, polaritas sistem pelarut ditingkatkan secara perlahan dengan meningkatkan konsentrasi pelarut ke yang lebih polar. Pemilihan pelarut eluen tergantung pada jenis adsorben yang digunakan dan kemurnian senyawa yang dipisahkan. Pelarut harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Keberadaan pengganggu seperti air, alkohol, atau asam pada pelarut yang kurang polar akan mengganggu aktivitas adsorben (Braithwaite and Smith, 1995).

Kromatografi digunakan pada beberapa teknik pemisahan berdasarkan pada medium migrasi yang berbeda, yaitu distribusinya terhadap fasa diam dan fasa gerak. Pada teknik ini harus terdapat medium perpindahan tempat, yaitu tempat terjadinya pemisahan. Kemudian harus terdapat gaya dorong agar spesies dapat berpisah sepanjang medium migrasi dan harus terdapat gaya tolakan selektif. Gaya tolakan selektif ini yang menyebabkan pemisahan komponen dari bahan kimia (Sienko *and* Marcus, 1984).

#### 2.4.2.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis adalah metode untuk menganalisis campuran dengan memisahkan senyawa dalam campuran berdasarkan kepolaran. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah komponen dalam campuran, identitas senyawa, dan kemurnian senyawa, juga dapat digunakan untuk memantau kemajuan reaksi, serta mengidentifikasi kondisi pelarut yang tepat untuk pemisahan kolom kromatografi. Umumnya dilakukan pada plat silika-gel F<sub>254</sub> menggunakan eluen campuran pelarut organik dengan perbandingan tertentu sebagai fasa gerak (Linda, 1994).

Kromatografi lapis tipis merupakan suatu teknik pemisahan komponen-komponen campuran senyawa-senyawa yang melibatkan partisi suatu senyawa di antara padatan penyerap (*adsorben*, fasa diam) yang dilapiskan pada pelat kaca atau aluminium dengan suatu pelarut (fasa gerak) yang mengalir melewati fasa diam. Setelah sampel di-*spot* pada plat KLT, plat diletakan di dalam bejana tertutup rapat (*chamber*) yang berisi larutan organik yang sesuai (fasa gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Pengaliran pelarut ini juga dikenal sebagai proses elusi. KLT merupakan teknik analisis yang cepat dan sederhana, sehingga mempunyai peranan penting dalam pemisahan senyawa-senyawa yang volatilitasnya relatif rendah, baik senyawa organik maupun senyawa anorganik (Khopkar, 2003). Selanjutnya dapat dihitung nilai *Retention factor* (Rf) dengan Persamaan 1.

$$R_f = \frac{J_s}{J_p} \quad (1)$$

Keterangan :  $J_s$  = jarak yang ditempuh senyawa

$J_p$  = jarak yang ditempuh pelarut

#### 2.4.2.2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Kromatografi cair vakum merupakan salah satu metode yang digunakan dalam tahap pemurnian suatu ekstrak kasar dengan cara memisahkan komponen menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana dengan bantuan pompa vakum. Fasa diam yang digunakan dapat berupa silika gel atau aluminium oksida (Ghiasalberti, 2008).

Kamarozaman *et al.* (2013) menggunakan teknik KCV dengan eluen heksana-etil asetat untuk memperoleh senyawa  $\epsilon$ -viniferin dan vatikanol G.

KCV dilakukan dengan kondisi vakum secara berkelanjutan, pada tekanan yang rendah maka laju alir fasa gerak (pelarut) akan semakin meningkat, sehingga proses elusi sampel pada kolom akan lebih cepat. Elusi dimulai dari pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang rendah, kemudian kepolaran ditingkatkan dengan gradien tertentu (Hostettmann *et al.*, 1995).

#### 2.4.2.3. Kromatografi Kolom (KK)

Fasa berdasarkan perbedaan adsorpsi ada dua jenis yaitu fasa normal yang bersifat polar dan fasa terbalik (*reversed phase*) yang bersifat non polar. Pada fasa normal yang kepolarannya paling rendah atau non polar akan keluar (terelusi) paling awal dan yang paling polar akan terelusi paling akhir. Konsep pemilihan fasa diam adalah berdasarkan kepolaran komponen-komponen yang akan dipisahkan yaitu fasa normal untuk yang polar dan fasa terbalik untuk yang non polar.

Kromatografi yang dilakukan dalam kolom besar merupakan metode kromatografi terbaik untuk pemisahan dalam jumlah besar (lebih dari 1 g). Pada kromatografi kolom, campuran yang akan dipisahkan diletakkan berupa pita pada bagian atas kolom penyerap yang berada dalam tabung kaca, tabung logam, dan tabung

plastik. Pelarut atau fasa gerak dibiarkan mengalir melalui kolom karena aliran yang disebabkan oleh gaya berat atau didorong dengan tekanan. Pita senyawa pelarut bergerak melalui kolom dengan laju yang berbeda, memisah, dan dikumpulkan berupa fraksi ketika keluar dari kolom (Firdaus, 2011).

Matsuda *et al.* (2009) berhasil mengisolasi senyawa vatikanol G dari ekstrak metanol kayu *C. melanoxylon* yang dimurnikan dengan kromatografi kolom silika gel dengan eluen  $\text{CHCl}_3$ -metanol- $\text{H}_2\text{O}$  (10:3:1  $\rightarrow$  7:3:1  $\rightarrow$  6:4:1) dan metanol, kemudian dari ekstrak yang sama diperoleh (+)- $\epsilon$ -viniferin dengan kolom ODS, eluen metanol- $\text{H}_2\text{O}$  (1:1). Senyawa (-)- $\epsilon$ -viniferin (10 mg) diperoleh dari fraksi utama kulit batang *Anisoptera marginata* (390 mg) yang difraksinasi dengan metode kromatografi radial, menggunakan eluen  $\text{CHCl}_3$ -metanol (Atun, 2009). Metode yang sama digunakan untuk memperoleh senyawa (+)- $\epsilon$ -viniferin (10 mg) dari ekstrak aseton *Hopea dryobalanoides*. dengan eluen *n*-heksana-EtOAc (1:1) dan *n*-heksana- $\text{CHCl}_3$ -EtOAc (4:5:1) (Sahidin *et al.*, 2005). Senyawa vatikanol G dan (-)- $\epsilon$ -viniferin juga diperoleh dari ekstrak aseton tumbuhan *C. lanceolatum* yang difraksinasi menggunakan fasa gerak  $\text{CHCl}_3$ -metanol dengan meningkatkan gradien kepolaran. Pemurnian hasil fraksinasi lebih lanjut menggunakan Sephadex LH-20 dan pelarut metanol menghasilkan senyawa vatikanol G dan (-)- $\epsilon$ -viniferin (Ito *et al.*, 2005).

