

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER KULIT BUAH PISANG KEPOK (*Musa acuminata*) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO* FLAVONOID PADA PROTEIN 5DI1**

(Skripsi)

Oleh

HENDRIKO MARISEP



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER KULIT BUAH PISANG KEPOK (*Musa acuminata*) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO* FLAVONOID PADA PROTEIN 5DI1

Oleh

HENDRIKO MARISEP

Kulit pisang kepok merupakan bagian dari buah pisang yang seringkali tidak dimanfaatkan dan selalu dibuang setelah proses pembuatan keripik dan lainnya. Kandungan pada kulit pisang memiliki kemampuan antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan daging buahnya sehingga mampu memberikan efek antihiperqlikemia atau menurunkan kadar glukosa darah. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi kulit pisang kepok dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol sehingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 66,1831 gram berwarna coklat pekat. Skrining fitokimia terhadap ekstrak menunjukkan hasil positif adanya golongan senyawa flavonoid, tanin, dan steroid. Pemisahan senyawa dilakukan dengan cara partisi menggunakan pelarut metanol dan n-heksana (1:1) dan kromatografi lapis tipis. Hasil partisi dari fraksi n-heksana memberikan nilai Rf sebesar 0,9 pada kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : n-heksana dengan perbandingan 2 : 1 : 2. Pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis berada pada panjang gelombang 206 nm dengan absorbansi 1,6035 dan serapan gugus fungsi melalui pengukuran spektrofotometer IR adalah O-H, C=O, C-H alkana, C-H aromatik, C-O, dan C=C aromatik. Uji aktivitas antidiabetes terhadap 18 mencit (*Mus musculus*) secara *in vivo* menunjukkan persentase penurunan kadar glukosa darah mencit terbaik yaitu 71,42% untuk dosis 400 mg/kg BB. Pengolahan data menggunakan *Oneway* ANOVA dan dilanjutkan BNT pada taraf nyata 5% menghasilkan nilai yang signifikan yaitu $p \leq 0,05$. Hasil secara *in silico* menggunakan kode protein 5DI1 didapatkan senyawa kaempferol memiliki nilai energi ikatan sebesar -8,14 kkal.mol⁻¹ serta memenuhi syarat sebagai kandidat obat antidiabetes secara *Lipinski Rule of Five*, Swiss ADME, dan Prottox.

Kata kunci: Kulit pisang kepok, kadar glukosa darah, *Mus musculus*, flavonoid, *docking*.

ABSTRACT

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS OF BANANA KEPOK PEEL (*Musa acuminata*) AND ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST MICE (*Mus musculus*) IN VIVO AND IN SILICO FLAVONOID PROTEINS 5DI1

By

HENDRIKO MARISEP

Kepok banana peel is part of the banana fruit which is often not used and is always thrown away after the process of making chips and others. The content in banana peels has a high antioxidant capacity compared to the fruit flesh so that it can provide an antihyperglycemic effect or lower blood glucose levels. In this study, the extraction of kepok banana peels was carried out by maceration using methanol solvent to obtain a viscous extract of 66.1831 grams, dark brown in color. Phytochemical screening of the extract showed positive results for the presence of flavonoids, tannins and steroids. Separation of compounds was carried out by partitioning using methanol and n-hexane (1:1) and thin layer chromatography. The partition results of the n-hexane fraction gave an R_f value of 0.9 on thin layer chromatography using the eluent n-butanol : acetic acid : n-hexane with a ratio of 2 : 1 : 2. Measurements using a UV-Vis spectrophotometer were at a wavelength of 206 nm with an absorbance of 1.6035 and functional group absorptions through IR spectrophotometer measurements were O-H, C=O, C-H alkanes, C-H aromatics, C-O, and C=C aromatics. Antidiabetic activity test on 18 mice (*Mus musculus*) in vivo showed the best percentage of mice blood glucose reduction was 71.42% for a dose of 400 mg/kg BW. Data processing using Oneway ANOVA and continued LSD at 5% significance level resulted in a significant value, namely $p \leq 0.05$. The in silico results using the protein code 5DI1 showed that the kaempferol compound had a bond energy value of -8.14 kcal.mol⁻¹ and met the requirements as a candidate for anti-diabetic drugs according to the Lipinski Rule of Five, Swiss ADME, and Prottox.

Keywords: Banana kepok peel, blood glucose levels, *Mus musculus*, flavonoid, docking.

**EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA METABOLIT
SEKUNDER KULIT BUAH PISANG KEPOK (*Musa acuminata*) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO* FLAVONOID PADA PROTEIN 5DI1**

Oleh

Hendriko Marisep

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul : **EKSTRAKSI DAN KARAKTERISASI SENYAWA
METABOLIT SEKUNDER KULIT BUAH PISANG KEPOK
(*Musa acuminata*) SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIDIABETES TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)
SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO* FLAVONOID PADA
PROTEIN 5DI1**

Nama : **Hendriko Marisep**


NPM : **1817011055**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

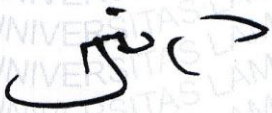


1. Komisi Pembimbing


Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.
NIP 19740717 200812 2 003


Syaiful Bahri, M.Si.
NIP 19730825 200003 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung

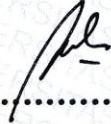

Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

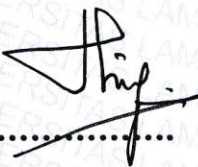
: Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.



.....

Sekretaris

: Syaiful Bahri, M.Si.



.....

Penguji

Bukan Pembimbing

: Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, M.T.

NIP 197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Januari 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hendriko Marisep
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011055
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul **“Ekstraksi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa acuminata*) Serta Uji Aktivitas Antidiabetes Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico* Flavonoid Pada Protein 5DI1”** adalah benar karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 26 Januari 2023
Yang menyatakan,



Hendriko Marisep
NPM 1817011055

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Hendriko Marisep dilahirkan di Jakarta pada tanggal 17 September 2000. Penulis merupakan anak sulung dari pasangan Bapak Mangasi Siringo-ringo dan Ibu Rismawati Rumapea serta memiliki dua saudara kandung bernama Richard Fernando dan Gracia Melinda. Penulis mulai menempuh pendidikan di TK Ananda pada tahun 2005 – 2006, kemudian melanjutkan pendidikan di SDN Sukaharja III (2006 – 2012). Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Pasar Kemis (2012 – 2015) dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 11 Kota Tangerang (2015 – 2018).

Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung (FMIPA Unila) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi sebagai Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (KAMI) periode 2018. Penulis juga pernah menjadi anggota Paduan Suara Mahasiswa (PSM) pada tahun 2019. Penulis pernah menjadi anggota divisi Kelompok Kecil Persekutuan Oikumene Mahasiswa (POM MIPA) pada tahun 2021.

Perjalanan dalam mengerjakan tugas akhir penulis pernah menjadi tutor mata kuliah Kimia Komputasi, Kimia Anorganik Lingkungan, dan Bioanorganik pada tahun 2022. Pada awal tahun 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Sindang Panon selama 40 hari. Pada November 2021, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul "Analisis Sampel Palm Oil Mill Effluent (POME) dengan Menggunakan Parameter Kadar Asam Lemak Bebas, Kadar Air, dan Kadar Zat Pengotor di PT Indo Energy Solutions (IES)", setelah itu penulis mulai mengerjakan tugas akhir.

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus, dengan ketulusan hati aku persembahkan goresan tinta dalam karya ini sebagai wujud cinta, kasih sayang, rasa hormat dan baktiku kepada:

Bapak dan Ibuku tercinta

Yang telah berjuang untuk mendidik dan membesarkanku serta yang selalu mengasihi, mendukung dan mendoakan keberhasilanku. Melalui karya ini aku ingin berterimakasih atas segala cinta, kasih sayang, dukungan serta pengorbanan yang tidak pernah lelah kau beri.

Untuk kedua adikku Richard Fernando dan Gracia Melinda serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan dan menjadi penyemangatku.

Rasa hormat kepada pembimbing penelitianku :

Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.

Bapak Syaiful Bahri, M.Si.

Terimakasih atas bimbingan, ilmu, nasihat, dan kesabaran dalam membimbing selama ini.

Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing, mendidik, dan memberikan pengalaman kepadaku selama menempuh pendidikan di kampus.

Sahabat-sahabatku masa SMA dan keluarga besar Chemistry 2018 yang selalu memberikan semangat dan mengajarkan arti kebersamaan.

Serta
Almamaterku tercinta
Universitas Lampung

MOTTO

“Karena itu Aku berkata kepadamu: apa saja yang kamu minta dan doakan, percayalah bahwa kamu telah menerimanya, maka hal itu akan diberikan kepadamu”

(Markus 11: 24)

“Sebab Aku ini mengetahui rancangan-rancangan apa yang ada pada-Ku mengenai kamu, demikianlah firman Tuhan, yaitu rancangan damai sejahtera dan bukan rancangan kecelakaan, untuk memberikan kepadamu hari depan yang penuh harapan ”

(Yeremia 29: 11)

“Jangan pergi mengikuti kemana jalan akan berujung. Buat jalanmu sendiri dan tinggalkanlah jejak”

(Ralph Waldo Emerson)

“Sukses berjalan dari satu kegagalan menuju kegagalan yang lain, tanpa kita kehilangan semangat”

(Abraham Lincoln)

“Seberat apapun masalahmu, jangan lupa untuk tetap rebahan”

(Hendriko Marisep)

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat serta kasih karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Ekstraksi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa acuminata*) Serta Uji Aktivitas Antidiabetes Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Secara *In Vivo* dan *In Silico* Flavonoid Pada Protein 5DI1”**.

Skripsi ini adalah salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak mungkin terselesaikan tanpa adanya doa, bimbingan, nasihat serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua yang saya cintai, Bapak Mangasi Siringo-ringo dan Ibu Rismawati Rumapea untuk kasih sayang yang telah diberikan selama ini serta segala perhatian, motivasi dan dukungan finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
2. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Syaiful Bahri, M.Si. selaku Pembimbing II atas semua kritik, saran, bimbingan serta motivasi dan nasihat yang selalu diberikan dengan kesabaran dan keikhlasan kepada penulis selama penelitian.
4. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku Pembahas atas segala arahan, koreksi, saran, dan kritik yang bermanfaat kepada penulis.

5. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si. selaku Pembimbing Akademik atas segala bimbingan, nasihat, serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
6. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
7. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
8. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
10. Kedua adikku, Richard Fernando dan Gracia Melinda yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan.
11. Opung Pedrik, Mama tua Frizly, Tante Devi, dan Tante Ratna yang selalu memberikan doa, bimbingan, semangat, dan dukungan.
12. Tim penelitianku Dr. Yuli *Research*'18 yaitu Eni Asro Dzulhijjah, Dinara Salsabila, dan Luthfia Pritania Putri yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi, nasihat, dan saran untuk menyelesaikan penelitian. Terima kasih untuk segala kebersamaan, tawa, canda, dan air mata selama proses penelitian yang telah kita lakukan bersama.
13. Mencit-mencit mungilku terima kasih banyak dengan kerelaan tubuhmu telah menjadi bahan percobaan pada penelitianku ini, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi.
14. Geng "Ambyar Squad" yaitu Grace Febrianti Solafide Sirait, Indah Permatasari Eka Putri, Kadek Fani Sugiyanti dan Kharisma Citra Aprilia yang selalu mendukung dan memotivasi penulis dalam perkuliahan hingga penyusunan skripsi. Terima kasih untuk segala kebersamaan, tawa, canda, dan air mata.
15. Sahabat SMA-ku Mia Benita, Yohana Esmeralda, Dian Purbasari, Salsabil Noverlyandri, dan Tri Putri yang memberikan semangat, motivasi, dan saran.

16. Gurls “Kost Pak Bambang” yaitu Aprilia Fransiska Br Sembiring, Chetrine Enamia, Dora Panny Sitorus, Ester Hellen Novalina Lumban Gaol, Grace Febrianti SS, Kak Meryam, Ninid Widya Sari Lubis yang telah memberikan semangat, motivasi, nasihat, dan saran.
17. Kakak dan adik seperbimbingan yaitu Kak Rusydi Iskandar, S.Si., Kak Valennisa Qunifah, S.Si., Kak Naura Tadzkiiana Nadifa, S.Si., Kak Devi Rahmawati, S.Si., Unggul Sulistio, Fitri Febriani, Qonita Putri, dan Maysya Dhiya atas segala ilmu, semangat, motivasi, dan saran.
18. Senior-senior terbaikku yaitu Kak Arif Nurhidayat, S.Si., M.Si., Kak Rinda Harijuliatri, S.Si., M.Si., Kak Mentari Yunika, S.Si., M.Si atas segala ilmu, semangat, motivasi, dan saran.
19. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Kimia Organik, Kimia Dasar, Anorganik/Fisik, Biokimia, rakyat 2018 kelas B “Mari Bersinar” yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis. Terima kasih atas kebersamaan selama ini.
20. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2018, terima kasih atas kebersamaan yang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
21. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
22. *The last one*, terima kasih untuk diriku yang tetap bertahan di titik ini hingga skripsi ini terselesaikan dan semangat untuk rancangan Tuhan berikutnya.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini jauh dari kata sempurna, besar harapan penulis semoga skripsi ini dapat berguna bagi kita semua serta dapat memberikan saran yang membangun bagi penulis untuk lebih baik kedepannya.

Bandar Lampung, 02 Februari 2023
Penulis

Hendriko Marisep
NPM 1817011055

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Manfaat Penelitian	2
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Diabetes Melitus	3
2.2 Pisang Kepok.....	4
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder.....	6
2.4 Flavonoid	6
2.5 Maserasi	7
2.6 Pemisahan Senyawa Kulit Pisang Kepok	7
2.6.1 Ekstraksi Cair-cair.....	7
2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis.....	8
2.7 Mencit.....	8
2.8 Aloksan.....	10
2.9 Glibenklamid	11
2.10 Karakterisasi Senyawa	12
2.10.1 Spektrofotometer UV-Vis.....	12
2.10.2 Spektrofotometer IR	12
2.11 Molekular <i>Docking</i>	13
2.12 Penentuan Farmakokinetik Obat.....	14
2.12.1 <i>Lipinski Rule of Five</i>	14
2.12.2 Swiss ADME dan Pre-ADMET	15
2.12.3 Toksisitas	15

III. METODE PENELITIAN	16
3.1 Waktu dan Tempat.....	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.3 Prosedur Penelitian	17
3.3.1 Persiapan Sampel	17
3.3.2 Ekstraksi	17
3.3.3 Uji Kandungan Fitokimia.....	18
3.3.3.1 Uji Flavonoid.....	18
3.3.3.2 Uji Alkaloid.....	18
3.3.3.3 Uji Steroid dan Terpenoid	18
3.3.3.4 Uji Tanin	18
3.3.3.5 Uji Saponin.....	19
3.3.4 Pemisahan Senyawa	19
3.3.4.1 Ekstraksi Cair-cair (Partisi).....	19
3.3.4.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	19
3.3.4.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP).....	20
3.3.5 Karakterisasi Senyawa.....	21
3.3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes	21
3.3.6.1 Rancangan Penelitian	21
3.3.6.2 Persiapan Hewan Uji.....	22
3.3.6.3 Penyuntikan Larutan Aloksan	22
3.3.6.4 Pemberian Dosis Glibenklamid	22
3.3.6.5 Pembuatan Dosis Ekstrak	23
3.3.6.6 Pemberian Perlakuan Pada Hewan Uji	23
3.3.6.7 Parameter Uji.....	23
3.3.6.8 Analisis Data	24
3.3.7 Simulasi <i>Docking</i>	24
3.3.7.1 <i>Redocking</i> Ligan <i>Native</i>	24
3.3.7.2 Analisis Hasil <i>Redocking</i> dan Visualisasi 2D.....	25
3.3.7.3 <i>Docking</i> Menggunakan Ligan Senyawa Uji	26
3.3.7.4 Analisis Hasil <i>Docking</i> dan Visualisasi 2D	26
3.3.8 Penentuan Farmakokinetik.....	26
3.3.9 Diagram Alir	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
4.1 Ekstrak Kulit Pisang Kepok	29
4.2 Skrining Fitokimia	29
4.3 Ekstrak Hasil Partisi Cair-cair.....	31
4.4 Fraksi Hasil Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis	32
4.5 Fraksi Hasil Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif	33
4.6 Karakteristik Fraksi Flavonoid Kulit Pisang Kepok	33

4.6.1 Spektrofotometer UV-Vis	33
4.6.2 Spektrofotometer IR	34
4.7 Aktivitas Antidiabetes	36
4.7.1 Pengukuran Berat Badan.....	36
4.7.2 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah.....	38
4.8 Analisa Data	40
4.9 Simulasi <i>Docking</i> dan Farmakokinetik.....	42
4.9.1 Validasi <i>Redocking</i>	42
4.9.2 Potensi Turunan Flavonoid Sebagai Antidiabetes.....	45
V. SIMPULAN DAN SARAN	49
5.1 Simpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rancangan Acak Lengkap.....	21
2. Hasil skrining fitokimia ekstrak kulit pisang kepok	30
3. Daerah serapan fraksi flavonoid dan kuersetin	35
4. Hasil uji aktivitas antidiabetes dalam % <i>glucose lowering</i> (%GL)	39
5. Hasil Uji <i>Oneway</i> ANOVA.....	40
6. Hasil BNT pada minggu ke-3	41
7. Hasil BNT pada minggu ke-4	41
8. Hasil <i>redocking</i> ligan <i>native</i>	44
9. Hasil <i>docking</i> seluruh senyawa uji.....	45
10. Hasil analisis <i>Lipinski Rule of Five</i>	46
11. Hasil prediksi absorpsi dan distribusi	46
12. Hasil prediksi toksisitas ligan senyawa uji.....	47
13. Berat badan mencit pada minggu ke-1	68
14. Berat badan mencit pada minggu ke-2.....	68
15. Berat badan mencit pada minggu ke-3.....	68
16. Berat badan mencit pada minggu ke-4.....	69
17. Kadar glukosa darah mencit pada minggu ke-1	70
18. Kadar glukosa darah mencit pada minggu ke-2.....	70
19. Kadar glukosa darah mencit pada minggu ke-3.....	70
20. Kadar glukosa darah mencit pada minggu ke-4.....	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon pisang kepok	4
2. Kulit buah pisang kepok	5
3. Struktur 5, 6, 7, 4'-tetrahidroksi-3-4-flavan-diol	5
4. Struktur flavon	6
5. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	9
6. Struktur aloksan	10
7. Struktur glibenklamid	11
8. Diagram alir uji <i>in vivo</i>	27
9. Diagram alir uji <i>in silico</i>	28
10. Ekstrak kental kulit pisang kapok	29
11. Hasil partisi metanol : n-heksana (1:1)	32
12. Hasil KLT (a) UV 254 nm dan (b) UV 366 nm.....	32
13. Hasil KLTP UV (a) 254 nm, (b) 366 nm, dan (c) tanpa langsung.....	33
14. Spektrum UV-Vis fraksi flavonoid	34
15. Spektrum IR fraksi flavonoid.....	35
16. Grafik rerata berat badan mencit selama perlakuan.....	36
17. Grafik rerata kadar glukosa darah mencit selama perlakuan	38
18. PDB 5DI1	42
19. Preparasi 5DI1 (a) protein dan (b) ligan	43
20. Validasi <i>redocking</i> (a) himpitan ligan, (b) interaksi asam amino, dan (c) bentuk <i>surface</i>	44
21. Preparasi kulit pisang kepok (a) pengumpulan, (b) pembersihan, (c) pengeringan, (d) penggilingan, (e) serbuk, (f) perendaman, (g) penyaringan, (h) maserat, dan (i) pemekatan.....	57
22. Perkembangan mencit (a) adaptasi, (b) penimbangan BB, (c) pengukuran KGD, (d) penyuntikan aloksan, (e) pemberian obat	58

23. Hasil skrining fitokimia golongan alkaloid (a) reagen Mayer, (b) reagen Dragendorff, dan (c) reagen Wagner.	59
24. Hasil skrining fitokimia golongan saponin	59
25. Hasil skrining fitokimia golongan (a) flavonoid, (b) tanin, dan (c) steroid	59
26. Spektrum UV-Vis beberapa senyawa flavonoid.....	80

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah dalam tubuh akibat tidak dapat memproduksi cukup hormon insulin atau tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. *International Diabetes Federation* (IDF) mengungkapkan bahwa tercatat pada tahun 2021 sebanyak 537 juta orang dewasa (umur 20-79 tahun) di dunia mengalami diabetes. Kasus pada penyakit ini di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 19,5 juta dan diperkirakan akan meningkat mencapai 28,6 juta dengan prevalansi peningkatan sebesar 47% (*International Diabetes Federation*, 2021). Pengobatan yang biasa dilakukan oleh penderita diabetes melitus yaitu dengan cara suntikan atau pemberian obat kimia antidiabetes. Pengobatan dengan cara tersebut tentunya memiliki efek samping dan membutuhkan biaya yang relatif mahal (Mycek *et al.*, 2001). Cara tradisional untuk mengobati dan mengendalikan kadar glukosa darah yang umumnya digunakan adalah bahan alam berupa tanaman herbal (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

Pisang mempunyai potensi dalam menurunkan kadar glukosa darah karena mengandung senyawa flavonoid (Syamsuddin, 2013). Bagian yang biasanya dimanfaatkan pada pisang adalah buah dan daun, sedangkan bagian yang belum banyak dimanfaatkan adalah kulitnya (Fawzia dkk., 2012). Kulit pisang mengandung antioksidan yang tinggi dibandingkan dengan dagingnya. Kulit pisang memiliki kandungan antioksidan yang tinggi sehingga dianggap mampu memberikan efek penurunan kadar glukosa darah (Kanazawa dan Saksakibara, 2000). Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui ekstrak etanol bonggol pisang kepok mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus dengan dosis efektif 200 mg/200 g (Wenas dkk., 2020).

