

**EKSTRAKSI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI DAUN DURIAN  
(*Durio zibethinus* Murr.) SEBAGAI ANTIDIABETES TERHADAP KADAR  
GLUKOSA DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SECARA *IN VIVO* DAN  
*IN SILICO* TANIN PADA PROTEIN 5DI1**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Eni Asro Dzulhijjah  
NPM. 1857011005**



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

## ABSTRAK

### **EKSTRAKSI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI DAUN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) SEBAGAI ANTIDIABETES TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SECARA *IN VIVO* DAN *IN SILICO* TANIN PADA PROTEIN 5DI1**

Oleh

**ENI ASRO DZULHIJAH**

Isolasi dan identifikasi senyawa tanin dari daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) serta uji aktivitas antidiabetes terhadap mencit jantan (*Mus musculus* L.) secara *in vivo* dan *in silico* telah dilakukan dalam penelitian ini. Maserasi menghasilkan 51,8 g ekstrak pekat metanol. Uji fitokimia ekstrak memberikan hasil positif mengandung senyawa tanin. Partisi menghasilkan fraksi n-heksana dan metanol. Pemisahan secara kromatografi preparatif dengan eluen n-butanol: asam asetat: air (4:1:5) diperoleh 1 pita. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis memberikan satu puncak dengan serapan maksimum pada panjang gelombang 229 nm oleh adanya transisi elektron  $n \rightarrow \pi^*$  dan  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Transisi ini menunjukkan adanya kromofor C=O dan C=C. Spektrum inframerah isolat menunjukkan puncak yang sesuai dengan gugus fungsi karakteristik tanin yaitu -O-H ( $3324,8 \text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2944,6 \text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1625,8 \text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1446,2 \text{ cm}^{-1}$ ), dan C-O-C ( $1118,2 \text{ cm}^{-1}$ ). Hasil uji aktivitas antidiabetes terhadap mencit jantan (*Mus musculus* L.) dengan dosis terbaik yaitu 400 mg/KgBB. Uji *in silico* menunjukkan bahwa senyawa galokatekol dari turunan tanin sebagai penghambat protein diabetes, hasil interaksi ligan galokatekol berinteraksi dengan asam amino MET 105 dan GLU 106 dengan energi ikatan -8.23 kkal/mol.

Kata kunci : Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr.), Tanin, Antidiabetes, Mencit Jantan (*Mus musculus* L), *Docking*.

## ABSTRACT

### EXTRACTION, ACTIVITY TESTS, AND CHARACTERIZATION OF DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) LEAVES AS ANTI-DIABETES ON BLOOD GLUCOSE LEVELS OF MOUSE (*Mus musculus* L.) IN VIVO AND IN SILICO TANIN ON 5DI1 PROTEIN

By

ENI ASRO DZULHIJAH

Isolation and identification of tannin compounds from durian leaves (*Durio zibethinus* Murr.) and testing of anti-diabetic activity against male mice (*Mus musculus* L.) in vivo and in silico have been carried out in this study. Maceration produces 51.8 g of concentrated methanol extract. The phytochemical test of the extract gave positive results for containing tannin compounds. Partitioning produces n-hexane and methanol fractions. Separation by preparative chromatography with eluent n-butanol: acetic acid: water (4:1:5) obtained 1 band. Identification using a UV-Vis spectrophotometer gives a peak with maximum absorption at a wavelength of 229 nm by the presence of electron transitions  $n \rightarrow \pi^*$  and  $\pi \rightarrow \pi^*$ . This transitions indicating the presence of C=O and C=C chromophores. The infrared spectrum of the isolate showed peaks corresponding to the characteristic functional groups of tannins, namely -O-H (3324.8  $\text{cm}^{-1}$ ), C-H (2944.6  $\text{cm}^{-1}$ ), C=O (1625.8  $\text{cm}^{-1}$ ), C=C ( 1446.2  $\text{cm}^{-1}$ ), and C-O-C (1118.2  $\text{cm}^{-1}$ ). The results of the antidiabetic activity test on male mice (*Mus musculus* L.) with the best dose of 400 mg/KgBW. The in silico test showed that the galocatecol compound from tannin derivatives acts as an inhibitor for diabetes protein, the result of the interaction of galocatecol ligands interacts with the amino acids MET 105 and GLU 106 with a bond energy of -8.23 kcal/mol.

Keywords: Durian leaves (*Durio zibethinus* Murr.), Tannins, Antidiabetic, Male Mice (*Mus musculus* L.), Docking.

**EKSTRAKSI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI DAUN DURIAN  
(*Durio zibethinus* Murr.) SEBAGAI ANTIDIABETES TERHADAP KADAR  
GLUKOSA DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SECARA *IN VIVO* DAN  
*IN SILICO* TANIN PADA PROTEIN 5DI1**

**Oleh**

**Eni Asro Dzulhijjah**

**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 Skripsi

: **EKSTRAKSI, UJI AKTIVITAS, DAN KARAKTERISASI  
DAUN DURIAN (*Durio zibethinus* Murr.) SEBAGAI  
ANTIDIABETES TERHADAP KADAR GLUKOSA  
DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SECARA *IN*  
*VIVO* DAN *IN SILICO* TANIN PADA PROTEIN 5DI1**

Nama Mahasiswa

: **Eni Asro Dzulfijah**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **1857011005**

Jurusan


: **Kimia**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




1. **Komisi Pembimbing**

  
**Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.**  
NIP 19690901 1999903 1 003

  
**Syafful Bahri, M.Si.**  
NIP 19730825 200003 1 001

2. **Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung**

  
**Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.**  
NIP 19740611 200003 1 002

**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

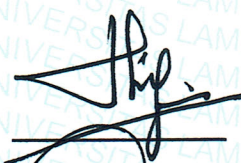
**Ketua**

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



**Sekretaris**

**: Syaiful Bahri, M.Si.**



**Penguji**

**Bukan Pembimbing : Diky Hidayat S.Si., M.Sc.**



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



**Dr. Eng. Surtpto Dwi Yuwono, S.Si., M.T.**

**NIP-19740705 200003 1 001**



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 26 Januari 2023**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Eni Asro Dzulhijjah  
NPM : 1857011005  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Ekstraksi, Uji Aktivitas, dan Karakterisasi Daun Durian (*Durio zibethinus* Murr.) Sebagai Antidiabetes Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus* L.) Secara *In Vivo* dan *In Silico* Tanin Pada Protein 5di1” ini tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagai mestinya.

Bandar Lampung, 22 Februari 2023



Eni Asro Dzulhijjah  
NPM. 1857011005

## DAFTAR ISI

	<b>HALAMAN</b>
ABSTRAK .....	ii
MENGESAHKAN .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Diabetes Mellitus.....	4
2.2 Tanaman Durian .....	6
2.3 Kandungan Tanaman Durian.....	7
2.4 Senyawa Tanin .....	9
2.5 Aloksan.....	11
2.6 Glibenklamid .....	13
2.7 Aplikasi Uji Antidiabetes Menggunakan Mencit .....	14
2.8 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder .....	16
2.9 Kromatografi Lapis Tipis .....	18
2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik.....	18



2.9.2	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif .....	19
2.10	Spektrofotometri UV-Vis .....	19
2.11	Spektroskopi Inframerah (IR) .....	20
2.12	Penambatan Molekul.....	21
2.13	Protein Data Bank .....	23
2.14	Discovery Studio Visualizer .....	23
2.15	Autodock .....	23
III.	METODE PENELITIAN.....	25
3.1	Waktu dan Tempat .....	25
3.2	Alat dan Bahan .....	25
3.3	Prosedur Kerja .....	26
3.3.1	Pengumpulan dan Persiapan Sampel .....	26
3.3.2	Ekstraksi dengan Metanol.....	26
3.3.3	Uji Kandungan Fitokimia.....	27
3.3.4	Partisi .....	28
3.3.5	Kromatografi Lapis Tipis.....	29
3.4	Spektrofotometri Ultraungu-Tampak (UV-vis).....	30
3.5	Spektrofotometri Inframerah (IR) .....	31
3.6	Uji Aktivitas Antidiabetes .....	31
3.8	<i>Docking</i> .....	35
3.8.1	Validasi Metode .....	35
3.9	Diagram Alir.....	37
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1	Ekstrak Daun Tanaman Durian ( <i>Durio Zibethinus</i> Murr.).....	39
4.2	Uji Fitokimia .....	39
4.3	Kromatografi Lapis Tipis .....	42
4.4	Kromatografi Lapis Tipis Preparatif .....	44
4.5	Analisis Spektrofotometri Uv-Vis dan Spektrofotometri IR.....	44
4.6	Berat Badan Mencit ( <i>mus musculus</i> L.).....	48
4.7	Kadar Gula Darah Mencit ( <i>mus musculus</i> L.).....	49
4.8	Analisis Data .....	52

4.9	Penambatan Molekul .....	54
4.9.1	Penyiapan Makromolekul Protein.....	54
4.9.2	Penyiapan Ligan.....	57
4.9.3	<i>Docking</i> menggunakan Software Autodocktools.....	61
V.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	64
5.1	Kesimpulan.....	64
5.2	Saran .....	65
	DAFTAR PUSTAKA .....	66
	LAMPIRAN.....	70

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman Durian .....	7
Gambar 2. Struktur Fenolik.....	9
Gambar 3. Struktur Senyawa Tanin .....	11
Gambar 4. Struktur Aloksan .....	12
Gambar 5. Struktur Glibenklamid.....	13
Gambar 6. Mencit.....	14
Gambar 7. Flow Chart Docking .....	22
Gambar 8. Hasil Ekstraksi.....	39
Gambar 9. Reaksi Senyawa Tanin dengan FeCl <sub>3</sub> .....	40
Gambar 10. Partisi.....	42
Gambar 11. Hasil KLT dari hasil partisi dengan asam galat (a). Fraksi metanol, n-heksan (b). Fraksi metanol.....	43
Gambar 12. Hasil KLTP .....	44
Gambar 13. Spektrum Uv-Vis senyawa hasil isolasi dari pemisahan secara KLTP.....	45
Gambar 14. Spektrum Inframerah senyawa hasil isolasi dari pemisahan secara KLTP.....	46
Gambar 15. Jenis Tanin Terhidrolisis .....	47
Gambar 16. Grafik rerata berat badan mencit selama perlakuan .....	48
Gambar 17. Rerata kadar gula darah mencit selama perlakuan .....	49
Gambar 18. Struktur PDB protein 3DI1 .....	55
Gambar 19. Pdb yang telah dipisahkan (a). Protein (b). ligan .....	55
Gambar 20. Ligan asli dan ligan redocking .....	56
Gambar 21. Gambar 19. Hasil visualisasi re-docking, (a). protein & ligan native (b). protein & ligan native re-docking.....	57
Gambar 22. Struktur Jenis-Jenis Tanin .....	58
Gambar 23. Hasil Docking protein target (a). ligan native (b). ligan gallic acid.....	63