## 2.5. Identifikasi secara Spektroskopi

### 2.5.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Nuklir

Metode spektroskopi NMR didasarkan pada penyerapan energi oleh partikel yang sedang berputar di dalam suatu medan magnet kuat. Inti atom dapat dibedakan menjadi dua, yaitu inti yang memiliki spin dan tidak memiliki spin, spektroskopi NMR dapat diaplikasikan pada inti yang memiliki spin. Spektrum NMR merupakan salah satu data yang diperlukan untuk menentukan struktur suatu senyawa, dimana pergeseran kimia (*chemical shift*)  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR akan

menunjukkan keberadaan, jumlah atom H dan C serta konektivitasnya ke atom tetangga dalam sebuah molekul. (Silverstein *et al.*, 2005).

Spektroskopi  $^1\text{H-NMR}$  pada dasarnya menyediakan penentuan struktur senyawa organik dengan cara mengukur momen magnetik dari atom hidrogen.

Spektroskopi  $^1\text{H-NMR}$  tidak dapat memberikan informasi langsung mengenai kerangka karbon, sehingga spektroskopi  $^{13}\text{C-NMR}$  diperlukan untuk penentuan struktur molekul. Pergeseran kimia diukur dalam satuan  $\delta$  (delta) atau  $\tau$  (tau); dimana  $\tau = 10 \delta$  dan  $\delta = \Delta\nu \times 10^6/\text{frekuensi radio}$ ,  $\Delta\nu$  adalah selisih frekuensi sampel dengan senyawa referensi tetrametilsilan (TMS) dalam satuan Hertz. Intensitas sinyal berhubungan dengan jumlah proton yang beresonansi pada satu frekuensi tertentu (Harborne, 1998).

### **2.5.2. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)**

Analisis spektroskopi FTIR (*fourier transform infrared*) merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk mengidentifikasi keberadaan gugus fungsi suatu senyawa. Spektroskopi FTIR memiliki suatu komponen utama yaitu interferometer Michelson yang berfungsi menguraikan radiasi inframerah menjadi komponen-komponen berupa frekuensi. Interferometer Michelson digunakan sebagai pengganti monokromator yang ada pada metode spektroskopi inframerah konvensional. Interferometer ini akan memberikan sinyal ke detektor sesuai dengan intensitas frekuensi vibrasi molekul yang menghasilkan data berupa interferogram. Dengan keberadaan interferometer, spektrum FTIR mampu memberikan informasi struktur molekul secara tepat dan akurat (memiliki resolusi yang tinggi) (Khopkar, 2003; Sankari, 2010).

Metode FTIR sudah pernah dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada senyawa vaticanol G yang diisolasi dari *Hopea nigra*. Spektrum FTIR vaticanol G memiliki pita serapan yang menunjukkan adanya gugus hidroksil ( $3296\text{ cm}^{-1}$ ), C=C aromatik ( $1609$ ;  $1510$ ;  $1445\text{ cm}^{-1}$ ), dan benzena monosubstitusi ( $833\text{ cm}^{-1}$ ). Data spektrum tersebut menunjukkan karakteristik suatu senyawa golongan oligostilbenoid (Atun *et al.*, 2008).

## 2.6. Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy

Senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman dapat diidentifikasi dengan bantuan instrumen UPLC-MS. Analisis senyawa menggunakan UPLC-MS dapat menghasilkan data kuantitatif dan kualitatif. Data kualitatif diperoleh dari penemuan senyawa pada setiap puncak kromatogram dan data kuantitatif diperoleh dari persentase kadar setiap senyawa berdasarkan luas area puncak kromatogram. Sampel diionisasi dari fase cair ke fase gas dengan *electrospray ionization* (ESI). Dengan demikian, sistem kromatografi cair (LC) dapat langsung dihubungkan ke spektrometer massa.

Metode analisis menggunakan UPLC dapat mereduksi konsumsi fase gerak sampai dengan 80 % dalam waktu yang relatif lebih singkat sekitar 1,5 menit daripada menggunakan HPLC. UPLC-MS yang digunakan pada penelitian ini menggunakan detektor MS dengan sumber ion ESI (+) dan analisator MS berupa Q-ToF. Instrumen tersebut memiliki beberapa keunggulan di antaranya selektif dan sensitif dengan performa resolusi yang tinggi dan cepat sehingga waktu analisis menjadi lebih singkat (Zhao and Lin, 2014).

Flamini *et al.* (2015) menggunakan metode UPLC-MS untuk mengidentifikasi beberapa senyawa trimer dan tetramer resveratrol (stilben) dari *Vitis vinifera*. Senyawa golongan stilben merupakan yang pertama kalinya ditemukan dalam tumbuhan tersebut. Sejumlah 17 senyawa stilben ditemukan dari waktu retensi 13-19 menit, tiga di antaranya adalah *trans*-resveratrol, *Z*- $\epsilon$ -viniferin, dan miabenol C.

## 2.7. Uji Aktivitas Antidiabetes

Pasaribu (2009) melakukan pengujian enzimatik secara *in vitro* dari ekstrak kasar kayu tumbuhan *C. Melanoxylon*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kasar memiliki % inhibisi yang baik (94,86 %) jika dibandingkan dengan glukobai/kontrol positif (97,05 %). Pengujian dilakukan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase atau  $\alpha$ -D-glukosida glukohidrolase, yaitu enzim yang berfungsi dalam pembentukan glukosa pada usus halus. Enzim ini berperan dalam memecah rantai

polisakarida pada ikatan  $\alpha(1 \rightarrow 6)$  pada setiap percabangan membentuk polimer  $\alpha(1 \rightarrow 4)$  tak bercabang dan glukosa.