Perkembangan teknologi lebih lanjut menggunakan komputasi dilakukan penambatan molekul senyawa – senyawa flavonoid dari kulit pisang kepok yaitu cyanidin, delphinidin, malvidin, petunidin, kaempferol, flavon, dan kuersetin (Atun dkk., 2007). Metode penambatan molekul dipilih karena biaya yang relatif murah dan cepat. Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian dengan memanfaatkan kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata*) untuk menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi aloksan secara *in vivo* dan *in silico* flavonoid pada protein 5DI1.

1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan ekstrak dari kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata*).
2. Mengetahui karakterisasi senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata*).
3. Mengetahui dosis efektif dari pemberian ekstrak kulit buah pisang kepok (*Musa acuminata*) pada penurunan kadar glukosa darah hewan mencit (*Mus musculus*).
4. Melakukan uji *docking* senyawa turunan flavonoid dari kulit pisang dengan menggunakan protein 5DI1 secara *in silico*.
5. Mendapatkan kandidat obat secara farmakokinetik dari senyawa flavonoid yang terdapat di kulit pisang.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini yaitu:

1. Memberikan informasi pemanfaatan kulit buah pisang kepok dalam menurunkan kadar glukosa darah.
2. Menjadikan alternatif pemanfaatan limbah sebagai obat antidiabetes.
3. Mengetahui jenis flavonoid pada kulit pisang yang baik dijadikan sebagai kandidat obat antidiabetes.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah dalam tubuh akibat tidak dapat memproduksi cukup hormon insulin atau tidak dapat menggunakan insulin secara efektif.

International Diabetes Federation (IDF) mengungkapkan bahwa tercatat pada tahun 2021 sebanyak 537 juta orang dewasa (umur 20-79 tahun) di dunia mengalami diabetes. Kasus penyakit diabetes di Indonesia pada tahun 2021 mencapai 19,5 juta dan diperkirakan akan meningkat mencapai 28,6 juta dengan prevalansi peningkatan sebesar 47% (*International Diabetes Federation, 2021*).

Sekitar 90% penderita diabetes mellitus adalah diabetes mellitus tipe 2. Manusia dikatakan diabetes apabila kadar glukosa darah dalam tubuh ≥ 200 mg/dL. Hal tersebut terjadi karena pankreas tidak mampu mensekresi insulin, gangguan kerja insulin atau keduanya. Insulin merupakan hormon yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas yang berperan dalam memasukkan glukosa dari aliran darah ke sel-sel tubuh untuk digunakan sebagai sumber energi.

Diabetes melitus dibagi menjadi dua tipe yaitu diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 terjadi karena mengalami kerusakan sel pankreas tempat dihasilkannya insulin. Hal ini mengakibatkan sel β pankreas tidak dapat mensekresikan insulin atau hanya dapat mensekresikan insulin dalam jumlah sedikit. Kerusakan pada sel β pankreas disebabkan oleh peradangan pada pankreas. Pengobatan diabetes tipe 1 ini dilakukan dengan pemberian insulin kepada penderita. Diabetes melitus tipe 2 tidak mengalami kerusakan sel β pankreas tetapi insulin yang disekresikan jumlahnya semakin menurun (Murray, 2003). Diabetes mellitus tipe 2 umumnya disebabkan oleh obesitas atau kelebihan berat badan, dan biasanya terjadi pada usia dewasa lebih dari 45 tahun.

Pengobatan diabetes melitus tipe 2 dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olah raga, namun dapat pula diobati dengan obat-obatan antidiabetes (Matsumono *et al.*, 2002).

2.2 Pisang Kepok

Pisang merupakan jenis tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat mulai dari buah, batang, daun, kulit hingga bonggolnya. Pisang dapat digunakan sebagai alternatif pangan pokok karena mengandung karbohidrat yang tinggi. Pisang kepok (*Musa acuminata*) merupakan jenis pisang olahan yang paling sering diolah terutama dalam olahan pisang goreng dalam berbagai variasi dan sangat cocok diolah menjadi keripik, buah dalam sirup, aneka olahan tradisional, dan tepung (Prabawati dkk., 2008).



Gambar 1. Pohon pisang kepok

Klasifikasi tanaman pisang kepok berdasarkan (Suhartono, 2011) sebagai berikut:

Division : Magnoliophyta
Subdivision : Spermatophyta
Class : Liliopsida
Sub Class : Commelinidae
Ordo : Zingiberales
Famili : Musaceae
Genus : *Musa*
Species : *Musa acuminata*

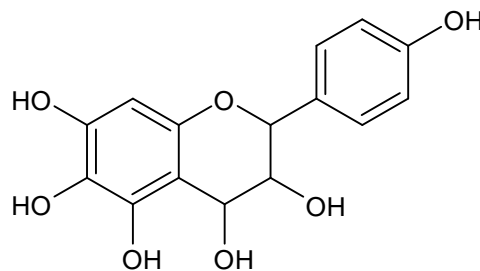
Pisang kepok memiliki kulit yang sangat tebal dengan warna kuning kehijauan dan kadang bernoda cokelat, serta daging buahnya manis. Pisang kepok tumbuh pada suhu optimum sekitar 27°C dan suhu maksimum yaitu 38°C. Bentuk buah pisang kepok agak gepeng dan bersegi. Ukuran buahnya kecil, panjangnya 10-12 cm dan beratnya 80-120 gram. Pisang kepok memiliki warna daging buah putih dan kuning (Prabawati dkk., 2008).

Kulit pisang merupakan bagian yang sering menjadi bahan buangan atau limbah yang cukup banyak jumlahnya. Kulit pisang umumnya belum banyak dimanfaatkan secara nyata, biasanya hanya dibuang sebagai limbah saja. Jumlah kulit pisang yang cukup banyak akan memiliki nilai jual yang menguntungkan apabila bisa dimanfaatkan (Susanti, 2006).



Gambar 2. Kulit buah pisang kepok

Kulit pisang kepok (*Musa acuminata*) memiliki kandungan flavonoid dan fenol yang tinggi (Singhal, 2013). Kandungan lain yang ada pada kulit pisang adalah tanin. Kulit buah pisang kepok kuning mengandung senyawa metabolit sekunder jenis flavonoid 5, 6, 7, 4'-tetrahidroksi-3-4-flavan-diol (Atun dkk., 2007). Pada penelitian (Supriyanti dkk., 2015) menunjukkan bahwa kulit buah pisang kepok juga memiliki beberapa kandungan metabolit lain seperti terpenoid dan tanin.



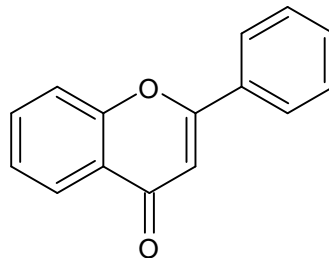
Gambar 3. Struktur 5, 6, 7, 4'-tetrahidroksi-3-4-flavan-diol

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit sekunder biasanya memiliki karakteristik yang berbeda antara spesies yang satu dengan spesies yang lain. Secara umum senyawa ini hanya berfungsi sebagai pelindung diri bagi organisme dalam mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Namun berdasarkan suatu pendekatan disiplin ilmu kimia bahan alam, senyawa metabolit diketahui dapat digunakan sebagai komponen utama dalam penemuan dan pengembangan senyawa obat (Atun dkk., 2007).

2.4 Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dalam jaringan tanaman. Senyawa ini merupakan golongan senyawa fenolik dengan rumus struktur $C_6-C_3-C_6$ dengan kerangka struktur terdiri dari dua cincin aromatik yang dibatasi satu buah cincin heterosiklik yang mengandung oksigen (Ajie, 2015).



Gambar 4. Struktur flavon

Flavonoid dapat ditemukan dalam semua jenis tanaman berpembuluh, terutama flavonoid jenis flavon dan flavanon yang tersedia di alam dalam jumlah yang sangat besar, sedangkan untuk flavonoid jenis isoflavon dan biflavanol biasanya ditemukan dalam beberapa jenis tanaman dengan suku tertentu. Flavonoid umumnya ditemukan dalam bentuk glikosida dan agliko protein yang terikat pada gula dalam tanaman, selain itu flavonoid juga biasa ditemukan dalam bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987).

Flavonoid merupakan senyawa turunan dari grup polifenolik yang terdapat pada banyak tumbuhan dan tidak sedikit penelitian yang telah dilakukan serta membuktikan bahwa flavanoid dapat berperan penting dalam memperbaiki metabolisme tubuh dan regulasi glukosa darah terhadap kasus diabetes melitus serta antioksidannya berperan dalam proses antidiabetik kuat melebihi vitamin C dan B6 (Kumkrai *et al.*, 2015).

Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat mengikat radikal bebas penyebab resistensi insulin, selain itu antioksidan flavonoid juga dapat menstabilkan radikal bebas dengan menyumbangkan satu atom hidrogennya. Kemampuan lainnya berupa menghambat transport glukosa (GLUT 2) sehingga menurunkan absorpsi gula sehingga resistensi adenosine monofosfat siklik (cAMP) dapat meningkat dalam pankreas (Ajie, 2015).

2.5 Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam bahan mentah (kasar atau bubuk) dalam pelarut yang dipilih pada suhu kamar dengan pergantian pelarut secara berkala. Selama maserasi berlangsung jaringan menjadi lunak dan senyawa yang ada di dalam jaringan akan larut ke dalam cairan (ekstrak). Pelarut dikeluarkan dari campuran setelah ekstraksi selesai dengan proses penguapan menggunakan *rotary evaporatory* untuk memekatkan produk. Ekstrak yang diperoleh mengandung banyak senyawa metabolit sekunder (Azwanida, 2015).

2.6 Pemisahan Senyawa Kulit Pisang Kepok

2.6.1 Ekstraksi Cair-cair

Partisi merupakan metode ekstraksi yang didasarkan pada distribusi komponen dalam dua pelarut yang memiliki kelarutan berbeda dan tidak saling campur. Senyawa yang bersifat polar akan terbawa oleh pelarut polar, senyawa semipolar akan terbawa oleh pelarut semipolar, dan senyawa nonpolar akan terbawa oleh pelarut nonpolar (Khopkar, 2002).

2.6.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan teknik pemisahan senyawa campuran dengan menggunakan plat silika sebagai fase diam yang nantinya fase diam tersebut akan secara seragam tersebar diatas permukaan plat tersebut dan fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007). Kromatografi lapis tipis digunakan untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa flavonoid ini digunakan untuk mengetahui berapa noda yang terpisah dari hasil eluen terbaik. Eluen yang terbaik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa yang ditandai dengan munculnya noda yang tidak berekor dan jarak antara noda yang muncul sangat jelas. Noda akan dideteksi menggunakan pereaksi yang sesuai dengan golongan senyawa yang dipisahkan.