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut.....	17
Tabel 2. Daftar Bilangan Gelombang IR Berbagai Jenis Ikatan .....	21
Tabel 3. Rancangan Acak Lengkap.....	31
Tabel 4. Hasil pengujian skrining fitokimia dari ekstrak metanol daun durian ( <i>Durio zibethinus</i> Murr.) .....	40
Tabel 5. Hasil uji aktivitas antidiabetes dalam % glucose lowering (%GL).....	52
Tabel 6. Hasil uji oneway ANOVA .....	52
Tabel 7. Rerata kadar gula darah mencit pada minggu ke-3 .....	53
Tabel 8. Rerata kadar gula darah mencit pada minggu ke-4.....	54
Tabel 9. Lipinski"s Rule of Five dari ligan jenis tanin yang akan diujikan .....	59
Tabel 10. Hasil prediksi absorpsi dan distribusi .....	60
Tabel 11. Hasil Analisis Prottox .....	60
Tabel 12. Hasil Docking protein target dengan jenis-jenis ligan tanin .....	61

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus adalah sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat efek pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Gejala hiperglikemia ditandai termasuk poliuria, polidipsia, penurunan berat badan. Kadang-kadang dengan polifagia dan penglihatan kabur. Penurunan pertumbuhan dan kerentanan terhadap infeksi tertentu mungkin juga menyertai hiperglikemia kronis ( ADA, 2009). American Diabetes Association pada tahun 2017 diperkirakan ada 415 juta orang dewasa berusia 20-79 tahun menderita diabetes mellitus di seluruh dunia, termasuk 193 juta yang tidak terdiagnosis dan sebanyak 318 juta jiwa lainnya diperkirakan mengalami gangguan toleransi glukosa (ADA, 2017).

Angka prevalensi penderita diabetes mellitus yang semakin meningkat, secara sederhana dapat dilakukan dengan memilih alternatif pengobatan. Selain pengobatan secara medis, pengobatan tradisional dapat dilakukan dengan memanfaatkan tanaman obat. Tanaman obat memiliki khasiat obat dan digunakan untuk penyembuhan maupun pencegahan penyakit, karena tanaman obat mempunyai efek yang mirip dengan struktur kimia obat-obat medis sehingga sangat bermanfaat dalam proses pengobatan berbagai penyakit, salah satu tanaman yang memiliki potensi menurunkan kadar glukosa darah adalah tanaman durian (Din and Mohamed, 1993).

Durian adalah salah satu tanaman yang paling banyak tumbuh di kawasan Asia Tenggara, terutama di Indonesia yang memiliki iklim tropis. Tanaman durian memiliki banyak kandungan dan manfaat di setiap bagiannya. Kulit buah durian mengandung minyak atsiri, flavonoid, saponin, unsur selulosa, lignin, serta kandungan pati. Daunnya mengandung saponin, flavonoid dan polifenol, sementara akarnya mengandung tannin. Durian juga banyak mengandung vitamin B1, vitamin B2, dan vitamin C, serta kalium, kalsium dan fosfor. Daun dan akar durian digunakan sebagai antipiretik, daun durian dapat digunakan untuk mengobati demam, buah durian dapat digunakan sebagai suplemen makanan, suplemen untuk pasien penderita hiperkolesterolemia dan diabetes mellitus, dan sebagai sumber antioksidan alami bagi tubuh (Widyawati dan Nurbani, 2017).

Pemanfaatan antidiabetes berbasis produk bahan alam juga layak dipertimbangkan dalam pengobatan diabetes. Studi terbaru melalui *molecular docking* melaporkan bahwa beberapa senyawa asal tanaman obat dapat menghambat beberapa protein diabetes. (Wu *et al.*, 2020) telah melaporkan bahwa beberapa senyawa dari tumbuhan memiliki aktivitas diabetes.

Berdasarkan penelitian Amir dkk, persen penurunan kadar glukosa darah yang paling tinggi ditunjukkan setelah menit ke-180 pada kelompok EDR (ekstrak etanol akar durian) dengan dosis 125 mg / kgBB, ESB (ekstrak klika) dosis 250 mg / kgBB dan EDL (ekstrak daun) dosis 500 mg / kgBB yaitu sebesar 50,60%, 105,62%, dan 62,97%, menggunakan aloksan sebagai induksinya. Penelitian ini menggunakan metanol sebagai pelarut dan *acarbose* sebagai obat pembanding.

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi senyawa aktif daun tanaman durian (*Durio zibethinus* Murr.) lalu melakukan uji aktifitas antidiabetes terhadap kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi aloksan dan glibenklamid sebagai obat pembanding serta memprediksi senyawa jenis-jenis senyawa tanin menggunakan *software* Autodock dengan 5di1.pdb yaitu target diabetes.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang diatas maka ingin dicapai pada penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi dan karakterisasi ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.).
2. Uji aktifitas ekstrak metanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) pada mencit (*Mus musculus* L.) jantan untuk menurunkan kadar gula darah.
3. Menentukan dosis efektif dari pemberian ekstrak metanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) dalam menurunkan kadar gula darah.
4. Pemodelan potensi prospektif senyawa jenis tanin dari daun durian (*Durio zibethinus* Murr.).
5. Menargetkan 5DI1.PDB sebagai protein diabetes.
6. Menargetkan jenis tanin yaitu *gallic acid*, *ellagic acid*, *catechin*, *galotannin*, dan *gallocatechin* sebagai ligan berikatan dengan protein target.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang manfaat ekstrak metanol daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) sebagai salah satu tanaman herbal untuk menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus.
2. Meningkatkan motivasi masyarakat dalam memanfaatkan bahan alam seperti daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) sebagai salah satu alternatif dalam menurunkan kadar gula darah.
3. Memanfaatkan sebuah software untuk memprediksi penemuan obat baru.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus merupakan kelainan metabolik yang ditandai dengan adanya hiperglikemia dan gangguan metabolisme khususnya karbohidrat, lemak dan protein dan menyebabkan komplikasi kronis seperti gangguan mikrovaskuler dan makrovaskular. Menurut American Diabetes Association-2017 beberapa klasifikasi diabetes mellitus yaitu, diabetes melitus tipe I, hasil interaksi genetik, lingkungan dan faktor imunologis seperti adanya indikasi autoimun yang mengakibatkan destruksi sel beta pankreas dan defisiensi insulin. Diabetes melitus tipe II, resistensi insulin dan sekresi insulin yang abnormal adalah penyebab utama DM tipe II. Diabetes kehamilan (diabetes gestasional) adalah diabetes yang timbul pada trimester kedua atau ketiga kehamilan. Diabetes tipe lain, misalnya akibat adanya sindrom diabetes monogenik (seperti diabetes pada masa kanak-kanak dan diabetes onset menstruasi pada anak muda [*MODY*]), penyakit pankreas eksokrin (*cystic fibrosis*) diabetes yang disebabkan oleh obat-obatan dan bahan kimia (penggunaan glukokortikoid, dalam pengobatan HIV/AIDS atau setelah transplantasi) (ADA, 2017).

DM Tipe I (IDDM) muncul pada saat pankreas tidak dapat atau kurang mampu memproduksi insulin sehingga insulin dalam tubuh kurang atau tidak ada sama sekali. Glukosa di dalam darah menumpuk karena tidak dapat diangkut ke dalam sel. DM tipe ini tergantung pada insulin, oleh karena itu pasien memerlukan suntikan insulin. DM Tipe I (IDDM) merupakan suatu gangguan autoimun (*autoimmune disorder*) yang ditandai dengan kerusakan sel-sel beta Langerhans



pankreas. DM jenis ini kebanyakan ditemukan pada anak usia muda, minimal sebelum usia 35 tahun. DM 2 akan kebanyakan menyerang usia lanjut, karena berhubungan dengan degenerasi atau kerusakan organ dan faktor gaya hidup. DM Tipe 2 (NIDDM) yang paling sering ditemukan di Indonesia. Tipe ini biasanya ditemukan pada usia di atas 40 tahun disertai berat badan yang berlebih. Diabetes tipe 2 ini dipengaruhi oleh faktor genetik, keluarga, obesitas, diet tinggi lemak, serta kurang gerak badan (Bustan, 2015).

Pada dasarnya ada dua pendekatan dalam pelaksanaan diabetes, yang pertama pendekatan tanpa obat (terapi non farmakologi) dan kedua adalah pendekatan dengan obat (terapi farmakologi). Adapun terapi non farmakologi yang dapat dilakukan seperti diet, diet yang baik merupakan kunci keberhasilan penatalaksanaan diabetes. Diet yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang dalam hal karbohidrat, protein dan lemak. Olahraga Berolah raga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah tetap normal karena dapat memperbanyak jumlah dan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh dan juga meningkatkan penggunaan glukosa. Prinsipnya, tidak perlu olah raga berat, olah raga ringan asal dilakukan secara teratur akan sangat bagus pengaruhnya bagi kesehatan. Terapi farmakologi Apabila penatalaksanaan terapi obat tanpa obat (diet dan olahraga) belum berhasil mengendalikan kadar glukosa darah penderita, maka perlu dilakukan langkah berikutnya berupa penatalaksanaan terapi farmakologi, baik dalam bentuk obat antidiabetik oral, terapi insulin, atau kombinasi keduanya seperti, terapi Insulin. Terapi insulin merupakan satu keharusan bagi penderita DM Tipe I. Pada DM Tipe I, sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM Tipe I harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal, walaupun sebagian besar penderita DM Tipe II tidak memerlukan terapi insulin, namun hampir 30% ternyata memerlukan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral (Depkes, 2005).