Pada prinsipnya senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes dapat menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase untuk menghambat pemecahan polisakarida dan karbohidrat kompleks menjadi monosakarida dan menunda adsorpsi glukosa dalam darah. Selain dengan  $\alpha$ -glukosidase, pengujian antidiabetes juga dilakukan dengan menghitung % inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase memiliki peran yang hampir sama, yaitu pada pemecahan oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida. Inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dapat menghambat karbohidrat untuk dicerna dalam tubuh, menurunkan laju absorpsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar plasma glukosa postprandial (Wardani *et al.*, 2017).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2021 – Agustus 2022, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi ultraungu-tampak (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung. Analisis spektroskopi inframerah (IR) dan Nuclear Magnetic Resonance (NMR) dilakukan di Laboratorium Organik Jurusan Bahan Alam (KOBA) Institut Teknologi Bandung. Uji aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan di Laboratorium Biokimia FMIPA. Analisis UPLC-MS dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Kriminal (Bareskrim) Polri.

#### 3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas dengan berbagai ukuran, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) silika gel 60 GF254, Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kromatografi Kolom (KK), neraca analitik, lampu UV, pipet kapiler, spatula, oven, pipet tetes, kertas saring, dan mesin pemutar evaporator rotatori vakum. Untuk analisis spektroskopi menggunakan spektrofotometer FT-IR (Shimadzu IR Prestige 21, Jepang), spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-Vis) (Agilent Cary-100, Amerika Serikat), dan spektrofotometer NMR (Agilent A500a DD<sub>2</sub> 500MHz, Amerika Serikat). Analisis UPLC-MS menggunakan ACQUITY *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) *H-Class System* tandem spektroskopi massa Xevo G2-S QToF (mode positif) (Waters™, Amerika Serikat). Analisis UPLC-MS

menggunakan kolom tipe ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub>, 100Å, 1,8 µm × 2,1 mm × 50 mm, dengan fase gerak campuran pelarut A (air + 5mM ammonium format) dan pelarut B (asetonitril + 0.05 asam format). Identifikasi senyawa menggunakan *software* Masslynx dan ChemSpider library.

Bahan yang digunakan sebagai sampel adalah kayu tumbuhan raru (*Cotylelobium melanoxyton*) yang diperoleh dari Hutan Bona Lumban, Kabupaten Tapanuli Tengah, Provinsi Sumatra Utara, Indonesia. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi dan kromatografi berkualitas teknis yang telah didestilasi. Bahan kimia yang digunakan meliputi akuades (H<sub>2</sub>O), *n*-heksana (*n*-C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>), etil asetat (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>), metanol (CH<sub>3</sub>OH), aseton (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O), serium sulfat (Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) 1,5 % dalam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, silika gel Merck 60 GF<sub>254</sub> digunakan untuk KCV dan kromatografi kolom, dan plat KLT silika gel menggunakan Merck kiesegal 60 F<sub>254</sub> 0,25 mm. Bahan yang digunakan untuk uji fitokimia yaitu amoniak (NH<sub>3</sub>), asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), NaOH 10 %, etanol, eter, dan FeCl<sub>3</sub> 1 %. Uji inhibisi enzim α-amilase digunakan enzim α-amilase (dari *Bacillus sp.* Tipe II-A, ≥1.500 unit/mg, Sigma Aldrich, Amerika Serikat), akarbosa, pati, buffer asetat, dan kalium iodida (KI).

### **3.3. Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1. Persiapan Sampel**

Sebanyak 3 kg kayu bagian cabang dari tumbuhan raru dikeringkan dengan cara dijemur di bawah terik matahari selama kurang lebih 12 jam hingga kayu kering dan bisa dikuliti. Kayu tersebut kemudian dibersihkan atau dikupas kulitnya, lalu dipotong-potong dan dihaluskan dengan penggiling hingga berbentuk serbuk.

#### **3.3.2. Maserasi (Ekstraksi Padat-Cair)**

Serbuk kayu raru sebanyak 1,8 kg dimaserasi dengan pelarut metanol (polar) untuk memperoleh ekstrak kayu yang mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar termasuk senyawa stilben. Maserasi (perendaman)

dilakukan menggunakan 6,5 L pelarut metanol selama 24 jam, setelah itu ekstrak kayu raru disaring dan dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator*. Pelarut yang diuapkan dan dikumpulkan dapat digunakan berulang kembali untuk maserasi, sehingga penggunaan pelarut organik lebih efisien.

Proses maserasi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan, pengulangan ini dilakukan hingga warna maserat mulai memudar (Indarto *et al.*, 2019). Hal ini bertujuan agar senyawa-senyawa kimia dalam sampel dapat terekstrak secara maksimal. Selama proses maserasi, sampel disimpan dalam wadah yang tertutup dan terlindung dari cahaya matahari untuk mencegah reaksi katalisis cahaya ataupun perubahan warna. Ekstrak metanol yang diperoleh selanjutnya dipartisi.

### **3.3.3. Partisi (Ekstraksi Cair-Cair)**

Partisi dilakukan beberapa kali untuk mengisolasi senyawa yang diinginkan, karena metode berulang ini lebih efisien daripada ekstraksi tunggal. Prosedur dimulai dengan melarutkan ekstrak kasar dalam pelarut metanol kemudian dilakukan partisi dengan menggunakan 50 mL *n*-heksana sebanyak 3 kali pengulangan, kemudian dipisahkan fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol. Fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol dipekatkan menggunakan pemutar vakum rotatori evaporator. Masing-masing fraksi di-KLT pada plat silika untuk melihat pemisahan fasa polar dan non-polar. Hasil akhir tahapan partisi diperoleh 2 fraksi yaitu, fraksi *n*-heksana dan fraksi metanol.