Noda bercak yang muncul disinari menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm. Penampakan warna pada panjang gelombang tersebut disebabkan adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom. Saat penyinaran lampu UV diperoleh beberapa noda dengan nilai Rf yang berbeda. Komponen senyawa dalam noda tersebut masing-masing akan terpisah karena memiliki kemampuan pemisahan yang berbeda terhadap fase diam dan fase geraknya. Noda dengan nilai Rf yang rendah bersiat lebih polar dibandingkan dengan nilai Rf yang tinggi. Senyawa yang memiliki nilai Rf rendah maka koefisien distribusinya semakin besar karena senyawa tertahan kuat pada fase diamnya (polar) dibandingkan fase geraknya (non polar).

2.7 Mencit

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu jenis hewan mamalia yang mudah dipelihara dan dapat berkembang biak dengan cepat sehingga hewan ini banyak digunakan dalam penelitian laboratorium. Hewan ini dinilai cukup efisien ekonomis karena mudah dipelihara, tidak memerlukan tempat yang luas, waktu kelahiran yang singkat, dan banyak memiliki anak perkelahiran. Mencit juga merupakan hewan yang mudah menyesuaikan diri dengan perubahan lingkungan yang sering dibuat manusia (Malole dan Pramono, 1989).

Mencit (*Mus musculus*) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Akbar, 2010) :

Kingdom : Animalia
Pilum : Chordata
Sub Pilum : Vertebrata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Family : Muridae
Genus : *Mus*
Spesies : *Mus musculus*



Gambar 5. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit merupakan salah satu hewan percobaan yang dapat digunakan untuk mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu baik dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Penggunaan mencit dalam penelitian sangat efektif untuk mempelajari proses pertumbuhan, masa laktasi dan reproduksi dengan biaya lebih murah. Hal ini didukung oleh keunggulan mencit dibandingkan dengan ternak biasa antara lain siklus hidupnya relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah ditangani (Yandiana, 2005).

Mencit memiliki bentuk tubuh yang kecil, berwarna putih dan memiliki siklus estrus yang teratur yaitu 4-5 hari. Mencit betina dewasa biasanya memiliki umur 35-60 hari dan memiliki berat 18-35 gram dengan ketahanan hidup sekitar 1-2 tahun. Masa reproduksi mencit betina dapat berlangsung 1,5 tahun. Mencit betina umumnya dapat melahirkan anak mencit sekitar 6-25 ekor dengan berat 0,5-1,5 gram dengan masa kehamilan selama 19-20 hari. Pemeliharaan mencit harus dilakukan pada kondisi ruang yang senantiasa bersih, jauh dari kebisingan,

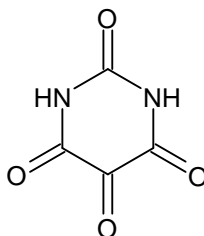
suhu ruang berkisar 18-19°C serta dengan kelembaban udara sekitar 30-70% (Akbar, 2010).

Mencit memiliki hubungan yang erat dengan penelitian, karena mencit digunakan sebagai model penyakit manusia dalam hal genetika. Hal tersebut karena kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme dan biokimianya cukup dekat dengan manusia. Seluruh tubuh mencit berwarna putih dari ujung kepala sampai ekor, sedangkan matanya berwarna merah jambu. Dilihat dari struktur anatominya, mencit memiliki lima pasang kelenjar susu.

Mencit jantan digunakan dengan alasan kondisi biologisnya stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus. Selain keseragaman jenis kelamin, hewan uji digunakan juga mempunyai keseragaman berat badan (antara 30-40 gram), dan umur (2-3 bulan). Hal ini bertujuan untuk memperkecil variabilitas biologis antar hewan uji yang digunakan, sehingga dapat memberikan respon yang relatif lebih seragam terhadap pengaruh efektivitas pemberian ekstrak kulit dan bonggol pisang kepok yang digunakan dalam penelitian ini (Nugroho, 2006).

2.8 Aloksan

Aloksan adalah bahan kimia yang umumnya digunakan untuk induksi diabetes melitus pada mencit dalam penelitian. Aloksan memiliki struktur kimia IUPAC yaitu 1,3-diazinan-2,4,5,6-tetron atau 2,4,5,6-tetraoxypyrimidine. Aloksan merupakan senyawa turunan pirimidin yang bersifat hidrofilik dan tidak stabil, memiliki waktu paruh 1,5 menit pada suhu 37°C dan pH netral.



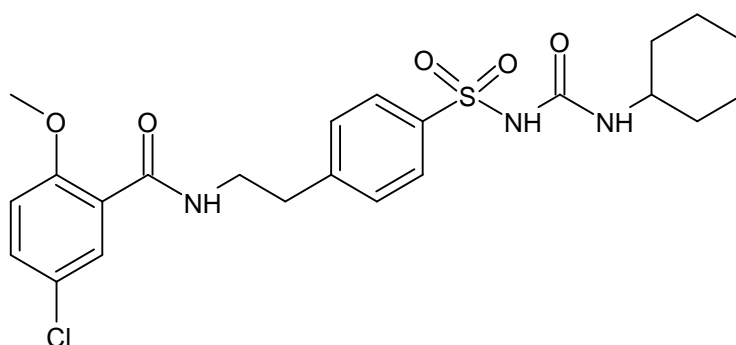
Gambar 6. Struktur aloksan

Aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Dosis intravena biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Szkudelski, 2001). Aloksan memiliki dua efek patologis yaitu selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui kemampuannya untuk menghambat sensor glukosa sel beta dan mengakibatkan kerusakan sel beta pankreas yang merupakan akibat radikal hidroksil (Lenzen, 2008).

Kerusakan sel- β pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson *et al.* (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS = *reactive oxygen species*). ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel- β pankreas.

2.9 Glibenklamid

Salah satu golongan antidiabetik oral yang sering digunakan ialah golongan glibenklamid yang termasuk ke dalam obat golongan sulfonil urea. Glibenklamid memiliki ciri serbuk putih atau hampir putih atau bubuk kristal. Kelarutan glibenklamid praktis tidak larut dalam air, mudah larut dalam metilen klorida, sedikit larut dalam alkohol dan metanol. Glibenklamid memiliki titik lebur 172-174⁰C (Pharmacopoeia, 2008).



Gambar 7. Struktur glibenklamid

Glibenklamid digunakan sebagai obat antidiabetik oral yang merupakan pilihan pengobatan awal untuk diabetes melitus tipe 2 pada pasien dengan hiperglikemia

(Sweetman, 2002). Terapi dengan glibenklamid biasanya dimulai dengan dosis 2,5 mg diberikan sekali sehari. Dosis harian maksimal yang disarankan adalah 20 mg (Sharma *et al.*, 2016). Glibenklamid mengendalikan kadar gula dengan merangsang sekresi insulin di pankreas dan meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin (Hardman, 1996).

2.10 Karakterisasi Senyawa

2.10.1 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis atau spektrofotometer ultraviolet-sinar tampak memanfaatkan sinar dengan panjang gelombang 180-380 nm untuk daerah UV dan 380-780 nm untuk daerah visible atau sinar tampak. Prinsip dari spektrofotometer UV-Vis adalah penyerapan yang terjadi pada interaksi radiasi UV dengan molekul yang mengakibatkan molekul tersebut mengalami transisi elektronik. Transisi ini pada umumnya terjadi antara orbital ikatan atau orbital pasangan bebas dan orbital anti ikatan, selain itu juga karena adanya gugus berikatan rangkap atau terkonjugasi yang mengabsorpsi radiasi elektronik di daerah UV. Panjang gelombang serapan yang muncul merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital suatu molekul (Sudjadi, 1983).

Secara umum sistem spektrofotometer terdiri atas sumber radiasi, monokromator, fotosel, detektor dan tampilan (display). Pada spektrofotometer UV-Vis sampel diukur dalam bentuk larutan. Pembentukan warna untuk zat atau senyawa yang tidak berwarna dapat dilakukan dengan pembentukan kompleks atau dengan cara penambahan pereaksi geser (Warono dan Syamsudin, 2013).

2.10.2 Spektrofotometer IR

Pada pengukuran menggunakan spektrofotometer Infrared (IR) dilakukan pada bilangan gelombang antara 400-4500 cm^{-1} . Daerah bilangan ini merupakan daerah optimum untuk penyerapan sinar IR bagi ikatan-ikatan dalam senyawa organik. Dasar dari pengukuran spektroskopi inframerah adalah suatu ikatan kimia yang dapat bervibrasi sesuai dengan level energinya sehingga memberikan

level yang spesifik. Jenis-jenis vibrasi molekul biasanya terdiri dari enam macam, yaitu *symmetrical stretching*, *assymmetrical stretching*, *scissoring*, *rocking*, *wagging*, dan *twisting*. Daerah inframerah dibagi menjadi tiga sub daerah, yaitu inframerah dekat ($14000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$), inframerah sedang ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$), dan inframerah jauh ($400 - 10 \text{ cm}^{-1}$) (Stuart, 2004).

Prinsip dari Spektrofotometri Infrared (IR) adalah bila radiasi inframerah dilewatkan melalui suatu cupikan, maka molekul-molekulnya dapat menyerap 14 energi sehingga terjadi transisi antara vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi. Pengabsorbsian energi pada berbagai frekuensi dapat dideteksi oleh spektrofotometer inframerah, yang memplot jumlah radiasi inframerah yang diteruskan melalui suatu cupikan sebagai fungsi frekuensi atau panjang gelombang radiasi. Plot disebut spektrum inframerah yang memberikan gugus fungsional (Silverstein et al., 2005).

2.11 Molekular Docking

In silico merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mencari senyawa yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat. Penggunaan metode studi *in silico* ini memiliki banyak keuntungan diantaranya yaitu mengurangi jumlah hewan coba yang digunakan pada saat percobaan serta dapat mengetahui mekanisme senyawa kandidat obat terhadap targetnya dalam bentuk visualisasi (Mirza, 2019).

Molecular docking adalah metode secara *in silico* yang mempelajari berbasis komputasi. Metode ini dapat digunakan untuk mencari pola interaksi yang paling tepat antara molekul ligan dan reseptor. Saat ini penelitian dengan menggunakan metode komputasi sangat penting diberbagai aspek penelitian pada bidang biologi dan medis. Salah satu manfaat dari penggunaan metode ini yaitu dapat dilihat dalam berbagai proses penemuan dan pembuatan obat (Widodo, 2018).

Uji *in silico* dilakukan untuk memprediksi aktivitas molekul dengan sel target yang dipilih dengan cara melakukan *docking*. Docking bertujuan untuk menyesuaikan dan menyelaraskan suatu molekul kecil (ligan) ke dalam sel target yaitu molekul besar (protein). Hasil dari docking berupa nilai *Root Mean Square*

Deviation (RMSD) atau nilai energi ikatan. Docking ini sangat penting dalam dunia medis dalam merancang, optimasi serta menemukan obat (Hardjono, 2015).