Obat antidiabetes oral obat-obat antidiabetes oral terutama ditujukan untuk membantu penanganan pasien DM Tipe II. Pemilihan obat hipoglikemik oral

yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes. Bergantung pada tingkat keparahan penyakit dan kondisi pasien, farmakoterapi hipoglikemik oral dapat dilakukan dengan menggunakan satu jenis obat atau kombinasi dari dua jenis obat. Pemilihan dan penentuan rejimen hipoglikemik yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes (tingkat glikemia) serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada (Depkes, 2005).

Pengobatan yang biasa dilakukan oleh penderita diabetes mellitus yaitu dengan cara suntikan atau pemberian obat kimia antidiabetes. Pengobatan dengan cara tersebut memiliki efek samping dan membutuhkan biaya yang mahal karena penggunaannya dalam jangka waktu yang lama, sehingga penderita diabetes mellitus menggunakan cara tradisional untuk mengobati dan mengendalikan kadar glukosa darah. Umumnya bahan yang digunakan adalah bahan alam berupa tanaman herbal (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

## **2.2 Tanaman Durian**

*Durio zibethinus* M dikenal di Indonesia dan dinegara lain dengan nama yang berbeda. Beberapa daerah misalnya, *duren* di (Jawa, Betawi, gayo), *kadu* di (Sunda, Banten), *duriang* di manado, *duliang* di Toraja dan *rulen* di pulau seram timur. Sumatera Selatan durian disebut dengan *duhian*, dikota Ambon dan kepulauan lease disebut *doriang*. Durian sebagai tumbuhan dikotil memiliki perakaran diantaranya akar tunggang (primer) tumbuh tegak lurus dari batang utama ke bagian dalam tanah untuk menopang tegaknya tumbuhan dan akar sekunder tumbuh pada leher akar atau daerah perbatasan antara bagian di atas dan di bawah tanah sebagai pendukung berdirinya tanaman.



**Gambar 1. Tanaman Durian**

Batang durian umumnya berbentuk silindris dan dapat mencapai tinggi 40 – 50 m dengan diameter batang lebih dari 100 cm. Pada bagian bawah batang tanaman dewasa yang berasal dari biji tumbuh banir-banir yang merupakan perkembangan lanjut dari akar sekunder yang berhubungan dengan batang. Daun durian merupakan daun tunggal yang tersusun berselang-seling pada sisi kiri dan kanan ranting. Ukurannya bervariasi mulai dari panjang 9-11 cm dan lebar 2- 3 cm hingga yang besar mencapai panjang 17-20 cm dan lebar 4-5 cm. Buah durian merupakan organ yang paling bervariasi mulai dari bulat, oval, lonjong, sampai tidak beraturan. Warna kulit buah umumnya hijau coklat. Bobot durian juga bervariasi umumnya 0,5 – 7 kg (Tirtawinata, 2016).

### **2.3 Kandungan Tanaman Durian**

Penelitian Fernando *et al.* (2008) menyebutkan bahwa durian jenis Mon Thong mempunyai kadar polifenol dan flavonoid total serta aktivitas antioksidan paling tinggi di antara durian jenis Chani, Kan Yao, Pung Manee dan Kradum.

Penelitian Maria *et al.* (2007) menyebutkan bahwa kandungan fenolik yang paling banyak dapat diperoleh dari durian yang telah matang. Menurut Djaeni dan Prasetyaningrum (2010), secara fisik, biji durian berwarna putih kekuning-kuningan berbentuk bulat telur, berkeping dua, berwarna putih kekuning-kuningan atau coklat muda. Biji durian yang masak mengandung 51,1% air, 46,2% karbohidrat, 2,5% protein dan 0,2% lemak. Kadar karbohidratnya ini lebih tinggi

dibanding singkong (karbohidrat 34,7%) ataupun ubi jalar (karbohidrat 27,9%). Setiap 100 g salut biji mengandung 67 g air, 28,3 g karbohidrat, 2,5 g lemak, 2,5 g protein, 1,4 g serat; serta memiliki nilai energi sebesar 520 kJ. Setiap 100 g salut biji mengandung 67 g air, 28,3 g karbohidrat, 2,5 g lemak, 2,5 g protein, 1,4 g serat; serta memiliki nilai energi sebesar 520 kJ. Durian juga banyak mengandung vitamin B1, vitamin B2, dan vitamin C; serta kalium, kalsium dan fosfor.

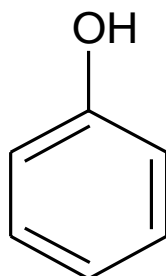
Bagian buah durian yang lebih umum dikonsumsi adalah bagian salut buah atau dagingnya. Persentase berat bagian ini termasuk rendah yaitu hanya 20-35%. Hal ini berarti kulit (60-75%) dan biji (5-15%) belum dimanfaatkan secara maksimal (Djaeni dan Prasetyaningrum 2010). Daun dan akar durian digunakan sebagai antipiretik dan daun durian yang dihancurkan dapat juga digunakan untuk pasien yang demam yaitu dengan cara diletakkan di atas dahi. Buah durian dapat dimanfaatkan sebagai suplemen makanan (Fernando *et al.*, 2008), suplemen khusus bagi pasien hiperkolesterol dan diabetes melitus (Maria *et al.*, 2007).

Biji durian mengandung senyawa beracun bagi tubuh manusia. Senyawa-senyawa beracun itu adalah HCN dan asam lemak siklopropena. Biji durian mengandung HCN sebanyak 0,00017%. Jumlah ini masih dibawah batas yang diijinkan sehingga masih dianggap layak untuk dikonsumsi. Bahaya HCN pada kesehatan terutama pada sistem pernafasan, dimana oksigen dalam darah terikat oleh senyawa HCN dan mengganggu sistem pernafasan. Senyawa HCN dapat menyebabkan kematian jika pada dosis 0,5-3,5 g HCN/kg berat badan (Winarno 1997). Gejala lain karena keracunan HCN adalah, kepala pusing, muntah-muntah dan mata berkunang-kunang. Anwar dan Afrisanthi (2011) mengemukakan bahwa senyawa HCN bersifat mudah menguap di udara, terutama pada suhu diatas 25°C. HCN juga mudah larut dalam air, sehingga perendaman sangat diperlukan untuk mengurangi racun HCN. Proses penjemuran pada sinar matahari dapat menguraikan HCN 80%. Pengupasan kulit perlu dilakukan karena justru dalam kulit ini terdapat HCN dengan konsentrasi mencapai 15 kali lebih besar dari konsentrasi HCN di dalam daging bijinya. HCN juga dapat hilang oleh proses pemanasan atau perebusan tanpa ditutup. Biji durian muda

mengandung asam lemak siklopropena yang beracun. Asam lemak siklopropenoat adalah asam lemak yang mempunyai gugus siklis yaitu gugus siklopropena. Dalam uji kadar asam lemak siklopropena yang diujikan di PAU UGM, diketahui bahwa keberadaan asam lemak siklopropena tidak terdeteksi dan ditemukan asam lemak jenis lain yang cenderung dominan. Umumnya konsentrasi asam siklopropena > 10 ppm dalam makanan akan berbahaya bagi konsumen. Mekanisme yang terjadi adalah dalam tubuh asam bersifat sebagai penenang, serta menyebabkan tubuh sulit memecah lemak yang ada sehingga timbunan lemak meningkat (Anwar dan Afrisanthi 2011).

## 2.4 Senyawa Tanin

Fenolik adalah senyawa yang mempunyai sebuah cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Kelompok senyawa fenolik dan polifenol adalah fenol sederhana, asam fenolat, kumarin, tanin, dan flavonoid. Dalam tanaman, senyawa-senyawa ini biasanya berada dalam bentuk glikosida atau esternya. Standar yang digunakan pada analisis kandungan fenolik adalah asam galat, hal ini karena asam galat bersifat stabil, memiliki sensitivitas yang tinggi, dan harganya cukup terjangkau. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam pelarut polar karena umumnya mereka seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan biasanya terdapat dalam vakuola sel (Harbone, 1987). Kandungan fenolik dari standar asam galat ditentukan dengan menggunakan metode Folin-Ciocalteau (Rahayu *et al.*, 2015).



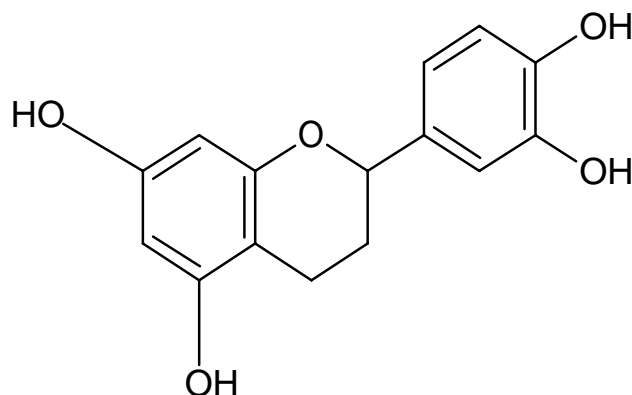
Gambar 2. Struktur Fenolik (Vermerris dan Nicholson, 2006)

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol dan dapat membentuk kompleks dengan protein membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Terdapat dua jenis utama tanin yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terhidrolisis terbagi menjadi dua yakni galotanin dan elagitanin. Tanin terdapat pada daun, buah yang belum matang merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit (Robinson, 1995).