### **3.3.4. Uji Fitokimia Ekstrak Kasar**

Pengujian fitokimia ekstrak kasar dilakukan setelah proses maserasi, hal ini ditujukan untuk mengetahui profil golongan senyawa kimia yang terdapat di dalam sampel kayu raru, uji yang dilakukan antara lain sebagai berikut (Harborne, 1998) :

- a. Uji Alkaloid. Sebanyak 2 g ekstrak ditambah 10 mL kloroform dan beberapa tetes amoniak. Fraksi kloroform kemudian diasamkan dengan menambahkan

- asam sulfat 2 M. Fraksi asam sulfat kemudian ditambahkan pereaksi Meyer, Dragendrof, dan Wagner pada tabung reaksi berbeda. Uji positif senyawa golongan alkaloid dengan pereaksi Meyer ditandai dengan endapan putih, dengan pereaksi Dragendrof membentuk endapan merah jingga, dan terbentuk endapan coklat dengan pereaksi Wagner.
- b. Uji Saponin. Sebanyak 1 g ekstrak ditambah dengan akuades lalu dipanaskan selama 5 menit. Setelah didinginkan dikocok, apabila terbentuk busa yang stabil selama 10 menit maka positif adanya saponin.
  - c. Uji Flavonoid. Sebanyak 1 g ekstrak ditambahkan metanol, filtrat kemudian diuji pada *spot plate* dengan penambahan NaOH 10 % (b/v), uji positif flavonoid terbentuk warna merah.
  - d. Uji Triterpenoid dan Steroid. Sebanyak 2 g ekstrak ditambahkan 25 mL etanol lalu dipanaskan dan disaring. Filtrat diuapkan dan ditambahkan eter, lapisan eter diletakkan pada *spot plate* dan ditambahkan 3 tetes reagen Liberman Buchard. Uji positif triterpenoid membentuk warna merah/ungu dan uji positif steroid membentuk warna hijau.
  - e. Uji Tanin. Sebanyak 10 g ekstrak ditambah akuades dan dididihkan selama beberapa menit, setelah disaring, filtrat ditambah FeCl<sub>3</sub> 1 % (b/v). Uji positif senyawa tannin membentuk warna biru atau hitam kehijauan.

### 3.3.5. Monitoring dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Tahapan ini dilakukan secara beberapa kali, yaitu setiap prosedur kromatografi kolom dan KCV selesai dilakukan. Monitoring dengan KLT ini bertujuan untuk membandingkan pola pemisahan komponen yang terdapat dalam sampel. Uji KLT dilakukan menggunakan beberapa sistem campuran eluen yang mengandung metanol, etil asetat, aseton, atau kloroform. Setelah dilakukan elusi, hasil kromatog selanjutnya disemprot dengan larutan serum sulfat (Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) untuk menampakkan bercak/noda dari komponen senyawa tersebut. Noda/bercak hasil KLT dilihat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, lalu pola yang terbentuk diamati untuk selanjutnya digunakan dalam pemurnian menggunakan kromatografi kolom.

### 3.3.6. Fraksinasi dengan Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak kasar difraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan campuran heksan-etil asetat dengan gradien kenaikan kepolaran (Kamarozaman *et al.*, 2013). Fraksinasi pada KCV menggunakan silika gel sebagai fasa diam sebanyak 10 kali berat sampel, kemudian kolom divakum. Heksan 100 % dituangkan ke dalam kolom lalu divakum kembali hingga kering dan kolom siap digunakan. Sampel sebelumnya dijeratkan (impregnasi) dalam silika gel sebelum dimasukkan ke dalam kolom. Kemudian elusi dimulai secara bertahap dengan kenaikan gradien kepolaran 10 % sampai dengan etil asetat 100 %. Tiap fraksi yang diperoleh dikumpulkan ke dalam tabung dan ditampung sebanyak 50-70 mL atau berdasarkan pita yang terbentuk pada kolom. Fraksi yang telah dikumpulkan dipekatkan dan diuji KLT kembali dengan plat silika sebagai fasa diam.

### 3.3.7. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom dengan silika gel dielusi dengan fasa gerak yang disesuaikan dengan hasil uji KLT. Fasa diam direndam dengan pelarut yang sesuai sampai membentuk *slurry* atau bubur, kemudian dimasukkan ke dalam kolom, atur fasa diam hingga rapat (tidak berongga) dan rata. Selanjutnya sampel yang telah dijerapkan pada silika gel dimasukkan ke dalam kolom yang sudah berisi fasa diam. Masing-masing fraksi yang diperoleh di-KLT lebih lanjut dengan plat silika gel dengan pereaksi visualisasi spesifik serum sulfat. Proses pemurnian dengan kromatografi kolom terhadap fraksi target dilakukan berulang kali dengan perlakuan yang sama namun dengan fasa gerak yang disesuaikan sampai diperoleh kristal murni.

### 3.3.8. KLT Preparatif

Plat KLT preparatif ukuran 20×20 cm disiapkan dengan membuat garis atas 0,5 cm dan garis bawah 1 cm, sebelumnya plat dipanaskan dalam oven selama 1 jam dengan suhu 80°C. Sampel sebanyak 50 mg yang sudah dilarutkan dengan pelarut

yang sesuai ditotolkan pada plat KLT yang bergaris 1 cm tepat di atas garis hingga merata (tidak diberi jarak). Kemudian elusi dilakukan dalam campuran pelarut organik dengan volume 20 mL pada *chamber* tertutup dan didiamkan sampai pelarut mencapai batas atas plat KLT. Setelah pengelusian selesai, plat diangkat dan dikeringkan. Lalu noda-noda yang terbentuk diamati di bawah lampu UV, noda-noda yang terbentuk pada silika dikumpulkan berdasarkan Rf-nya atau pola pemisahannya.