Menurut Stefaniu (2019) terdapat beberapa langkah yang digunakan untuk mempelajari *molecular docking* yaitu sebagai berikut:

1. Preparasi ligan, optimalisasi ligan dan analisis struktur 3D.
2. Preparasi reseptor. Penggunaan protein harus fleksibel dalam mengikat ligan sehingga molekul air harus di lepaskan sebelum melakukan penambatan.
3. Identifikasi *binding site*. Langkah ini memiliki peranan penting dalam merancang obat dengan komputasi yang digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisa lokasi yang mengikat dan memprediksi reseptor.

2.12 Penentuan Farmakokinetik Obat

2.12.1 Lipinski Rule of Five

Lipinski Rule of Five merupakan sebuah aplikasi yang digunakan untuk memprediksi keaktifan suatu obat atau senyawa kimia ketika diberikan secara oral pada manusia (Lipinski, 2004). Reseptor yang digunakan dalam penelitian berada dalam sel sehingga ligan harus memiliki kemampuan untuk menembus membran sel agar dapat berikatan dengan reseptor targetnya (Kuiper, 1990). Aplikasi ini akan membantu untuk menentukan sebuah molekul (ligan) memiliki kemampuan bioavailabilitas yang tinggi sehingga dapat berikatan dengan reseptornya (Arwansyah, 2014).

Adapun syarat yang harus dipenuhi sebagai kandidat obat (Lipinski, 2004) diantaranya yaitu :

- a. Berat molekul kurang dari 500
- b. Memiliki tidak lebih dari 5 ikatan hidrogen donor
- c. Memiliki tidak lebih dari 10 ikatan hidrogen akseptor
- d. Nilai logP tidak lebih dari 5
- e. Molar refractivity berada pada rentang 40 sampai 130

2.12.2 Swiss ADME dan Pre-ADMET

Software ini mudah digunakan untuk mendapatkan informasi terkait kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME). Salah satu uji yang dapat dianalisis uji Pre-ADMET adalah uji HIA (*Human Intestinal Absorption*), sel Caco-2, dan PPB (*Plasma Protein Binding*). HIA merupakan salah satu uji yang digunakan untuk memprediksi potensi terabsorpsi suatu senyawa obat di dinding usus. Sel Caco-2 merupakan model *in vitro* untuk mengetahui transport obat melalui epitel intestinal yang berasal dari adenocarcinoma kolon manusia yang memiliki jalur transportasi ganda. *Plasma protein binding* (PPB) merupakan fraksi obat yang tersedia dalam bentuk bebas untuk didistribusikan ke berbagai jaringan. Uji ini telah digunakan dalam bidang farmakologi untuk kepentingan mendesain ataupun mengoptimasi kandidat obat (Wessel *et al.*,1998).

2.12.3 Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan software protox yang memberikan informasi mengenai bagaimana prediksi toksisitas senyawa uji yang akan menjadi kandidat obat. Parameter yang dilihat pada protox adalah prediksi kelas toksisitas serta prediksi yang melibatkan *hepatotoxicity*, *carcinogenicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity*, dan *cytotoxicity*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – November 2022. Ekstraksi kulit pisang kepok dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi menggunakan *Ultraviolet Visible Spectrophotometer* (UV-Vis) dan *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FTIR) dilaksanakan di Institut Teknologi Bandung (ITB), Bandung. Pengujian aktivitas antidiabetes dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Simulasi *docking* dilakukan di Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggiling, wadah penyimpanan, rangkaian alat destilasi, *rotary evaporator*, labu bulat, pipet tetes, tabung reaksi, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan KLT preparatif, lampu UV, corong pisah, corong kaca, spatula, gelas beaker, tabung sentrifus, sentrifus, kertas saring, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, glukometer, strip glukosa, jarum sonde, alat suntik, timbangan, *alcohol swabs*, dan spuit 1 cc.

Alat-alat yang digunakan pada saat simulasi *docking* yaitu perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan yaitu laptop sedangkan perangkat lunak yang digunakan berupa aplikasi software yaitu Discovery Studio Visualization 2021, AutodockTools 1.5.7, dan Avogadro.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit pisang kepok, metanol, H₂SO₄, FeCl₃ 1%, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, pereaksi Lieberman Bouchard, mencit, pakan dan air mencit,

kandang, aloksan, glibenklamid, NaCMC 1%, NaCl 0,9%, akuades, n-heksana, serium sulfat, dan plat silika.

Bahan-bahan yang digunakan pada saat simulasi *docking* yaitu protein 5DI1 yang didapatkan di website RCSB PDB, ligan senyawa uji, serta situs farmakokinetik meliputi *Lipinski Rule of Five*, Swiss ADME, dan protox.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel

Kulit pisang kepok yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Pasar Tamin, Bandar Lampung. Kulit pisang kepok kemudian dibersihkan dengan dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih ada. Kulit pisang kepok kemudian dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam oven pada suhu 40-50 °C. Pengeringan pada suhu tersebut bertujuan untuk mengurangi kandungan air dan mempermudah dalam pembentukan ekstrak. Tujuan lainnya yaitu untuk menghindari kerusakan senyawa metabolit sekunder apabila terkena cahaya matahari secara langsung. Kulit pisang kepok dihaluskan menggunakan penggiling hingga berbentuk serbuk. Tujuan dihaluskan yaitu untuk memperluas permukaan sampel sehingga pada saat kontak langsung dengan pelarut maka proses ekstraksi dapat terjadi dengan maksimal, dimana semakin halus serbuk sampel maka semakin mudah proses ekstraksi (Harborne, 1987). Serbuk kulit pisang yang didapatkan sebanyak 1 kg dan disimpan dalam wadah tertutup rapat.

3.3.2 Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi, dimasukkan sebanyak 1 kg serbuk direndam menggunakan pelarut metanol sebanyak 4 liter. Proses ini dilakukan selama 5 x 24 jam, sambil diaduk sesekali. Pisahkan hasil maserat yang didapat saat 24 jam pertama lalu lakukan pengulangan sebanyak 4 kali. Semua maserat dikumpulkan lalu diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental.

3.3.3 Uji Kandungan Fitokimia

Ekstrak kental dilanjutkan dengan menguji kandungan fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung di dalamnya (Tasmin dkk., 2014). Berikut ini beberapa uji fitokimia yang dilakukan yaitu sebagai berikut:

3.3.3.1 Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 5 mL HCl pekat setetes demi setetes. Hasil positif ditandai dengan larutan berwarna merah atau kuning dan terdapat busa.

3.3.3.2 Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi yang berbeda. Tambahkan masing-masing 5 tetes pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dan pereaksi Dragendorff ke dalam tabung reaksi. Hasil positif Mayer ditandai dengan larutan berwarna putih kecokelatan. Hasil positif Wagner dan Dragendorff ditandai dengan larutan berwarna jingga dan terdapat endapan coklat.

3.3.3.3 Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mL asam asetat glasial dan 0,5 mL H₂SO₄. Hasil positif jika mengandung steroid ditandai dengan warna larutan berubah menjadi biru atau ungu. Hasil positif jika mengandung terpenoid ditandai dengan warna larutan berubah menjadi merah atau kuning.

3.3.3.4 Uji Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif ditandai dengan larutan berwarna hitam kebiruan.

3.3.3.5 Uji Saponin

Sebanyak 0,5 mL ekstrak kental dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 5 mL akuades dan dikocok selama 30 detik. Hasil positif ditandai dengan terdapat busa.

3.3.4 Pemisahan Senyawa

3.3.4.1 Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

Partisi dilakukan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan pelarut yang digunakan yaitu metanol dan n-heksana. Kedua pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Mula-mula ekstrak sebanyak 30 gram dilarutkan dengan metanol 50 mL lalu ditambahkan sebanyak 50 mL n-heksana ke dalam corong pisah. Campuran tersebut selanjutnya dikocok dan dibuang gasnya. Tujuan dari pengocokan yaitu memanfaatkan prinsip "*like dissolve like*" yaitu menarik senyawa yang terlarut pada pelarut yang sama berdasarkan kepolarannya. Pisahkan campuran antara fraksi metanol dengan fraksi heksana.

3.3.4.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Proses pemisahan senyawa menggunakan KLT bertujuan untuk melihat pola pemisahan berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan fase gerak yang digunakan, serta memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram (Depkes RI, 2000). Ekstrak kental selanjutnya dipisahkan dengan KLT menggunakan plat silika F254 sebagai fase diam.

Plat KLT terlebih dahulu diaktivasi menggunakan oven pada suhu 100 °C selama 15 menit untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT (Sastrohamidjojo, 2007). Ekstrak kental diencerkan terlebih dahulu sebelum ditotolkan pada plat silika. Membuat garis pada plat KLT yaitu 0,5 cm dari batas bawah dan 0,5 cm dari batas atas dengan panjang plat 4 cm. Ekstrak kemudian ditotolkan dengan menggunakan pipa kapiler pada batas bawah plat KLT.

Cairan pengelusi dibuat dengan beberapa eluen yaitu n-butanol, asam asetat, dan akuades dengan perbandingan 3:1:1 yang dimasukkan ke dalam chamber. Kertas

saring dipotong memanjang kemudian dimasukkan ke dalam chamber hingga menjulur keluar dan chamber ditutup. Cairan dikatakan jenuh bila mana cairan pengelusi telah mencapai ujung atas dari kertas saring.

Plat KLT yang sudah ditotol dengan fraksi dimasukkan ke dalam chamber yang sebelumnya telah dijenuhkan. Posisi plat KLT berdiri dengan kemiringan 45^0 dari dinding chamber. Chamber ditutup dan plat KLT dibiarkan terelusi hingga batas atas. Plat dikeluarkan lalu dibiarkan hingga kering dan noda yang terbentuk diamati dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang nampak kemudian diberi tanda. Penyemprotan dengan serum sulfat dan amoniak apabila tidak terlihat noda bercak lalu diangin-anginkan dan dipanaskan di oven. Pereaksi serum sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel dengan ditandai timbulnya noda berwarna kuning. Noda warna yang telah tampak kemudian ditandai dan diukur jarak tempuhnya untuk diketahui nilai Rf (Hasma dan Winda, 2019). Setelah noda tampak kemudian dihitung nilai Rfnya dengan menggunakan rumus:

$$R_f = \frac{\text{Jarak rambat senyawa dari titik awal penotolan hingga pusat bercak}}{\text{Jarak rambat fase gerak dari titik awal penotolan hingga garis depan}} \quad (1)$$

Standar baku yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kuersetin. Kuersetin adalah standar baku yang biasanya digunakan untuk flavonoid. Penggunaan standar baku dalam identifikasi KLT dimaksudkan dengan tujuan untuk mempermudah dalam membedakan nilai Rf yang dihasilkan antara ekstrak dan standar baku.

3.3.4.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Pemisahan senyawa lebih lanjut menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP). Prosedur kerja yang dilakukan hampir sama dengan KLT pada umumnya, hanya saja terdapat perbedaan pada alat yang digunakan. Perbedaan tersebut terletak pada jenis plat dan chamber yang digunakan untuk proses elusi.