Tanin dapat diklasifikasikan menjadi dua jenis yaitu *hydrolyzable tanin* (tanin yang dapat dihidrolisis) dan *condensed tanins* (tanin yang terkondensasi). Tanin terhidrolisis merupakan turunan dari asam galat (asam 3,4,5- trihidroksil benzoat). Tanin terkondensasi atau proantosianidin merupakan polimer flavonoid. Sifat kimia tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus phenol dan bersifat koloid. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Begitu juga tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya. Tanin akan terurai menjadi pyrogallol, pyrocatechol dan phloroglucinol bila dipanaskan sampai suhu 210°F - 215°F (98,89°C - 101,67°C). Tanin dapat dihidrolisa oleh asam, basa, dan enzim. Ikatan kimia yang terjadi antara tanin-protein atau polimer-polimer lainnya terdiri dari ikatan hidrogen, ikatan ionik, dan ikatan kovalen. Sifat fisik tanin umumnya tanin mempunyai berat molekul tinggi dan cenderung mudah dioksidasi menjadi suatu polimer, sebagian besar tanin bentuknya amorf dan tidak mempunyai titik leleh. Tanin berwarna putih kekuning-kuningan sampai coklat terang, tergantung dari sumber tanin tersebut. Tanin berbentuk serbuk atau berlapis-lapis seperti kulit kerang, berbau khas dan mempunyai rasa sepat (astrigent). Warna tanin akan menjadi gelap apabila terkena cahaya langsung atau dibiarkan di udara terbuka. Tanin mempunyai sifat atau daya bakterostatik dan fungistatik (Kristanto, 2013).

Tanin mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astrigen, antidiare, antibakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal,

mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty, dkk., 2008 dalam Malanggia, dkk.,2012).

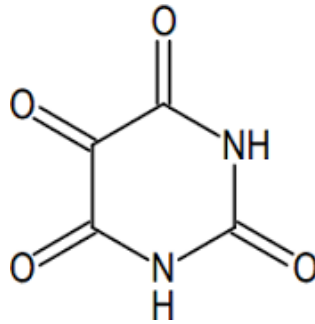


**Gambar 3. Struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)**

Beberapa tanin terbukti memiliki aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim seperti “*reverse*” transkriptase dan DNA topoisomerase.

## 2.5 Aloksan

Penelitian ini digunakan aloksan sebagai induksi diabetes pada hewan. Aloksan dapat digunakan melalui intravena, subkutan dan interperitoneal. Untuk dosis dengan intravena biasanya dengan dosis 65 mg/kg BB, sedangkan untuk subkutan dan interperitoneal dosisnya 2 – 3 kali dari dosis intravena. Aloksan akan menghasilkan radikal hidroksil yang aktif yang akan menyebabkan diabetes melitus tergantung pada insulin hewan tersebut (aloksan diabetes) dengan kriteria yang hampir mirip dengan diabetes tipe I pada manusia. Waktu paru pada aloksan dengan suhu 37°C dan pada keadaan pH netral 1,5 menit dan bisa lebih lama dengan suhu yang rendah (Szkuedelski, 2001).



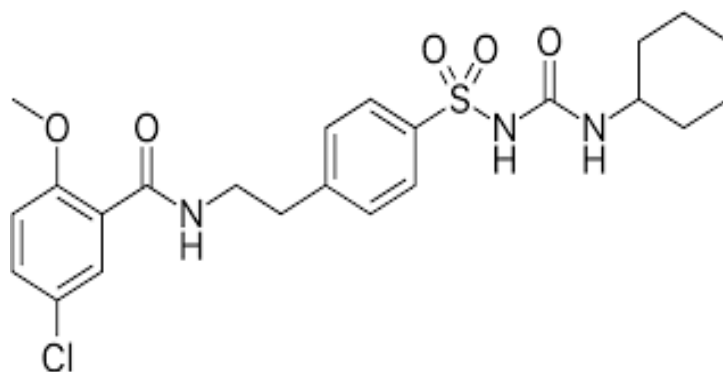
**Gambar 4. Struktur Aloxan**

Aloxan merupakan senyawa kimia yang tidak stabil, berbentuk molekul besar seperti glukosa. Baik glukosa maupun aloksan bersifat hidrofilik dan tidak menembus lapisan ganda lipid dari membran plasma. Aloxan ini memiliki dua efek patologis yang berbeda dengan cara selektif mampu menghambat glukosa yang disebabkan karena sekresi insulin melalui spesifik penghambat glukokinase, hasil sensor glukosa sel beta ini akan menyebabkan keadaan diabetes tergantung insulin. Aloxan merupakan glukosa beracun analog yang terakumulasi didalam sel beta di pankreas melalui proses transporter glukosa GLUT2 ke dalam sitosol. Adanya tiol intraseluler, yang paling utama glutathion, aloksan akan menghasilkan reactive oxygen species (ROS). Aloxan akan membangkitkan *reactive oxygen species* (ROS) dengan proses siklus reaksi yang akan menghasilkan reduksi berupa dialuric acid yang akan mengalami suatu siklus redoks dan akan menghasilkan radikal superoksida, dimana radikal ini akan bermutasi yang menghasilkan *hydrogen* peroksida dan hasil terakhir akan mengalami reaksi katalis besi yang menghasilkan radikal hidroksil. Radikal hidroksil ini yang mengakibatkan terjadinya kerusakan pada sel beta pankreas yang menuju pada terjadinya insulin dependent diabetes melitus pada hewan uji. Pemberian aloksan dalam hewan uji merupakan salah satu cara untuk menghasilkan keadaan diabetes eksperimental (hiperglikemik) pada hewan uji. Tikus akan mengalami hiperglikemik dengan menginjeksikan 120 – 150 mg/kg BB (Yuriska, 2009).



## 2.6 Glibenklamid

Glibenklamid merupakan obat antidiabetes yang termasuk golongan sulfonilurea. Sulfonilurea merupakan pemacu sekresi insulin (insulin secretagogue) yang memiliki struktur yang sama yaitu cincin benzena dan sulfonilurea. Sulfonilurea generasi pertama memiliki substitusi hidrofilik polar yang relatif kecil, sedangkan sulfonilurea generasi kedua memiliki substitusi lipofilik non polar yang besar sehingga lebih mudah berpenetrasi ke membran sel dan menghasilkan potensi yang lebih baik (Basit dkk., 2012).



**Gambar 5. Struktur Glibenklamid**

Glibenklamid berbentuk serbuk putih atau hampir putih, 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°-174°C. Glibenklamid atau gliburid diketahui juga sebagai 5-cloro-N-(4-N-(cyclohexylcarbamoil) sulphamoil] phenetil)-2- metoxybenzamide yang secara kimia merupakan obat hipoglikemik oral. Mekanisme aksi glibenklamid adalah menghambat kanal potasium yang sensitif terhadap ATP pada sel beta pankreatik. Mekanisme penghambatan ini menyebabkan depolarisasi membran sel, yang menimbulkan tegangan sehingga kanal kalsium terbuka. Hal tersebut menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah kalsium di sel beta yang menstimulasi pelepasan insulin (Indian Pharmacopoeia Comission, 2007).

## 2.7 Aplikasi Uji Antidiabetes Menggunakan Mencit

Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan salah satu jenis hewan mamalia yang mudah dipelihara dan dapat berkembang biak dengan cepat sehingga hewan ini banyak digunakan dalam penelitian laboratorium.



**Gambar 6. Mencit**

Hewan uji mencit (*Mus musculus* L.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Akbar, 2010) :

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

Mencit (*Mus musculus* L.) 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 maupun jantan dapat dikawinkan pada umur 8 minggu. Pada umumnya mencit betina dapat melahirkan anak mencit 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 dengan suhu ruang sekitar 18-19°C serta dengan kelembaban udara sekitar 30-70% (Akbar, 2010).

Mencit (*Mus musculus* L.) 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 (*Mus musculus* L.) sering digunakan sebagai sarana penelitian, pengujian, dan pendidikan. Hal ini ada kaitannya dengan penelitian, 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. Distribusi jaringan mammae menyebar, membentang dari garis tengah ventral atas panggul, dada dan leher, paru-paru kiri terdiri dari satu lobus, sedangkan paru kanan terdiri dari empat lobus.

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 senyawa kompleks yang digunakan dalam penelitian ini (Nugroho, 2006).

## 2.8 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Ekstraksi adalah proses penarikan zat terlarut dari larutannya di dalam air oleh suatu pelarut lain yang tidak bercampur dengan air. Tujuan ekstraksi adalah memisahkan suatu komponen dari campurannya menggunakan pelarut tertentu (Soebagio, 2003). Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk dalam pelarut. Pelarut menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif larut karena perbedaan konsentrasi antara pelarut zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa ini berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Baraja, 2008).

Ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan prinsip kelarutan. Prinsip kelarutan adalah “*like dissolves like*” yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, demikian juga sebaliknya pelarut nonpolar akan melarutkan senyawa nonpolar, serta pelarut organik akan melarutkan senyawa organik (Arifianti *etal.*, 2014). Keuntungan metode maserasi adalah prosedur dan peralatannya sederhana (Agoes, 2007). Metode ini dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Haryastuti, 2012).

Pemilihan pelarut organik yang digunakan dalam ekstraksi komponen aktif merupakan faktor penting dan menentukan pencapaian tujuan dan sasaran ekstraksi komponen. Semakin tinggi nilai konstanta dielektrik, titik didih dan kelarutan dalam air, maka pelarut bersifat makin polar (Sudarmadji, dkk., 2003).

**Tabel 1. Konstanta dielektrik dan tingkat kelarutan beberapa pelarut (Sax dan Lewis, 1998; Fesenden dan Fesenden, 1997; Mulyono, 2009).**

<b>Jenis pelarut</b>	<b>Konstanta dielektrikum</b>	<b>Tingkat kelarutan dalam air</b>	<b>Titik didih (°C)</b>
Heksana	1,9	TL	68,7
Petroleum eter	2,28	TL	60
Benzene	2,38	TL	80,1
Toluene	4,81	TL	111
Kloroform	4,81	S	61,3
Etil asetat	6,02	S	77,1
Metil asetat	6,68	S	57
Metil klorida	9,08	S	39,75
Butanol	15,80	S	117,2
Propanol	20,1	L	97,22
Aseton	20,70	L	56,2
Etanol	24,30	L	78,5
Metanol	33,60	L	64
Air	78,4	L	100

**Keterangan : TL= tidak larut; S= sedikit; L= larut dalam berbagai proporsi**

Umumnya tanin diekstrak dengan menggunakan pelarut air, karena lebih murah dengan hasil yang relatif cukup tinggi, tetapi tidak menjamin jumlah senyawaan polifenol yang ada dalam bahan tanin tersebut (Hathway, 1962).