### **3.3.9. Analisis Spektroskopi**

#### **3.3.9.1. Spektrofotometri Inframerah (IR)**

Kristal yang diperoleh dari hasil isolasi yang telah murni dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah. Kristal yang telah murni dibebaskan dari air kemudian digerus bersama-sama dengan halida anorganik, KBr. Pelet yang dihasilkan tersebut diukur puncak serapannya. Informasi spektroskopi inframerah menunjukkan adanya gugus fungsi dalam suatu molekul (Pavia *et al.*, 2009).

#### **3.3.9.2. Spektrofotometri Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)**

Analisis spektroskopi NMR yang dilakukan adalah analisis H-NMR dan C-NMR, hal ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai posisi dan lingkungan kimia dari atom karbon dan hidrogen dalam molekul. Selain itu juga untuk mengenali atom-atom lainnya dalam struktur suatu senyawa organik yang berkaitan dengan proton. Pada pengujian NMR, sampel yang akan diidentifikasi dilarutkan ke dalam pelarut inert yang tidak mengandung proton seperti  $\text{CCl}_4$  dan  $\text{CDCl}_3$ , kemudian ditambahkan sedikit sampel. Larutan ini ditempatkan dalam tabung gelas tipis dengan ketebalan 5 mm di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf) yang berada di antara dua kutub magnet yang sangat kuat, kemudian energi dari kumparan rf ditambah secara terus-menerus. Energi pada frekuensi terpasang dari kumparan rf yang diserap sampel direkam dan memberikan data berupa spektrum NMR (Silverstein *et al.*, 2005).

### 3.3.10. Analisis UPLC-MS

Ditimbang dengan seksama 2 mg sampel kemudian dilarutkan dengan 2 mL metanol. Ekstrak dalam metanol diambil dengan *microsyringe* sebanyak 5  $\mu$ L untuk selanjutnya diinjeksikan ke tempat sampel dan masuk ke dalam kolom UPLC. Replikasi dilakukan sebanyak 4 kali. Sampel yang berupa cairan akan diubah menjadi butiran tetesan melewati *needle* yang telah diberi muatan ESI positif (+). Ion-ion yang telah dihasilkan oleh detektor selanjutnya akan dipisahkan oleh analisator Q-ToF. Eluen yang digunakan adalah campuran pelarut A (akuades + 5mM ammonium format) dan pelarut B (asetonitril + 0.05 asam format) dengan kecepatan aliran eluen 0,2 mL/menit. Kromatogram dengan senyawa polar akan muncul terlebih dahulu kemudian diikuti oleh senyawa yang kepolarannya lebih rendah. Hasil pemisahan selanjutnya dibaca oleh detektor QToF-MS sehingga menghasilkan puncak kromatogram. Puncak kromatogram kemudian diinterpretasikan menggunakan aplikasi *Masslynx*. Prediksi rumus molekul yang telah di pilih selanjutnya dicari dengan bantuan *website chemspider.com*. Rumus molekul yang ditulis pada *website* ini harus dikurangi 1 atom H terlebih dahulu disebabkan pada proses pemisahan terjadi penambahan 1 atom H yang berasal dari penembakan ion ESI (+) (Hakim *et al.*, 2018).

### 3.3.11. Uji Inhibisi Enzim $\alpha$ -Amilase

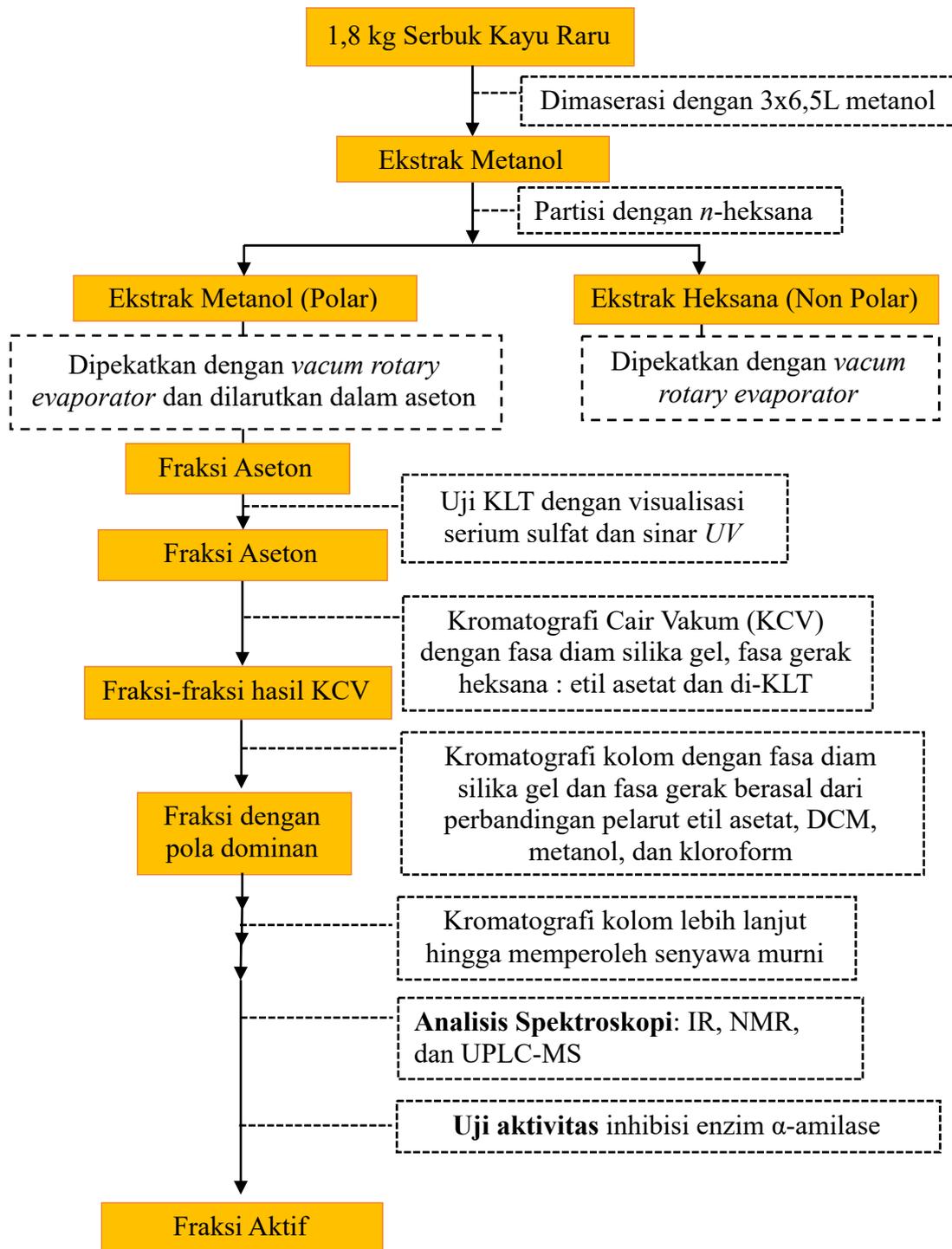
Pengujian inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dilakukan dengan mencampurkan 1 mL sampel (variasi konsentrasi 2000; 1500; 1000; dan 500 ppm) dengan pati (1 % b/v) sebagai substrat, dan akarbosa sebagai obat standar. Pati dimasukkan ke dalam semua tabung reaksi, kemudian ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase dan inhibitor (sampel), lalu diinkubasi. Setelah 30 menit, tabung reaksi diangkat dan ditambahkan HCl 1M untuk menghentikan reaksi enzim. Indikator iodin (KI) dimasukkan ke dalam masing-masing tabung untuk mengetahui keberadaan pati. Pelarut H<sub>2</sub>O ditambahkan dan kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. % Inhibisi dihitung dengan Persamaan 2 (Mwakalukwa *et al.*, 2020).