Ekstrak ditotolkan sepanjang batas bawah plat KLTP kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang sudah berisi eluen dengan perbandingan n-ButOH : CH₃COOH : H₂O (3:1:1) hingga terelusi naik. Plat KLTP yang sudah terelusi dikeluarkan lalu dibiarkan hingga kering. Hasil akan menunjukkan terbentuk pita memanjang dan selanjutnya diamati dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pita yang terbentuk diberi tanda kemudian dikerok, setelah itu dilarutkan ke dalam cawan porselen dengan eluen n-ButOH : CH₃COOH (1:1) lalu disaring ke dalam botol vial menggunakan kertas saring dan corong kaca. Hasil tersebut selanjutnya disentrifus dan dilakukan karakterisasi.

3.3.5 Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi senyawa dari fraksi flavonoid kulit pisang kepok menggunakan instrumen *Ultraviolet Visible Spectrophotometer* (UV-Vis) dan *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FTIR). Karakterisasi UV-Vis dilakukan menggunakan fraksi flavonoid sebanyak 3 mL dengan pengukuran panjang gelombang 200-800 nm. Karakterisasi FTIR diukur pada bilangan gelombang 500-4000 cm⁻¹.

3.3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes

3.3.6.1 Rancangan Penelitian

Bentuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dilakukan pada aktivitas antidiabetes dapat dilihat pada tabel dibawah ini yaitu:

Tabel 1. Rancangan Acak Lengkap

Kelompok Perlakuan	Ulangan			Total Ulangan
	1	2	3	
N	NU ₁	NU ₂	NU ₃	3
KP	KPU ₁	KPU ₂	KPU ₃	3
KN	KNU ₁	KNU ₂	KNU ₃	3
K ₁	K ₁ U ₁	K ₁ U ₂	K ₁ U ₃	3
K ₂	K ₂ U ₁	K ₂ U ₂	K ₂ U ₃	3
K ₃	K ₃ U ₁	K ₃ U ₂	K ₃ U ₃	3
Total	6	6	6	18

Keterangan:

N = Kelompok Normal

K1 = Kulit Pisang Kepok Dosis 1

KP = Kelompok Positif

K2 = Kulit Pisang Kepok Dosis 2

KN = Kelompok Negatif

K3 = Kulit Pisang Kepok Dosis 3

3.3.6.2 Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) sebanyak 18 ekor yang memiliki umur sekitar 2-3 bulan dan berat badan 15-30 gram yang didapatkan dari Palembang. Mencit dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu, dengan tujuan yaitu supaya mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan sebelum dilakukan berbagai perlakuan. Mencit diberikan pakan standar, air yang cukup dan kandang yang sama dengan tujuan agar tidak mempengaruhi hasil dan mencit mampu beradaptasi dengan kondisi disekitarnya (Harborne, 1987). Mencit ditempatkan di kandang yang terpisah, dengan masing-masing kandang berisi satu ekor. Tujuan dilakukan hal ini yaitu untuk menghindari tingkat stres mencit dan menghindari mencit untuk saling bertengkar.

3.3.6.3 Penyuntikan Larutan Aloksan

Mencit terlebih dahulu dipuasakan selama 16 jam sebelum dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah (Kusumawati, 2004). Pemeriksaan kadar glukosa awal terhitung pada hari ke-7. Semua kelompok kemudian disuntikkan aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB kecuali kelompok perlakuan normal. Mencit dianggap menderita diabetes apabila $KGD \geq 200$ mg/dl dan telah dapat digunakan untuk pengujian (Suharmiati, 2003). Tahap tersebut disebut sebagai mencit diabetes. Tujuan dilakukan penyuntikan aloksan yaitu supaya membuktikan aloksan bekerja dalam tubuh mencit dalam menaikkan kadar glukosa darah.

3.3.6.4 Pemberian Dosis Glibenklamid

Dosis glibenklamid pada manusia adalah 1,25-20 mg/hari. Konversi perhitungan dosis dari manusia (70 kg) ke mencit (20 g) adalah sebesar 0,0026 (Laurence and Bacharach, 1964). Dosis glibenklamid yang digunakan pada mencit diabetes yang

diinduksi aloksan 3 mg/kg BB (Karau *et al.*, 2012). Dosis glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebesar 5 mg/kg BB.

3.3.6.5 Pembuatan Dosis Ekstrak

Dosis Ekstrak Kulit Pisang Kepok (EKPK) yang akan dibuat adalah 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB yang dapat dilihat pada Lampiran 4.

3.3.6.6 Pemberian Perlakuan Pada Hewan Uji

Mencit yang mengalami keadaan hiperglikemia selanjutnya masing-masing kelompok diberikan perlakuan secara oral. Dosis ekstrak kulit pisang kepok yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada dosis yang telah dilakukan sebelumnya (Wenas dkk., 2020). Setiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda diantaranya sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol normal (N) : hanya diberi makan dan minum secukupnya.
- b. Kelompok kontrol negatif (KN) : hanya diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari.
- c. Kelompok kontrol positif (KP) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi glibenklamid pada minggu ke-3 dan ke-4.
- d. Kelompok dosis EKPK 1 (K1) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi EKPK dengan dosis 100 mg/kgBB/hari.
- e. Kelompok dosis EKPK 2 (K2) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi EKPK dengan dosis 200 mg/kgBB/hari.
- f. Kelompok dosis EKPK 3 (K3) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi EKPK dengan dosis 400 mg/kgBB/hari.

3.3.6.7 Parameter Uji

Parameter yang diamati dalam aktivitas antidiabetes adalah berat badan dan kadar glukosa darah pada mencit. Pemeriksaan berat badan dan kadar glukosa darah dilakukan sebanyak 4 kali. Pengecekan minggu pertama dilakukan setelah aklimatisasi, minggu kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan, minggu ketiga dan keempat dilakukan setelah mencit diberi perlakuan dengan glibenklamid dan EKPK. Pemeriksaan berat badan dilakukan menggunakan

timbangan dan pengecekan kadar glukosa darah dilakukan menggunakan glukometer. Ujung ekor mencit disterilkan menggunakan alkohol *swabs* yang bertujuan agar tidak terjadi iritasi dan infeksi, setelah itu ekor dilukai sedikit hingga darah yang keluar diteteskan pada strip yang sebelumnya telah dimasukkan ke alat glukometer kemudian ditunggu 10 detik hingga didapat hasil kadar glukosa darah pada layar glukometer.

3.3.6.8 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara *Analysis of Variance* (ANOVA) (Gaspersz, 1991). Data yang diperoleh dari hasil uji antidiabetes akan dianalisis menggunakan metode statistik *One-way Anova* dan BNT taraf nyata 5% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata kadar glukosa darah diantara 6 kelompok perlakuan. Jika pada uji *One-way Anova* menghasilkan nilai $p < 0,05$ (terdapat perbedaan), maka dilanjutkan analisis dengan menggunakan uji Post Hoc LSD untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan (Dahlan, 2008). Penilaian keseluruhan aktivitas antidiabetes dinyatakan sebagai penurunan glukosa (% GL) yaitu (Budiasih dan Pertiwi, 2015) :

$$\% \text{ GL} = \frac{\text{Kadar Glukosa sebelum perlakuan} - \text{Kadar Glukosa setelah perlakuan}}{\text{Kadar Glukosa sebelum perlakuan}} \times 100\% \quad (2)$$

3.3.7 Simulasi Docking

3.3.7.1 Redocking Ligan Native

Siapkan protein kode 5DI1 dari website RCSB PDB. Pisahkan ligan *native* dengan reseptor menggunakan Discovery Studio Visualization. Beri nama masing-masing file yang telah dipisahkan yaitu reseptor.pdb dan ligan.pdb.

Reseptor dan ligan tersebut selanjutnya dipreparasi menggunakan AutodockTools 1.5.7. Preparasi reseptor dilakukan dengan menambahkan muatan Kollman dan hidrogen polar sedangkan preparasi ligan dilakukan dengan menambahkan muatan *Compute Gasteiger*, hilangkan hidrogen dan sudut torsi. Simpan file preparasi dengan nama reseptor.pdbqt dan ligan.pdbqt.

Preparasi telah dilakukan maka selanjutnya menentukan lokasi atau *grid box*. Masukkan file hasil preparasi sebelumnya setelah itu lakukan select, kemudian lakukan *center on ligand*. Hal ini dilakukan untuk membuat ligan dapat mencari konformasi terbaiknya pada reseptor. Simpan file lokasi *redocking* dengan nama *grid.gpf*.

Grid box yang telah dibuat selanjutnya dilakukan rigid file nama pada reseptor dan ligan. Langkah selanjutnya melakukan Genetic Algorithm untuk membuat banyaknya konformasi (*running*) yang akan dilakukan ligan *native* terhadap reseptor. Simpan file jenis Lamarckian dengan nama *dock.dpf*.

Disiapkan file *grid* dan *docking* yang sebelumnya telah dibuat selanjutnya akan dilakukan validasi *redocking* dengan menjalankan Run Autogrid dan Run Autodock. Run Autogrid dapat dijalankan dengan membutuhkan *autogrid4.exe* dan file *grid.gpf* sedangkan Run Autodock membutuhkan *autodock4.exe* dan file *dock.dpf*. *Running* akan bekerja setelah klik Launch dan biarkan proses *running* bekerja. File *running* akan tersimpan oleh sistem dalam bentuk (.dlg).

3.3.7.2 Analisis Hasil *Redocking* dan Visualisasi 2D

Hasil dari *running* selanjutnya dapat dibaca dengan jenis file (.dlg) yang memuat informasi mengenai energi ikatan serta RMSD dari berbagai konformasi yang telah dibuat. Pilihlah nilai RMSD yang menunjukkan paling rendah, karena semakin kecil nilai RMSD maka semakin bagus bentuk konformasi yang telah didocking atau dengan kata lain ligan hasil *redocking* hampir mirip dengan ligan aslinya (ligan *native*), lalu simpan file dengan bentuk (.pdb).

Buka konformasi yang telah dipilih menggunakan Discovery Studio Visualization, setelah itu klik ligan *interaction* dan show 2D diagram. Maka akan muncul interaksi ikatan yang terjadi. Buka kembali konformasi hasil *redocking* pada lembar kerja baru kemudian lakukan drag ligan *native* ke layar kerja. Setelah itu matikan reseptor untuk melihat himpitan yang terjadi antara ligan *native* (sebelum *docking*) dengan ligan hasil setelah *docking*. Simpan file dalam bentuk gambar (.png).

3.3.7.3 Docking Menggunakan Ligan Senyawa Uji

Langkah dalam melakukan *docking* ligan senyawa uji kita membutuhkan ligan uji dan reseptor sebelumnya 5DI1. Ligan senyawa uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu senyawa flavonoid yang berasal dari kulit pisang kepok diantaranya yaitu cyanidin, delphinidin, petunidin, malvidin, kaempferol, dan flavon. Senyawa uji tersebut dibuat strukturnya menggunakan Avogadro dan dioptimasi, kemudian disimpan dalam bentuk (.pdb). Masing-masing ligan senyawa uji selanjutnya dilakukan preparasi menggunakan AutodockTools dengan cara yang sama seperti preparasi ligan *native*.