Ekstraksi merupakan proses penarikan komponen atau senyawa aktif pada suatu simplisia dengan menggunakan pelarut tertentu. Metode ekstraksi yang dilakukan pada penelitian ini adalah maserasi ekstraksi cair-cair (partisi). 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).

## **2.9 Kromatografi Lapis Tipis**

### **2.9.1 Kromatografi Lapis Tipis Analitik**

Kromatografi Lapis Tipis merupakan teknik pemisahan campuran dengan menggunakan suatu plat fase diam yang nantinya fase diam tersebut akan secara seragam tersebar diatas permukaan plat tersebut yang kemudian fase gerak akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh gaya kapiler pada pengembangan menaik (*ascending*) atau karena gaya gravitasi pada pengembangan secara menurun (*descending*) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium. Jika fase diamnya berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diamnya berupa alumina maka bersifat basa. Fase gerak atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik (Gritter,1991). Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap yang berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ , semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efesiensinya dan resolusinya (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kromatografi lapis tipis analitik (KLTA) digunakan untuk mencari eluen terbaik, dari beberapa eluen yang baik dalam pemisahan senyawa flavonoid dan tanin KLTA 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. Pereaksi ini memberikan sebuah kepekaan dan perubahan warna yang ada kaitannya dengan struktur senyawanya, jika senyawa diamati di bawah lampu UV (Habone, 1996; Hayati, dkk., 2010).

## 2.9.2 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Pemisahan senyawa dilakukan menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub> dengan menggunakan eluen terbaik untuk masing-masing senyawa. Plat KLT ini dilengkapi dengan indikator fluoresensi pada sinar UV yang gelombang pendek. Pengamatan plat di bawah lampu UV yang dipasang panjang gelombang emisi 254 nm atau 366 nm untuk menampakkan komponen senyawanya sebagai bercak yang gelap atau bercak yang berfluorosensi terang pada dasar yang berfluorosensi seragam (Gritter, 1991). Dalam analisis kuantitatif dengan metode KLT, nilai R<sub>f</sub> diharapkan berada antara 0,2 sampai 0,8 (Kowalska T., 2003). Nilai R<sub>f</sub> dihitung menggunakan rumus berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh solute}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Harga R<sub>f</sub> untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga standar. Harga R<sub>f</sub> dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT diantaranya adalah struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktivitasnya, jenis eluennya, serta jumlah cuplikan yang digunakan tidak terlalu berlebihan (Sastrohamidjojo, 2007).

## 2.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis didasarkan pada pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar UV dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar UV tampak cukup mampu mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Sinar UV berada pada rentang panjang gelombang 200-400 nm, sedangkan sinar tampak pada rentang panjang gelombang 400-800 nm. Spektrofotometer UV-Vis biasanya digunakan untuk menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap terkonjugasi dan aoksokrom dari senyawa organik serta menjelaskan informasi struktur berdasarkan panjang gelombang maksimum suatu senyawa (Dachriyanus, 2017).

Dengan diperolehnya data dari analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat diperoleh besarnya absorpsivitas molar yang kita analisis menggunakan persamaan Lambert Beer:

$$A = e \cdot b \cdot c$$

Keterangan A= absorbansi

b= tebal sel (cm)

e= absorptivitas molar

c= konsentrasi (mol/liter)

nilai absorbansi diperoleh dari data spektrum dari puncak-puncak serapannya (Dendiko, 2013).

## 2.11 Spektroskopi Inframerah (IR)

Prinsip spektroskopi ini didasarkan pada adanya vibrasi atom dalam molekul.

Vibrasi terjadi pada ikatan antarpartikel melalui uluran, bengkokan dan guntingan yang terjadi karena interaksi dengan gelombang IR yang diberikan. Frekuensi getaran ini spesifik untuk tiap ikatan atom dan sesuai dengan panjang gelombang IR yang diserap. Panjang gelombang IR berada pada rentang  $625 \text{ cm}^{-1}$ - $4000 \text{ cm}^{-1}$ . Daerah pada  $625 \text{ cm}^{-1}$ - $1300 \text{ cm}^{-1}$  merupakan sidik jari yang unik dari setiap senyawa dan menunjukkan kekhasan yang tinggi (Sastrohamidjojo, 1991).

Sumber sinar yang digunakan pada spektroskopi IR adalah keramik yang apabila dialiri arus listrik dapat memancarkan IR. Prinsip kerja spektroskopi IR yaitu energy IR akan melewati celah ke sampel, dan celah tersebut berfungsi mengontrol jumlah energi yang disampaikan pada sampel. Selanjutnya beberapa IR akan diserap oleh sampel dan yang lainnya ditransmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar IR masuk ke detektor dan sinyal yang terukur dikirim ke komputer (*Thermo Nicolet Corporation*, 2001).



**Tabel 2. Daftar Bilangan Gelombang IR Berbagai Jenis Ikatan (Dachriyanus, 2017).**

<b>Bilangan Gelombang</b>	<b>Jenis Ikatan</b>
3750-3000	Regangan C=O dan N-H
3000-2700	Regangan -CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> , C-H dan C-H aldehyd
1900-1650	Regangan C=O (asam, aldehyd, keton, amida, ester, dan anhidrida)
1675-1500	Regangan C=C (aromatik dan alifatik) dan C=N
1475-1300	C-H <i>bending</i>
1000-650	C=C-H dan Ar-H <i>bending</i>

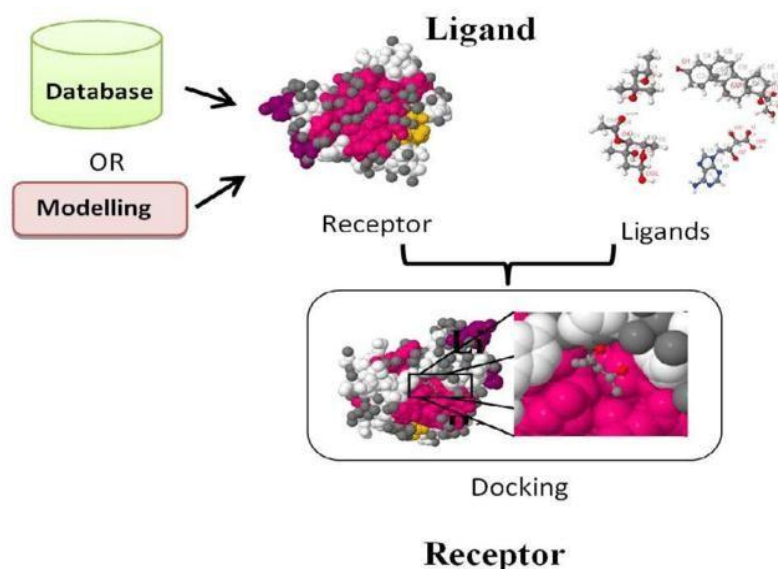
Analisis spektroskopi IR digunakan untuk menganalisis gugus fungsi yang terdapat pada zat yang diuji. Setiap gugus fungsi memberikan puncak-puncak yang tetap. Informasi yang didapat digunakan untuk analisis secara kualitatif pada zat tersebut. Misalnya gugus fungsi C=O akan memberikan puncak pada bilangan gelombang 1650 cm<sup>-1</sup> (asam karboksilat), 1700 cm<sup>-1</sup> (keton), dan 1800 cm<sup>-1</sup> (klorida asam) (Harvey, 2000).

## 2.12 Penambatan Molekul

Dalam bidang pemodelan molekul, *Docking* adalah metode untuk memprediksi orientasi yang lebih diutamakan dari suatu molekul ketika terikat dengan satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil. Informasi tentang orientasi ini dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan hubungan atau afinitas ikatan antara dua molekul yang digunakan misalnya fungsi penilaian. Hubungan antara molekul biologis yang relevan seperti protein, asam nukleat, karbohidrat, dan lipid memainkan peran sentral dalam transduksi sinyal selanjutnya, orientasi relatif dari dua pasangan yang berinteraksi dapat mempengaruhi jenis sinyal yang dihasilkan. *Docking* berguna untuk memprediksi baik kekuatan dan jenis sinyal yang dihasilkan. *Docking* sering digunakan untuk memprediksi orientasi ikatan kandidat obat bermolekul kecil terhadap target proteinnya untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul kecil, maka *Docking* memainkan peran penting dalam desain obat secara rasional (Mukesh & Rakesh, 2011).

Fokus penambatan molekul untuk mensimulasikan secara komputasi proses pengenalan molekul. Tujuan dari penambatan molekul adalah untuk mencapai konformasi yang optimal untuk kedua protein dan ligan serta orientasi relatif antara protein dan ligan sehingga energi bebas dari sistem secara keseluruhan diminimalkan. Proses komputasi mencari ligan yang cocok baik secara geometris dan energi ke situs pengikatan protein ini disebut penambatan molekul. Penambatan molekul membantu dalam mempelajari obat/ligan atau interaksi reseptor atau protein dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada protein, mendapatkan geometris terbaik dari ligan-kompleks reseptor, dan menghitung energi interaksi dari ligan yang berbeda untuk merancang ligan yang lebih efektif dari penambatan molekul (Mukesh,2011).

Untuk melakukan skrining penambatan, syarat pertama adalah struktur protein yang dikehendaki. Biasanya struktur telah ditentukan dengan menggunakan teknik biofisik seperti kristalografi sinar-x, atau spektroskopi NMR. Struktur protein dan basis data ligan yang potensial ini berfungsi sebagai *input* untuk program *Docking*. Keberhasilan program *Docking* tergantung pada dua komponen: pencarian algoritma dan fungsi *scoring* (Mukesh,2011). Fungsi *scoring* untuk menghitung afinitas kompleks ligan protein reseptor yang terbentuk dan untuk mengurutkan peringkat senyawa (Reddy et al,2017).



**Gambar 7. Flow Chart Docking**

### 2.13 Protein Data Bank

Protein data bank (PDB; <https://www.rcsb.org/pdb/>) adalah sebuah dokumen atau kumpulan data eksperimental struktur tiga dimensi dari makromolekul biologis yang sekarang berjumlah lebih dari 32.500 (Berman, *et al.*, 2000), termasuk protein dan asam nukleat. Molekul-molekul tersebut adalah molekul yang ditemukan di semua organisme termasuk bakteri, ragi, tanaman, lalat, hewan lain, dan manusia. Informasi ini dapat digunakan untuk membantu menyimpulkan peran struktur dalam kehidupan manusia dan penyakit, dan dalam pengembangan obat. Struktur yang terdapat dalam arsip ini mulai dari protein kecil dan potongan-potongan DNA sampai molekul kompleks seperti ribosom (RCSB,2014).