$$\% \text{ inhibisi} = \left[ 1 - \left( \frac{A_2 - A_1}{A_4 - A_3} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:

- A1 : absorbansi rata-rata larutan yang mengandung sampel, pati, dan enzim  $\alpha$ -amilase,
- A2 : absorbansi rata-rata larutan yang mengandung sampel dan pati,
- A3 : absorbansi rata-rata larutan yang mengandung pati dan enzim  $\alpha$ -amilase,
- A4 : absorbansi rata-rata larutan yang mengandung pati.

Secara keseluruhan, prosedur penelitian ini terangkum dalam diagram alir penelitian yang disajikan pada Gambar 13.



Gambar 13. Diagram alir penelitian

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Simpulan

Berdasarkan pembahasan yang telah dipaparkan, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Fraksi E10a4a merupakan fraksi yang mengandung senyawa golongan stilben, hal ini ditunjukkan berdasarkan hasil analisis IR dan UPLC-MS.
2. Senyawa stilben yang terkandung dalam fraksi E10a4a merupakan golongan stilben trimer, yaitu senyawa vatikanol A/E/G/viniferol D dan senyawa kotilelofenol.
3. Berdasarkan hasil uji inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase terhadap fraksi E10a4a, menunjukkan aktivitas yang tergolong tinggi dibandingkan obat standar akarbosa (76,06 %) dengan nilai inhibisi sebesar 47,23 % pada konsentrasi 2000 ppm.
4. Ekstrak kasar (fraksi aseton) memiliki kemampuan % inhibisi enzim  $\alpha$ -amilase yang lebih baik daripada fraksi E10a4a, yaitu sebesar 51,63 % pada konsentrasi 2000 ppm.

### 5.2. Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk memperoleh senyawa stilbene murni dan dilakukan uji kinetika enzim untuk membedakan jenis inhibisi enzim, yaitu kompetitif, non-kompetitif, atau un-kompetitif.

## **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Apannah, S and Turnbull, J. M. 1998. *A Review of Dipterocarps: Taxonomy, Ecology and Sylviculture*. Center of International Forestry Research (CIFOR). Bogor, Indonesia. 133.
- Ardianingsih, R. 2009. Penggunaan HPLC dalam proses analisa deteksi ion. *Berita Dirgantara*, **10**(4), 101-104.
- Ashton, P. S. 1982. *Flora Malesiana: Spermatophyta*. Martinus Nijhoff Publishers, London, **9**, 341.
- Atlas, I. D. 2009. *The Global Burden*. International Diabetes Federation (4<sup>th</sup> edition). Brussels. 21–27.
- Atun, S., Aznam, N., Arianingrum, R., Takaya, Y., and Masatake, N. 2008. Resveratrol Derivatives from Stem Bark of *Hopea* and Their Biological Activity Test. *J. Phy. Sci.* **19**(2), 7-21.
- Atun, S. 2009. Hopeafenol-o-glycoside, a compound isolated from stem bark *Anisoptera marginata* (Dipterocarpaceae). *Indo. J. Chem.* **9**(1), 151 – 157.
- Bonkowski, M.S. and Sinclair, D.A. 2016. Slowing ageing by design: the rise of NAD<sup>+</sup> and sirtuin-activating compounds. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **17**, 679-690.
- BPOM, 2015. *Sistem Endokrin: Diabetes*. <https://pionas.pom.go.id/>. Diakses pada 09 Desember 2022.
- Braithwaite, A. and Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers. London. 11-13.
- Firdaus. 2011. *Teknik dalam Laboratorium Kimia Organik*. Laporan Hibah Penulisan Buku Ajar Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Hasanudin. Makassar. 82-85.