Preparasi telah dilakukan jika file telah disimpan dalam bentuk (.pdbqt) dan akan dilanjutkan untuk penentuan *grid box*. Pada tampilan *grid box* kali ini tidak memerlukan *center on ligand*, karena *center on ligand* hanya digunakan pada ligan *native* untuk mencari lokasi yang sebenarnya. *Grid box* diisi dengan menyesuaikan angka-angka yang terdapat pada *grid box* sebelumnya (grid.gpf), dan simpan file dengan nama (griduji.gpf). Langkah selanjutnya sama yaitu menentukan banyaknya konformasi (*running*) yang dapat disimpan dengan nama (dockuji.dpf) serta menjalankan *running* Autogrid dan Autodock dimana file *running* akan tersimpan oleh sistem dalam bentuk (.dlg).

3.3.7.4 Analisis Hasil Docking dan Visualisasi 2D

Hasil dari *running* selanjutnya dapat dibaca dengan jenis file (.dlg) dengan menu *analyse* pilih konformasi terbaik dan *save* dalam bentuk (.pdb). Buka konformasi yang telah dipilih menggunakan *Discovery Studio Visualization*, setelah itu klik ligan *interaction* dan *show 2D diagram* maka akan muncul interaksi ikatan yang terjadi. Buka konformasi hasil *docking* pada lembar kerja baru kemudian lakukan *drag* ligan *native* ke layar kerja. Simpan file dalam bentuk gambar (.png).

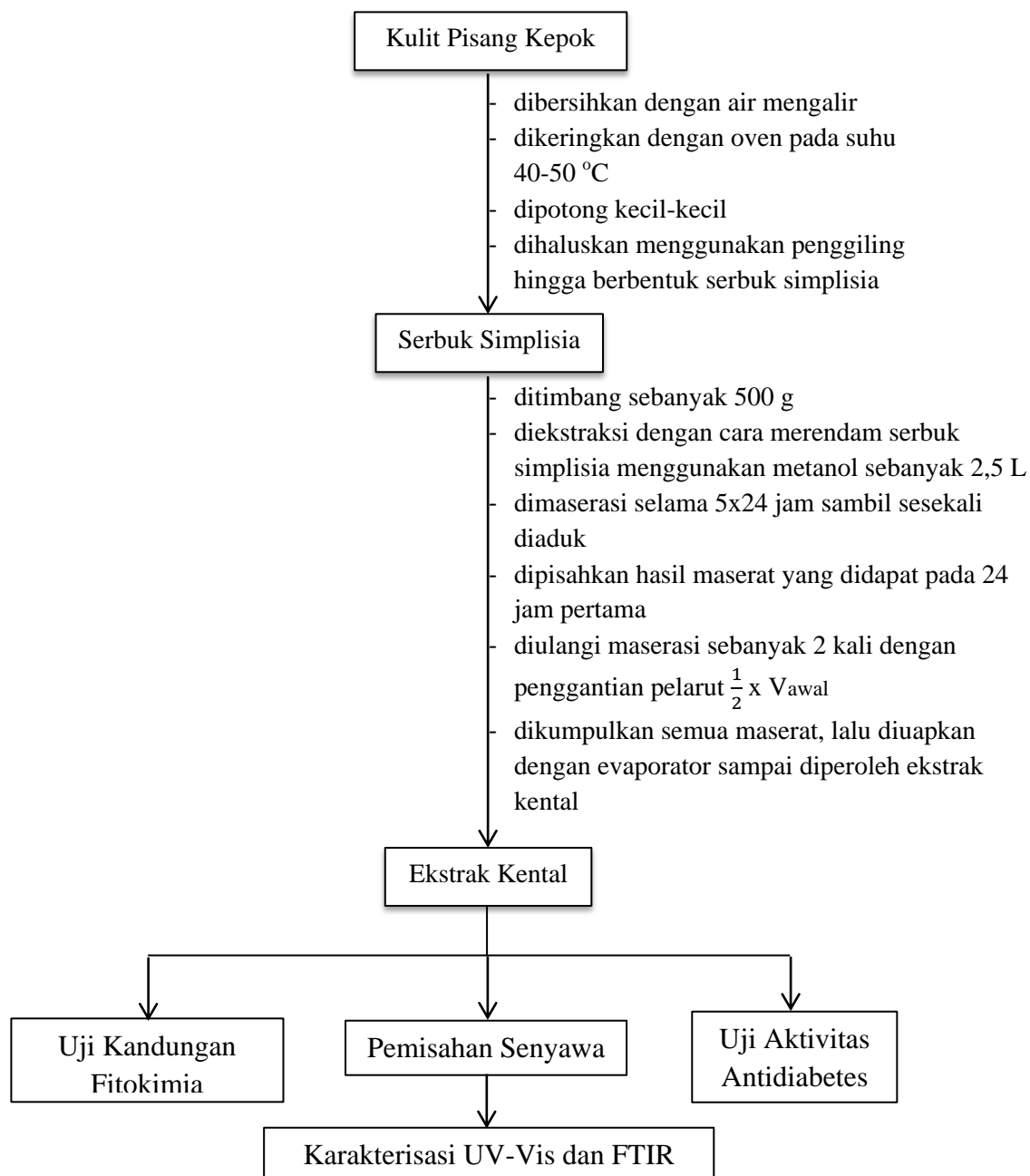
3.3.8 Penentuan Farmakokinetik

Penentuan farmakokinetik menggunakan situs website *Lipinski Rule of Five*, *Swiss ADME*, dan *Protox*. Prediksi kandidat obat dilakukan menggunakan ligan senyawa uji pada simulasi *docking*.

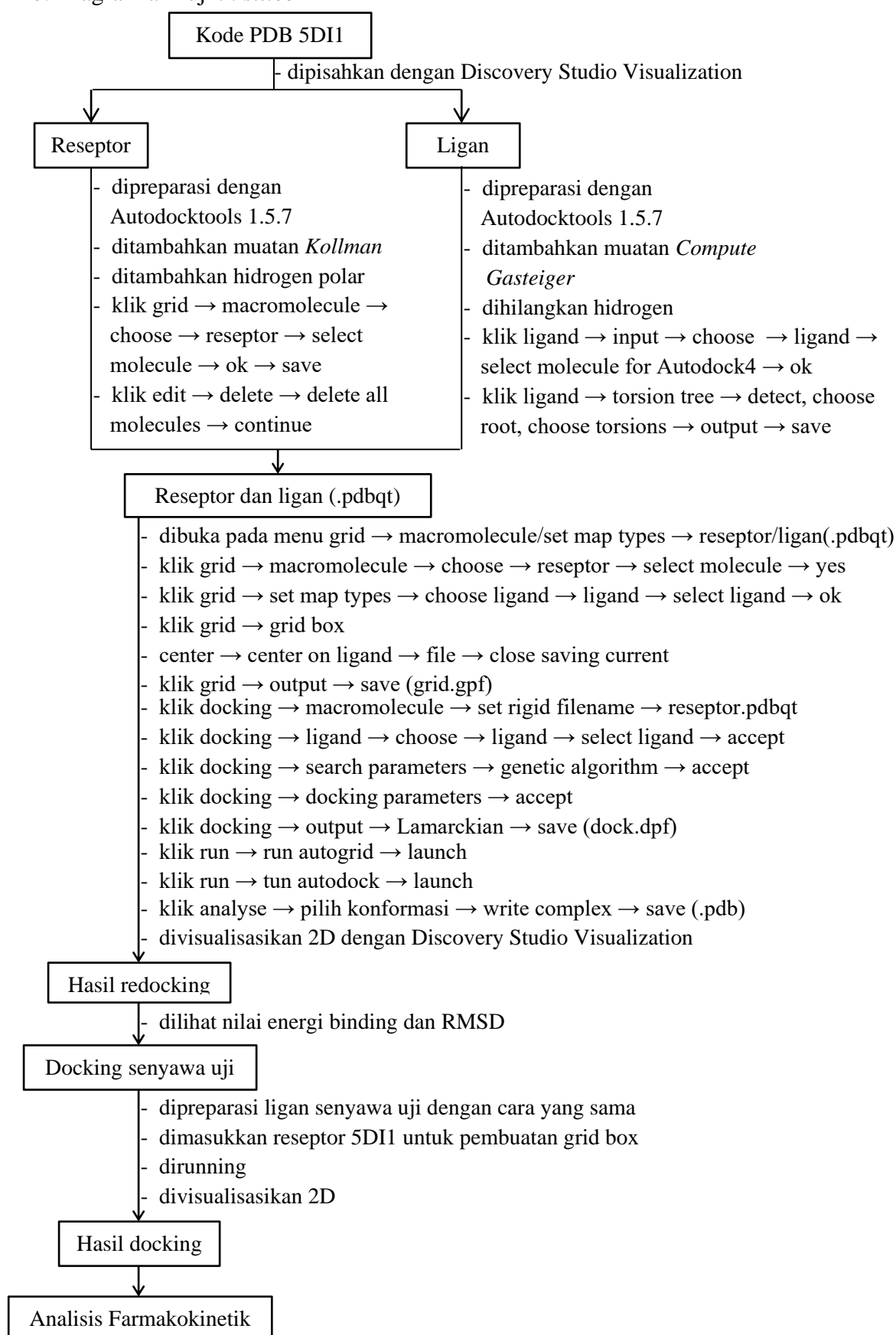
3.3.9 Diagram Alir

Berdasarkan seluruh proses prosedur diatas, maka terdapat dua diagram alir dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut:

a. Diagram alir uji *in vivo*



Gambar 8. Diagram alir uji *in vivo*

b. Diagram alir uji *in silico*Gambar 9. Diagram alir uji *in silico*

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit pisang kepok yang didapatkan sebanyak 66,183 gram berwarna coklat pekat.
2. Hasil karakterisasi fraksi flavonoid kulit pisang kepok menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan serapan panjang gelombang 206 nm sedangkan hasil karakterisasi spektrofotometer IR menunjukkan daerah serapan gugus fungsi O-H, C=O, C-H alkana, C-H aromatik, C-O, C=C aromatik.
3. Dosis yang paling efektif dari ekstrak kulit pisang kepok dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit adalah 400 mg/kg BB dengan persentase penurunan kadar glukosa darah (%GL) sebesar 71,42%.
4. Hasil simulasi komputasi *docking* senyawa kaempferol terhadap protein 5DI1 menunjukkan nilai energi binding -8,14 kkal/mol dengan residu asam amino yang berikatan yaitu GLU 106 dan MET 105.
5. Senyawa kaempferol dapat memenuhi kriteria analisis farmakokinetik yang berpotensi menjadi kandidat obat antidiabetes.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan adapun saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan pemurnian dan karakterisasi senyawa flavonoid dari kulit buah pisang kepok menggunakan NMR dan GCMS.