### 2.14 Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer adalah penampil gratis yang dapat digunakan untuk membuka, mengedit data serta alat untuk melakukan analisis data yang dihasilkan oleh perangkat lunak lain. Perangkat ini dirancang untuk memberikan gambarab yang interaktif untuk melihat dan mengedit struktur molekul, urutan, data refleksi X-ray, script, dan data lainnya. Aplikasi ini dapat digunakan pada Windows dan Linux dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, *clipboard*, dan pencetakan (*Accelrys Enterprise Platform*, 2005).

### 2.15 Autodock

Autodock merupakan program penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. Autodock terdiri dari dua program utama, yaitu Autodock dan Autodock grid. Autodock untuk melakukan penambatan molekuler ligan dan protein target dengan set grid yang telah terdeskripsi.

Pendeskripsian ini di lakukan sebelumnya dengan Autogrid. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, Autodock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat (Morris, *et al.*, 2009).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret-Oktober 2022, bertempat di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis yang digunakan adalah spektroskopi ultra ungu tampak (UV-*Vis*) dilakukan di Laboratorium Kimia Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis spektroskopi inframerah (IR) di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung. Pengujian aktivitas antidiabetes dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit 1 cc, glukometer, jarum sonde, strip glukosa, soxhlet, rotary evaporator, timbangan, neraca analitik, tabung reaksi, pipet tetes, tisu, kandang mencit, alat suntik, wadah penyimpanan, pengiling, aluminium foil, kertas saring, satu set alat Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA), satu set alat Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP), lampu UV, spektrofotometer ultraungu-tampak (UV-*vis*), dan spektrofotometer FT-IR.

Alat-alat yang digunakan untuk *Docking* antara lain Laptop dengan *software* Autodocktools, Discovery Studio Visualizer, CMD.exe, Lipinski, Pubchem, ProAdme, Protox dan Avogadro.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun durian, glibenklamid ( $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ ), akuades ( $H_2O$ ), metanol teknis dan p.a (MeOH), *n*-heksana teknis dan p.a (*n*- $C_6H_{14}$ ), butanol ( $C_4H_{12}O$ ), asam asetat ( $CH_3COOH$ ), etil asetat (EtOAc), natrium karboksimetil selulosa (NaCMC) 1%, natrium klorida (NaCl) 0.9%, *alcohol swabs*, aloksan ( $C_4H_2N_2O_4$ ), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) pekat, natrium hidroksida (NaOH) 10%, Besi (III) klorida ( $FeCl_3$ ), serium sulfat ( $Ce_2(SO_4)_3$ ), plat KLTA, plat KLTP, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, peraksi Lieberman Bouchard, mencit, air dan pangan.

Bahan-bahan yang digunakan untuk *Docking* adalah PDB protein dengan kode 5DI1, struktur ligan dari asam galat, asam elagik, katekin, galotanin, dan galokatekin.

### **3.3 Prosedur Kerja**

#### **3.3.1 Pengumpulan dan Persiapan Sampel**

Sampel daun durian dikumpulkan yang didapatkan dari areal Desa Tanjung Agung, Kecamatan Teluk Padan, Kab Pesawaran, Lampung Selatan. Sampel dibersihkan dengan dicuci menggunakan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Sampel dikeringkan hingga kering lalu, sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan penggiling hingga berbentuk serbuk simplisia. Simplisia yang sudah halus siap dimaserasi.

#### **3.3.2 Ekstraksi dengan Metanol**

Maserasi adalah metode yang digunakan pada penelitian ini caranya dengan merendam simplisia menggunakan pelarut metanol sambil diaduk sesekali proses

ini dilakukan selama 5 x 24 jam. Hasil maserat yang didapat dipisahkan setelah 24 jam pertama, lalu lakukan pengulangan sebanyak 5 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat yang dikumpulkan, lalu diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 35-40°C dengan laju putaran 120-150 rpm hingga diperoleh ekstrak metanol pekat.

### 3.3.3 Uji Kandungan Fitokimia

Uji fitokimia untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung di dalam ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr). Menurut (Nur, dkk., 2014) prosedur uji fitokimia adalah sebagai berikut:

#### 1. Uji saponin

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 0,5 sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml akuades kemudian dikocok selama 30 detik. Hasil positif menunjukkan terdapat busa.

#### 2. Steroid

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 0,5 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat glacial ditambahkan 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kemudian dikocok. Hasil positif menunjukkan warna sampel berubah menjadi biru atau ungu.

#### 3. Terpenoid

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 0,5 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat glacial ditambahkan 0,5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kemudian dikocok. Hasil positif menunjukkan warna sampel berubah menjadi biru atau ungu.

#### **4. Tanin**

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 1 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 3 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  10% kemudian dikocok. Hasil positif tanin terhidrolisis menunjukkan warna sampel berubah menjadi hitam kebiruan.

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 1 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan larutan formaldehid + HCl 2N dengan perbandingan (2:1) kemudian dikocok. Hasil positif tanin terkondensasi menunjukkan ada endapan serta larutan berwarna merah muda.

#### **5. Alkaloid**

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 0,5 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 tetes kloroform ditambahkan 5 tetes pereaksi Mayer kemudian dikocok. Hasil positif menunjukkan warna sampel berubah menjadi putih kecoklatan.

#### **6. Flavonoid**

Ekstrak daun durian (*Durio zibethinus* Murr.) diencerkan dengan pelarutnya metanol kemudian ambil 0,5 ml sampel dipipet ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,5 g serbuk mg ditambahkan 5 ml HCl pekat tetes demi tetes. Hasil positif menunjukkan warna sampel berubah menjadi merah atau kuning serta terdapat busa.

#### **3.3.4 Partisi**

Partisi atau ekstraksi cair-cair dilakukan pada corong pisah dengan menambahkan *n*-heksana dan metanol pada ekstrak metanol pekat campuran dikocok, dan dibiarkan hingga terlihat pemisahan yang sempurna. Fase atas berupa ekstrak *n*-heksana dan fase bawah berupa ekstrak metanol kemudian dipisahkan.



### 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis

#### 1. Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Pemisahan secara Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) dilakukan untuk mengetahui pola kromatogram yang dihasilkan dari ekstrak senyawa yang terdapat pada sampel. Ekstrak kasar selanjutnya dipisahkan dengan KLTA menggunakan plat silika F254 sebagai fase diam. Cairan pengelusi yang telah dibuat dengan perbandingan eluen tertentu dimasukkan dalam chamber. Kertas saring yang telah 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.

Dibuat garis lurus pada lempeng KLTA 0,5 cm (dari batas bawah) dan 0,5 cm (dari batas atas), dari masing-masing lempeng dengan total panjang lempeng 4 cm. Ekstrak metanol daun durian ditotolkan pada batas bawah lempeng KLTA. Penotolan dilakukan dengan menggunakan pipa kapiler secara tegak lurus (90° dari permukaan lempeng). Lempeng yang sudah ditotol dengan ekstrak sampel dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan sebelumnya. Posisi lempeng berdiri dengan kemiringan 50° dari dinding chamber. Chamber ditutup dan lempeng KLTA dibiarkan terelusi hingga batas atas lempeng. Elusi telah selesai lempeng dikeluarkan lalu dibiarkan hingga kering dan noda yang terbentuk diamati dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Noda yang nampak kemudian diberi tanda setelah diamati noda pada sinar UV 366 nm dan 254 nm namun bercak tidak terlihat selanjutnya disemprot dengan serum sulfat lalu diangin-anginkan hingga kering. Pereaksi serum sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel dengan ditandai timbulnya noda berwarna. Noda warna yang telah tampak kemudian ditandai dan diukur jarak tempuhnya untuk diketahui nilai Rf (Hasma dan Winda, 2019).

## 2. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Fraksi yang telah didapatkan telah sesuai dengan sifat sampel dari KLTA selanjutnya dilakukan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) cairan pengelusi yang telah dibuat dengan perbandingan eluen butanol : asam asetat : akuades tertentu dimasukkan dalam chamber. Kertas saring yang telah 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.

Garis lurus pada plat kaca silika KLTP 1 cm (dari batas bawah) dan 1 cm (dari batas atas), dari masing-masing plat kaca silika dengan total panjang lempeng 10 cm. Fraksi ditotolkan pada batas bawah lempeng KLTP. Penotolan dilakukan dengan menggunakan pipa kapiler secara tegak lurus (90° dari permukaan lempeng). Lempeng yang sudah ditotol dengan fraksi sampel dimasukkan ke dalam chamber yang telah dijenuhkan sebelumnya. Posisi lempeng berdiri dengan kemiringan 50° dari dinding chamber. Chamber ditutup dan plat kaca silika KLTP dibiarkan terelusi hingga batas atas kaca setelah elusi selesai plat kaca dikeluarkan lalu dibiarkan hingga kering dan noda yang terbentuk diamati dengan menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm. Noda yang nampak kemudian diberi tanda. Noda warna yang telah tampak kemudian ditandai dan diukur jarak tempuhnya untuk diketahui nilai  $R_f$  Setelah diamati noda pada sinar UV 366 nm dan 254 nm noda dikerok menggunakan ujung spatula. Hasil kerokan kemudian dilarutkan dengan pelarut yang sama dengan jenis fraksi selanjutnya disentrifus akan didapatkan filtrat, filtrat inilah yang akan di karakterisasi (Hasma dan Winda, 2019).

### 3.4 Spektrofotometri Ultraungu-Tampak (UV-*vis*)

Filtrat yang didapatkan dari hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif kemudian di analisis menggunakan spektrofotometer Ultraungu-Tampak (UV-*vis*), ambil

sekitar 3 ml filtrat sampel dan larutan blanko 3 ml. Panjang gelombang yang ingin diketahui 200 nm-800 nm. Akan terbentuk peak-peak dari sampel tersebut.