- Fuwa, H. 1954. A New Method for Microdetermination of Amylase Activity By The Use Of Amylose As The Substrate. *J. Biochem.* **41**(5), 583–603.
- Ghiasalberti, E. L. 2008. *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Taylor, and Francis Group Inc. USA. 78-79.
- Gülçin, İ. 2010. Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science and Emerging Technologies (IFSET)*. **11**(1), 210-218.
- Hakim, A., Muti'ah, R. Aprinda, R. Suryadinata, A. dan Nasikhatul, F. 2018. *Metabolite Profiling* Bagian Akar, Batang, Daun, dan Biji *Helianthus annuus* L. Menggunakan UPLC-MS. *Media Pharmaceutica Indonesiana*. **2**(2), 64-81.
- Harborne, J. B. 1998. *Phytochemical Method: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall Publisher. London. 302
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan berguna Indonesia*. Terjemahan Badan Litbang Kehutanan, Departemen Kehutanan. Jakarta, Indonesia. 1030-1033.
- Hostettmann, K., Hostettman, M. and Manson, A. 1995. Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam. Alih bahasa Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung. 27-34.
- Idramsa, Soetarto, E. S., Hasanah, U., and Prasetya, E. 2018. Antibacterial activity of endophytic ER-2 bacterial isolates from plant *Cotylelobium melanoxylon*. *Prosiding: Annual International Seminar on Trends in Science and Science Education (AISTSSE)*. DOI: 10.4108/eai.18-10-2018.2287460. 1-6.
- Indarto, Narulita, W., Anggoro, B. S., dan Novitasari, A. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong terhadap *Propionibacterium acnes*. *Biosfer: Jurnal Tadris Biologi*. **10**(1), 67-78.
- Ito, T., Tanaka, T., Nakaya, K., Iinuma, M., Takahashi, Y., Naganawa, H., Ohyama, M., Nakanishi, Y., Bastowd, K.F., and Lee, K.H. 2001. A new resveratrol octamer, vateriaphenol A, in *Vateria indica*. *Tetrahedron Lett.* **42**, 5909-5912.
- Ito, T., Ali, Z., Furusawa, M., Iliya, I., Tanaka, T., Nakaya, T., Murata, J., Darnaedi, D., Oyama, M., and Linuma, M. 2005. Two Novel Trimeric Resveratrol Derivatives from *Cotylelobium lanceolatum*. *Chem. Biodivers.* **2**, 1200-1216.

- Ito, T. 2020. Resveratrol oligomer structure in Dipterocarpaceaeous plants. *J. Nat. Med.* **74**, 619–637.
- Kamarozaman, A. S., Latip, J., Syah, Y. M., Rajab, N., and Jaloh, A. 2013. Oligostilbenoids from *Vatica pauciflora* and the Oxidative Effect on Chang Cells. *J. Phys.* **423**, 1-5.
- Kim, H. J., Chang, E. J., Bae, S. J., Shim, S. M., Park, H. D., Rhee, C. H., Park, J. H., and Choi, S. W. 2002. Cytotoxic and Antimutagenic Stilbens from Seeds of *Paeonia lactiflora*. *Arch. Pharm. Res.* **25**(3), 293-299.
- Khan, O. S., Bhat, A. A., Krishnankutty, R., Mohammad, R. M., and Uddin, S. 2016. Therapeutic Potential of Resveratrol in Lymphoid Malignancies. *Nutr. Cancer.* **68**, 365- 373.
- Khopkar, S. M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Diterjemahkan oleh A. Saptorahardjo. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. 84-311.
- Lee, S. H., Min, K. H., Han, J. S., Lee, D. H., Park, D. B., and Jung, W. K. 2012. Effects of brown alga, *Ecklonia cava* on glucose and lipid metabolism in C57BL/KsJ- db/db mice, a model of type 2 diabetes mellitus. *Food and Chemical Toxicology (FCT)*. **50**, 575–582.
- Lee, S. H., Kang, N., Kim, E. A., Heo, S. J., Moon, S. H., and Jeon, B. T. 2014. Antidiabetogenic and antioxidative effects of octaphlorethol a isolated from the brown algae *Ishige foliacea* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Sci. Biotechnol.* **23**, 1261–1266.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavanoida, Fenilpropanida dan Alkaloida*. Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara. Medan. 7.
- Linda. 1994. *Center for Drug Evaluation and Research (CDER): Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods*. Silver Spring. New York. 56-58.
- Lulan, T., Fatmawati, S., Santoso, M., and Ersam, T. 2020.  $\alpha$ -VINIFERIN as a potential antidiabetic and antiplasmodial extracted from *Dipterocarpus littoralis*. *Heliyon.* **6**(5), 1-6.
- Matsuda, H., Asao, Y., Nakamura, S., Hamao, M., Sugimoto, S., Hongo, M., Pongpiriyadacha, Y., and Yoshikawa, M. 2009. Antidiabetogenic Constituent from the Thai Traditional Medicine *Cotylelobium melanoxylon*. *Chem. Pharm. Bull.* **57**(5), 487-494.

- Milne, J. C., Lambert, P. D., and Schenk, S. 2007. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature*. **450**, 712–716.
- Murniasih, T. 2003. Metabolit Sekunder dari Spons Sebagai Bahan Obat-obatan. *Oseana*. **28**(3), 27-33.
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., and Shimizu, K. 2020. Postprandial Hyperglycemia Lowering Effect of the Isolated Compounds from Olive Mill Wastes – An Inhibitory Activity and Kinetics Studies on  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -Amylase Enzymes. *ACS Omega*. **5**(32).
- Palsamy, P. and Subramanian, S. 2008. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed. Pharmacother*. **62**, 598–605.
- Pasaribu, T. G. 2007. Analisis komponen kimia empat jenis kayu. *Penelitian Hasil Hutan*, **25**(4), 327-333.
- Pasaribu, T. G. 2009. Zat ekstraktif kayu raru dan pengaruhnya terhadap penurunan kadar gula darah secara *in vitro*. *Tesis*. Institut Pertanian Bogor.
- Pasaribu, T. G. 2011. Aktivitas inhibisi alfa glukosidase pada beberapa jenis kulit kayu raru. *Penelitian Hasil Hutan*. **29**(1), 10-19.
- Pasaribu, T. G. dan Setyawati, T. 2011. Aktivitas antioksidan dan toksisitas ekstrak kulit kayu raru (*Cotylelobium sp.*). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. **29**(4), 322-330.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., and Vyvyan, J. R. 2009. *Introduction To Spectroscopy, 4<sup>th</sup> Edition*. Nelson Education. Canada, US.
- Pontiroli, A. E. 2004. Type 2 diabetes mellitus is becoming the most common type of diabetes in school children. *Acta Diabetol*. **41**, 85–90.
- Purwaningsih. 2004. Review: Sebaran Ekologi Jenis-Jenis Dipterocarpaceae di Indonesia. *Biodiversitas*. **5**(2), 89-95.
- Ramadori, G., Gautron, L., Fujikawa, T., Vianna, C. R., Elmquist, J. K., and Coppari, R. 2009. Central administration of resveratrol improves diet-induced diabetes. *Endocrinology*. **150**, 5326–5333.
- Reichardt, C. 2003. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry, Third Edition*. Wiley-VCH. Jerman. 330-333.