DAFTAR PUSTAKA

- Aarti chourasiya, Anil Upadhayay, R.N. shukla. 2012. To Assess Isolation of quercetin- from the leaves of *Azadirachta indica* and antidiabetic study of The crude extracts. *Journal of pharmaceutical and biomedical sciences*. 25(25);179-181.
- Ajie, R. 2015. *White Dragon Fruit (Hyloceleus undalus) Potential As Diabetes Mellitus Treatment*. Faculty Of Medicine Lampung University. Lampung.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Aktif dan Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilasi*. Adabia Press. Jakarta.
- Aliya dkk. 2020. Efek Antidiabetes Ekstrak Etanol Bonggol Pisang Ambon (*Musa acuminata Colla*) Pada Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Aloksan. Pokjanas. Bali.
- Alsuhendra, Ridawati, dan E. Listanti. 2007. *Ekstraksi dan Karakteristik senyawa fenolik dari Biji Alpukat (Persea Americana Mill)*. Prosiding Nasional PATPI. Bandung.
- Ammirati mark, Scott W. Bagley, Samit K. Bhattacharya. 2015. *Discovery of an in Vivo Tool to Establish Proof-of-Concept for MAP4K4-Based Antidiabetic Treatment*. American Chemical Society Publication. America.
- Arwansyah, Ambarsari, L., Sumaryada, T. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochem*. 1(1):11-19.
- Atun S., Arianingrum R., Handayani, S., Rudiansyah dan Garson. 2007. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Kimia dari Ekstrak Metanol Kulit Buah Pisang (*Musa Paradisiaca L.*). *Jurnal Chemistry*. (7) 83-87.
- Azis, F.K., Nukitasari, C., Oktavianingrum, F.A., Ariyati, L.W., dan Santoso, B. 2016. Hasil In Silico Senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547 Dibandingkan Turunan Zerumbon terhadap Human Liver Glycogen Phosphorylase (115Q) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kimia Valensi*. 2(2):120-124.z
- Azwanida, N. 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants* 4(196).

- Bohnert T., and Gan L.S. 2013 Plasma Protein Binding : From Discovery to Development. *Journal Pharmacy Science*. Vol. 102. No.9.
- Brooijmans, N. 2009. *Docking methods, ligan design, and valdating data sets in the structural genomics era*. Jenny Gu dan Philip E. Bourne.
- Budiasih K.S dan Kartika R.P. 2015. Pengembangan Suplemen Hipoglikemik Berbasis Cr(III) Melalui Uji Pre Klinik sebagai Sumber Nutraceutical Product bagi Penyandang Diabetes Mellitus Tipe-2.
- Chandramohan, G., Khalid S. Al-Numair, Mohammed A. Alsaif, Chinnadurai Veeramani. 2015. Antidiabetic effect of kaempferol a flavonoid compound, on streptozotocin-induced diabetic rats with special reference to glycoprotein components. *Progress in Nutrition*. Vol. 17. 1: 50-57.
- Dahlan S. 2008. *Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Salemba Medik. Jakarta.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Dewi K.E., A Wahid, F. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Pisang Mas (*Musa Acuminata* (AA Group)) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal As-Syifaa*. Vol 10 (02) : Hal. 191-205.
- Fawzia, F.N., Ulfia M., Marliando M. 2012. Tepung Tempe dan Limbah Bonggol Pisang Sebagai Industri Rumahan. *Jurnal Kelitbangan*. Vol. 01.
- Gandjar, I. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gaspersz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Armico. Bandung.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. ITB. Bandung.
- Hardjono, S. 2015. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N^o-(4-Fluorofenil)Tiourea sebagai Calon Obat Antikanker Melalui Pemodelan Molekul (Prediction of Pharmacokinetic Properties, Toxicity and Derivatives as Anticancer Drugs. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol.14. No. 2. Hlm. 246–55.
- Hasma dan Winda. 2019. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca*) dengan Metode KLT. *Jurnal Kesehatan Manarang*. 5(2):125-131.
- International Diabetes Federation. 2021. *IDF Diabetes Atlas Tenth Edition 2021*.
- Kanazawa K. and Saksakibara H. 2000. High Content of Dopamine, A Strong Antioxidant in Cavendish Banana. *J Agric Food Chem*. 25(3)

- Karau, G.M., E.N.M. Njagi, A.K. Machocho and L.N. Wangai. 2012. Hypoglycemic activity of aqueous and Etylacetate leaf and stem bark extracts of *Pappea capensis* (L.) in alloxan induced diabetic BALB/c mice. *British journal of pharmacology and toxicology*. 3(5): 251-258.
- Khopkar, S.M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Kuiper G.T. 1990. Uncertainties in the risk assessment of threemycotoxins: aflatoxin, ochratoxin, and zearalenone. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 68(7), 1017–1024.
- Kumkrai P, Weeranantanapan O, Chudapongse N. 2015. Antioxidant, α -glucosidase inhibitory activity and sub-chronic toxicity of *Derris reticulata* extract: its antidiabetic potential. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 15(1):35-8
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Gadjah Mada University. Yogyakarta.
- Lakshmi, V., Agarwal, S.K., Ansari, J.A., Mahdi, A.A. & Srivastava, A.K. (2014) Antidiabetic Potential of *Musa paradisiaca* in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *The Journal of Phytopharmacology JPHYTO*. 3 (32), 77-81.
- Laurence and Bacharach. 1964. Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, cit: Ngatidjan, 1990, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L., Pusat Antar Universitas Bioteknologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Lenzen, S., 2008. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia* 51. P. 216-226.
- Lipinski, C.A. 2004. Lead-And Drug-Like Compouds: The Rule of Five Revolution. *Article in Drug Discovery Today Technologies*. Vol.1. No.4.
- Malole, M. B. M. dan C. S. Pramono. 1989. Penggunaan Hewan – hewan Percobaan Laboratorium. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Markham. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. ITB. Bandung.
- Matsumono, K., Takemata, K., Takayama, K., Abesundara, K.J.M., Matsui, T., and Katayama, H. 2002. A Novel Method for the Assay of α -Glucosidase Inhibitory Activity Using a Multi-channel Oxygen Sensor. *Analytical Chemistry*. 18:1315-1319.
- Mirza, D. 2019. *Studi In Silico Dan In Vitro Aktivitas Antineuroinflamasi Ekstrak Etanol 96% Daun Marsilea Crenata C Presl*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.

- Mulyani I., Rizki Nisfi, Syaikhul A. 2021. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Kulit Pisang Kepok. *Jurnal Farmasi Lampung*. Vol.10. No. 1.
- Murray, K.R. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry (26th ed)*. Longe Medical Publishes. London.
- Mycek., Mary, J., Richard, A., Harvey dan Pamela, C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar Edisi 2*. Jakarta: Widya Medika.
- Nerkar, A. G., Kudale, S. A., Joshi, P.P., Chikhale, H.U. 2012. In Silico Screening, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Novel Quinazolinones as NMDA Receptor Inhibitors for Anticonvulsant Activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceuntical Sciences*. Vol.4. No.3.
- Nugrahani. 2012. Ekstrak Akar, Batang, dan Daun Herba Meniran dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. Vol.1 No.8.
- Nugroho, A.E. 2006. Animal Models of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism of Some Diabetogenics. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. Review. 7:378-382.
- Oktaria. 2013. *Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Biji Alpukat*. Skripsi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Pharmacopoeia, G. E., Melting, A. and Dissolve, C.B. 2008. *Glibenclamide*, 1. 2094-2096.
- Prabawati, S., Suyanti dan Setyabudi, D.A. 2008. Teknologi Pascapanen dan Pengolahan Buah Pisang. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. Dalam seminar Badan Litbang Pertanian. Departemen Pertanian, Bogor.
- Prameswari, O. M. dan S. B. Widjanarko. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2) : 16 – 27.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. ITB. Bandung.
- Sastrohamidjojo. 2007. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.
- Sharma G., Chandola D,S. Dang, S. Gupta,R. Gabrani, 2016. *Escherichia coli* biofilm: development and therapeutic strategies. *Journal of Applied Microbiology*. Vol 121. (2, pp. 309-319.

- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J. and Bryce, D.L. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley & Sons. New York.
- Singhal M, Ratra P. 2013. Antioxidant activity, total flavonoid and total phenolic content of *Musa Acuminata* peel extracts. *Global J. Pharmacol.* 7(2):188-22.
- Stefaniu. 2019. *Molecular Docking and Molecular Dynamic*. British library cataloguing. British.
- Stevani, H. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi*. Pusdik SDM Kesehatan. Jakarta.
- Stuart. 2004. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. John Wiley & Sons. Chichester.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Suharmiati. 2003. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 140. Surabaya: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal. 10.
- Suhartono, A. 2011. Studi Pembuatan Roti Dengan Substitusi Tepung Pisang Kepok (*Musa Paradisica Formatypica*). Skripsi. Makassar: Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin.
- Supriyanti, F Maria Titin, dkk. 2015. "Pemanfaatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa Bluggoe*) Sebagai Sumber Antioksidan pada Produksi Tahu" Makalah Pendamping Biokimia, Departemen Pendidikan Kimia, FMIPA Bandung.
- Susanti, Lina. 2006. *Perbedaan Penggunaan Jenis Kulit Pisang Terhadap Kualitas Nata Dengan Membandingkan Kulit Pisang Raja Nangka, Ambon Kuning Dan Kepok Putih Sebagai Bahan Baku*. Tugas Akhir. Semarang: UNNES.
- Syamsuddin. 2013. Uji efektivitas ekstrak kulit pisang goroho (*Musa acuminata*) terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih galur wistar yang diinfeksi sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*, 2(1), 35-41.
- Tasmin dkk. 2014. Isolasi, Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*Artocarpus Odoratissimus Blanco*). *Jurnal Kimia Mulawarman*. Vol. 12. No. 1.
- Trisnawati, S.K dan Soedijono S. 2013. "Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat Tahun 2012". *Jurnal Ilmiah Kesehatan* Vol. 5 no.1.
- Umar, Halim A., Reny S., Asril B., Fadillah., Astuti A., Marwati., Lisa R. 2016. Determinasi Dan Analisis Finger Print Tanaman Murbei (*Morus Alba*)

- Lour) Sebagai Bahan Baku Obat Tradisional Dengan Metode Spektroskopi Ft-Ir Dan Kemometrik. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol. 5 No.1 ISSN 2302 – 2493.
- Warono dan Syamsudin. 2013. Unjuk Kerja Spektrofotometer Untuk Analisa Zat Aktif Ketoprofen. *Jurnal Konversi*, 2(1).
- Wenas, Desy M., Ika Septiana, Lisana Sidqi Aliya. 2020. Pengaruh Ekstrak Bonggol Pisang Kepok terhadap Kadar Gula Darah Tikus yang Diinduksi Aloksan. Sainstech Farma. *Jurnal Ilmu Kesehatan*. Vol. 13. No.1
- Wessel et al. 1998. Prediction of Human Intestinal Absorption of Drug Compounds from Molecular Structure. *Journal Chem, Inf. Comput. Sic.* 38, 726-735.
- Widodo. 2018. *Cara Mudah Melakukan Docking Dengan PyRx*. Global Science. Malang.
- Yandiana, Srinola. 2005. “*Suplementasi Ginseng Liar (Wild ginseng) Pada Ransum Terhadap Pertumbuhan Mencit (Mus musculus)*”. Skripsi. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.