### 3.5 Spektrofotometri Inframerah (IR)

Filtrat yang didapatkan dari hasil Kromatografi Lapis Tipis Preparatif kemudian di analisis menggunakan spektrofotometer Inframerah (IR) ambil sekitar 3 ml filtrat sampel dan larutan blanko 3 ml, akan terbentuk gugus-gugus fungsi dan panjang gelombang dari sampel tersebut.

### 3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes

#### 1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan hewan uji. Berikut adalah bentuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang akan dilakukan pada penelitian ini yaitu :

**Tabel 3. Rancangan Acak Lengkap**

Kelompok perlakuan	Pengulangan			Total pengulangan
	1	2	3	
<b>N</b>	NU1	NU2	NU3	3
<b>KN</b>	KNU1	KNU2	KNU3	3
<b>KP</b>	KPU1	KPU2	KPU3	3
<b>D1</b>	D1U1	D1U2	D1U3	3
<b>D2</b>	D2U1	D2U2	D2U3	3
<b>D3</b>	D3U1	D3U2	D3U3	3
<b>Total kel. perlakuan</b>	6	6	6	18

Keterangan;

N = Kelompok Normal      D1 = Daun Dosis 1

KP = Kelompok Positif      D2 = Daun Dosis 2

KN = Kelompok Negatif      D3 = Daun Dosis 3

## 2. Persiapan Hewan Uji

Mencit jantan (*Mus musculus* L.) sebanyak 18 ekor yang memiliki umur sekitar 2-3 bulan dan berat badan 15-30 gram, sebelum mencit digunakan terlebih dahulu diaklimatisasi selama 1 minggu. 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).

## 3. Pembuatan Larutan Penginduksi

Mencit terlebih dahulu dipuasakan selama 16 jam, sebelum pemeriksaan kadar glukosa darah (Kusumawati, 2004). Pemeriksaan kadar glukosa awal (GDP0) terhitung pada hari ke-0, kemudian semua kelompok disuntikkan aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB kecuali kelompok perlakuan normal, setelah 24 jam penyuntikan aloksan dilakukan pengecekan.

## 4. Pembuatan Dosis Glibenklamid

Dosis glibenklamid pada manusia adalah 1,25-20 mg/hari. Koversi perhitungan dosis pada manusia (70kg) ke mencit (20g) adalah sebesar 0,0026 (Laurence & Bacharach, 1964). Dosis glibenklamid pada mencit diabetes yang di induksi aloksan 3 mg/kg BB mencit (Karau *et al.*, 2012). Dosis glibenklamid yang digunakan dalam penelitian adalah sebesar 3 mg/kg BB mencit.

Massa glibenklamid dosis 3 mg/kg bb  $= \frac{3 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} = 0.06 \text{ mg}/20 \text{ g}$  bb

Volume larutan yang diberikan  $\frac{0.06 \text{ mg}}{3 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$

Maka untuk membuat 25 ml, sediaan suspensi glibenklamid 0,06 mg/0,2 ml dalam CMC-Na 1 % dibutuhkan glibenklamid sebanyak  $\frac{0,06 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 25 \text{ ml} = 7,5 \text{ mg}$  glibenklamid dalam 25 ml larutan CMC Na 1%.

## 5. Pembuatan Dosis Ekstrak Sampel

Dosis suspensi ekstrak metanol daun durian yang akan dibuat adalah 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb.

1. Cara pembuatan suspensi ekstrak metanol daun durian (EMDD) yaitu timbang 100 mg, 200 mg, dan 400 mg ekstrak metanol daun durian, masing-masing dilarutkan dalam 10 ml suspensi Na-CMC 0,5%.

2. Volume suspensi ekstrak metanol daun durian yang akan diberikan pada mencit, misalkan bb mencit 20 g.

$$\text{Jumlah EMDD dosis 100 mg/kg bb} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} = 2 \text{ mg}$$

$$\text{Volume larutan yang diberikan} = \frac{2 \text{ mg}}{100 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

$$\text{Jumlah EMDD dosis 200 mg/kg bb} = \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} = 4 \text{ mg}$$

$$\text{Volume larutan yang diberikan} = \frac{4 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

$$\text{Jumlah EMDD dosis 400 mg/kg bb} = \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g} = 6 \text{ mg}$$

$$\text{Volume larutan yang diberikan} = \frac{6 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 10 \text{ ml} = 0,2 \text{ ml}$$

## 6. Pemberian Ekstrak Sampel pada Hewan Uji

Mencit mengalami hiperglikemia, selanjutnya masing-masing kelompok diberikan perlakuan secara oral. Terdapat 18 ekor mencit yang digunakan pada penelitian ini yang kemudian terbagi ke dalam 6 kelompok dengan masing-masing kelompok 3 kali pengulangan. Dosis ekstrak daun durian yang digunakan dalam penelitian ini, didasarkan pada dosis yang telah dilakukan sebelumnya (Wenas *et al.*, 2020 ; Safitri dkk., 2021).

Setiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda, diantaranya sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol normal (N) : hanya diberi makan berupa pellet dan air minum secukupnya.
2. Kelompok kontrol positif (KP) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi glibenklamid.
3. Kelompok kontrol negatif (KN) : hanya diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari.
4. Kelompok perlakuan 1 (K1) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun durian dengan dosis 100 mg/kgBB/hari.
5. Kelompok perlakuan 2 (K2) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun durian dengan dosis 200 mg/kgBB/hari.
6. Kelompok perlakuan 3 (K3) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun durian dengan dosis 400 mg/kgBB/hari.

## **7. Parameter Uji**

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada mencit. Pemeriksaan kadar glukosa darah pada mencit ini dilakukan sebanyak 4 kali. Tahap pertama dilakukan sebelum mencit diinduksi aloksan, tahap kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan, tahap ketiga dilakukan pengukuran pada hari ke 7 setelah mencit diberi perlakuan dengan ekstrak daun durian, dan tahap keempat dilakukan pengukuran pada hari ke 14 setelah mencit diberi perlakuan dengan ekstrak daun durian. Pemeriksaan kadar glukosa darah ini dilakukan menggunakan glukometer strips. Ujung ekor mencit disterilkan menggunakan *alcohol swabs* yang bertujuan agar tidak terjadi iritasi, setelah itu ekor dilukai sedikit hingga darah yang keluar diteteskan pada strip glukometer yang sebelumnya telah dimasukkan ke alat glukometer, kemudian ditunggu 10 detik hingga didapat hasil kadar glukosa darah pada layar glukometer.

## 8. Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara ANOVA (Gaspersz, 1991). Data yang diperoleh dari hasil uji antidiabetes akan dianalisis menggunakan metode statistik One-way ANOVA (*Analysis of Variance*) 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) :

$$\% \text{ GL} = \frac{\text{Kadar Glukosa}_{\text{sebelum perlakuan}} - \text{Kadar Glukosa}_{\text{setelah perlakuan}}}{\text{Kadar Glukosa}_{\text{sebelum perlakuan}}} \times 100\%$$

### 3.8 Docking

#### 3.8.1 Validasi Metode

##### 1. Memisahkan reseptor dan ligand

Preparasi menggunakan *software Discovery Studio Visualization*. Buka (file>open>pdb 5DI1> klik ok >scripts>visualization>publication quality). Masuk ke dalam langkah preparasi protein 5DI1. Pertama, hapus molekul air (scripts>selection>select water molecules>delete). Untuk mendapatkan protein saja hilangkan ligand (scripts>selection>select ligands>delete). Didapatkan *file* yang berisi reseptor simpan (file >save as) dengan tipe pdb, dengan nama *file* reseptor.pdb. buka kembali DSV atau silang reseptor pada worksoace setelah itu lakukan hal yang sama seperti memisahkan ligan.

##### 2. Validasi metode Docking menggunakan AutodockTools

*File-file* agar mudah ditemukan dan sama dengan yang dibutuhkan (*copy* alat folder>file>preferences>set startup directory>file read molecule>reseptor) tahap ini untuk pembuatan .pdbqt agar bisa masuk ke *software AutodockTools*

selanjutnya (edit>charges>add kollman charges>ok> grid > macromolecule> choose>reseptor>select molecule>ok>save) save dengan format reseptor.pdbqt. begitu pula pada tahan ligan disave dengan format ligand.pdbqt.

### 3. Menentukan Lokasi *Docking*

Pada tahap ini akan kita tentukan grid box agar ligan tidak keluar dari jalur protein yang ingin di*Docking* pertama (grid>macromolecule>open>reseptor.pdbqt > grid> set map types>open ligand> ligand.pdbqt> grid macromolecule> choose> reseptor> select molecule> yes.> grid>set map types>choose > ligand> select ligand >grid box> center>center on ligand). Pilih ukuran dari boxnya kemudian (file> close saving current> grid>output>save GPF ), sama halnya dengan ligan dibuat dengan format DPF.

### 4. Menjalankan *Docking*

*Docking* diawali dengan klik (run> run autogrid) cari file yang dibutuhkan klik launch selanjutnya (run>run attodock) cari file yang dibutuhkan klik *launch*. *Docking* telah diproses, jika sudah berhenti lihat file DLG, autodock4.exe *successful copletion*. RMSD dapat dilihat berserta nilai binding *energy*.

### 5. Visualisasi

Visualisasi 2D dapat dilakukan menggunakan *software Discovery Studio Visualization* atau bisa juga dengan bantuan *software Ligplot+* untuk melihat asam amino yang terikat pada protein target.