- Sahidin, Hakim, E. H., Juliawaty, L. D., Syah, Y. M., Din, L., Ghisalberti, E. L., Latip, J., Said, I. M., and Achmad, S. A. 2005. Cytotoxic Properties of Oligostilbenoids from the Tree Barks of *Hopea dryobalanoides*. *Z. Naturforsch.* **60c**, 723-727.
- Sankari, G., E. Kriahnamoorthy, S. Jayakumaran, S. Gunaeakaran, V.V. Priya, S. Subramanlam, S. Subramanlam, and S.K. Mohan. 2010. Analysis of serum immunoglobulins using fourier transform infrared spectral measurements. *Biol. Med.* **2**(3), 42-48.
- Sharma, S., Anjaneyulu, M., Kulkarni, S. K., and Chopra, K. 2006. Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin, attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology.* **76**, 69-75.
- Sharma, S., Misra, C. S., Arumugam, S., Roy, S., Shah, V., Davis, J. A., Shirumalla, R. K., and Ray, A. 2011. Antidiabetic Activity of Resveratrol, a known SIRT1 Activator in a Genetic Model for Type-2 Diabetes. *Phytother. Res.* **25**, 67-73.
- Shotheswaran, S. and Pasupathy, V. 1993. Distribution of Resveratrol Oligomers in Plants. *Phytochem.* **32**(5), 1083-1092.
- Sienko, P. and Marcus. 1984. *Experimental Chemistry*, 6<sup>th</sup> Edition. McGraw Hill Book Co. Singapore.
- Silverstein, R. M., Bassler, G. B., and Morcill T. C. D., 2005. *Penyelidikan Spektrometrik Senyawa Organik*. Alih Bahasa: A.J. Hartomo dan Anny Victor Purba. Erlangga. Jakarta. 191-195.
- Soerianegara, I. and Lemmens, R. H. J. 1994. *Timber Trees: Minor Commercial Timbres. Plant Resources of South-East Asia No.5 Ed. 1*. Prosea Foundation. Bogor, Indonesia. 566-569.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., and Suhardi. 1996. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta. 67-72.
- Thilagam, E., Parimaladevi, B., Kumarappan, C., and Mandal, S. C. 2013.  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies (JAMS)*. **6**, 24-30.
- Tietjen, I., Cassel, J., Register, E. T., Zhou, X. Y., Messick, T. E., Keeney, F., Lu, L. D., Beattie, K. D., Rali, T., and Ertl, H. C. J. 2021. The natural stilbenoid (-)-hopeaphenol inhibits cellular entry of SARS-CoV-2 USA-WA1/2020, B.1.1.7 and B.1.351 variants. *bioRxiv*. DOI: 10.1101/2021.04.29.442010. 1-7.

- Tili, E., Michaille, J. J., Adair, B., Hansjuerg, A., Emeric, L., Cristian, T., and Carlo, M. C. 2010. Resveratrol decreases the levels of miR-155 by upregulating miR-663, a microRNA targeting JunB and JunD. *Carcinogenesis*. **31**, 1561-1566.
- Vinayagam, R., Xiao, J. B., and Xu, B. J. 2017. An insight into anti-diabetic properties of dietary phytochemicals. *Phytochem. Rev.* **16**, 535–553.
- Wall, P. E. 2005. *Thin-Layer Chromatography: A Modern Practical Approach*. RSC Publishing, Cambridge. 6-58.
- Wardani, N. A. K., Andini, Indriani, P. T., dan Sarinastiti, D. I. 2017. Enzim  $\alpha$ -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan dan Hasil Pertanian*, **1**(2), 50-59.
- Weiskrichen, S. and Weiskrichen, R. 2016. Resveratrol: how much wine do you have to drink to stay healthy. *Adv. Nutr.* **7**(4), 706-718.
- WHO. 2020. *The Top 10 Causes of Death*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>. Diakses pada 05 Desember 2022.
- Xiao, J. B., and Högger, P. 2015. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: Current insights and future perspectives. *Curr. Med. Chem.* **22**, 23–38.
- Xiao, K., Zhang, H. J., Xuan, L. J., Zhang, J., Xu, Y. M., and Bai, D. L. 2008. Stilbenoids: Chemistry and Bioactivity. *Stud. Nat. Prod. Chem.* **34**, 453-646.
- Yen, G. C. and H. Y. Chen. 1995. Antioxidants Activity of Various Tea Extracts in Relation to Their Antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 383-386.
- Yiu, C. Y., Chen, S. Y., Chang, L. K., Chiu, Y. F., and Lin, T. P. 2010. Inhibitory Effects of Resveratrol on the Epstein-Barr Virus Lytic Cycle. *Molecules*. **15**(10), 15-24.
- Zhu, X., Wu, C., Qiu, S., Yuan, X., and Li, L. 2017. Effects of resveratrol on glucose control and insulin sensitivity in subjects with type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis, *Nutr. Metab.* **14**, 60.
- Zhao, C., Yang, C., Liu, B., Lin, L., Sarker, S. D., Nahar, L., Yu, H., Cao, H., and Xiao, J. 2018. Bioactive compounds from marine microalgae and their hypoglycemic benefits. *Trends Food Sci. Technol.* **72**, 1-12.

Zhao, Y. Y. and Lin, R. C. 2014. UPLC–MSE application in disease biomarker discovery: the discoveries in proteomics to metabolomics. *Chemico-biological interactions*. **215**, 7-16.

Ziaullah, H. P. and Rupasingh, V. 2015. Application of NMR Spectroscopy in Plant Polyphenols Associated with Human Health. *Appl. NMR Spectrosc.* **2**, 3-92.