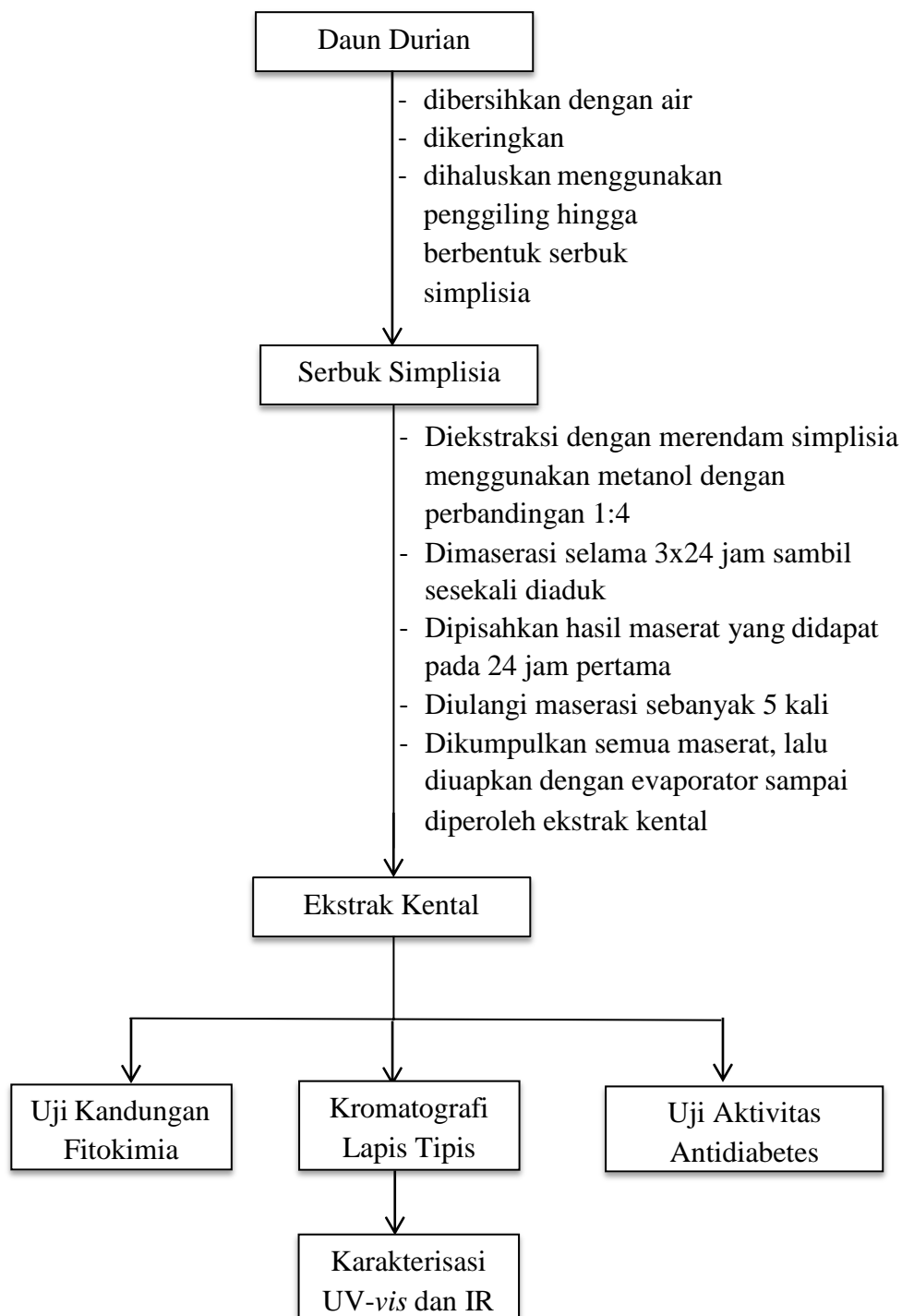
### 6. Prediksi Toksisitas

Menentukan toksisitas suatu ligan dapat diprediksi menggunakan Web Lipinskin, Preadme dan Protox. Cara menggunakan Web Protox adalah mengetik pada web Protox-ii> pilih tox prediction> masukan nama senyawa yang ingin kita ketahui atau bisa menyalin kode smile dari pubchem> search> pilih toksisitas yang ingin kita ketahui>run. Pada tahap ini kita dapat menganalisis apakah ligan kita dapat menjadi kandidat obat.

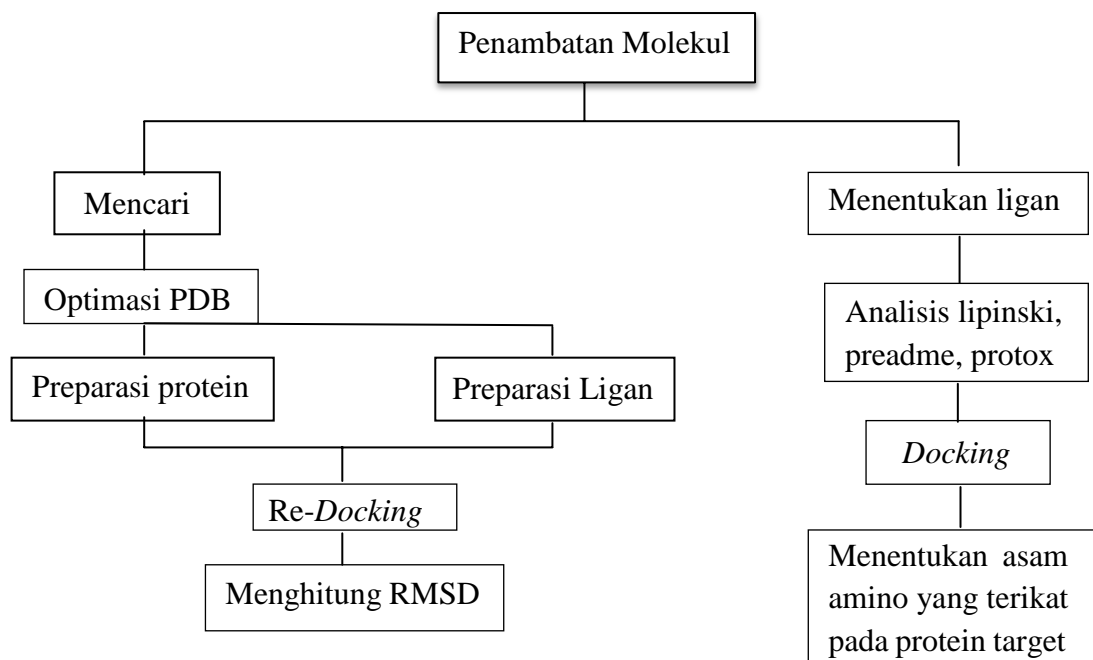


### 3.9 Diagram Alir

Adapun diagram alir secara in vivo prosedur diatas, dapat dirangkum ke dalam bentuk diagram alir sebagai berikut:



Adapun diagram alir secara *in silico* prosedur diatas, dapat dirangkum ke dalam bentuk diagram alir sebagai berikut:



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil simpulan sebagai berikut:

1. Rendemen ekstrak yang diperoleh dari ekstraksi daun durian(*Durio zibethinus* murr.) adalah 3.4% dan hasil ekstrak diperoleh seberat 51.8 gram berbentuk ekstrak kental berwarna coklat tua.
2. Uji fitokimia ekstrak daun durian(*Durio zibethinus* murr.) menunjukkan positif mengandung tanin terhidrolisis yang ditandai dengan perubahan warna biru tinta/ kehitaman setelah diberi  $\text{FeCl}_3$ .
3. Hasil Karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR menunjukkan bahwa telah diperoleh ekstrak pada panjang gelombang hasil spektrofotometer UV-Vis adalah 229 nm dan 203 nm dan gugus fungsi yang diperoleh dari spektrofotometer IR adalah gugus -O-H, C-H alifatik, C=O ester, C=C aromatik, C-O-H, dan C-O-C eter. Puncak-puncak tersebut merupakan puncak spesifik dari senyawa tanin khususnya tanin terhidrolisis.
4. Hasil uji aktivitas antidiabetes menunjukkan ekstrak daun durian(*Durio zibethinus* murr.) dapat menurunkan kadar gula darah secara signifikan dengan nilai uji ANOVA ( $p \leq 0.05$ ). Dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah adalah dosis ketiga yaitu 400 mg/KgBB dengan nilai persentase penurunan kadar gula (%GL) sebesar 66%.
5. Nilai RMSD dari perhitungan *re-Docking* adalah 0.89 Å, nilai ini  $< 2\text{Å}$ .

6. Hasil interaksi ligan galokatekin *Docking* berinteraksi dengan asam amino MET 105 dan GLU 106 dengan energi ikatan sebesar -8.23 kkal/mol.

## 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk melanjutkan penelitian ini sampai tahap isolasi karena berbagai manfaat yang dapat diperoleh dari senyawa tanin sehingga dapat bermanfaat bagi masyarakat dan dapat dipergunakan secara luas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U.S.A: Accelrys Software Inc.
- Agoes, G. 2007. *Teknologi Bahan Alam*. Penerbit ITB: Bandung.
- Alfiansyah. 2017. *Penetapan Kadar Flavonoid Dari Ekstrak Metanol Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Visible*. Tulis Ilmiah, Akademi Farmasi ISF. Banjarmasin.
- Akbar, Budhi. 2010. *Tumbuhan dengan Kandungan Aktif dan Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilasi*. Adabia Press. Jakarta.
- American Diabetes Association. 2017. *Standards of Medical Care in Diabetes 2017*. Vol.40. USA : ADA
- Anwar AS, Afrisanthi. 2011. *Pemanfaatan Tepung Biji Durian Menjadi Glukosa Cair Melalui Proses Hidrolisa Dengan Menggunakan Enzim  $\alpha$  Amilase*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Baraja, M. 2008. *Uji Toksisitas Ekstrak Daun Ficus elastica Nois ex Blume terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Basit A, Riaz M, Fawwaz A. 2012. *Glimepiride: evidence-based facts , trends, and observations*. *Vascular Health and Risk Management* ;8:463-72.
- Bustan, M.N. 2015. *Manajemen pengendalian penyakit tidak menular*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Dachriyanus. 2017. *Analisis Struktur Senyawa Organik secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas. Padang.
- Dendiko, M. 2013. *Isolasi dan Modifikasi Senyawa Artonin-E dari Artocarpus rigida Menggunakan AlCl<sub>3</sub>*. Skripsi, Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Halaman 20.

- Desmiaty, Y.; Ratih H.; Dewi M. A.; Agustin R. 2008. *Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk) dan Daun Sambang Darah (Excoecaria bicolor Hassk.) secara Kolorimetri dengan Pereaksi Biru Prusia. Ortocarpus*, 8:106-109.
- Din, F., & Mohamed, S. 1993. *Hypoglycemic Effect of Extracts of Petai Papan (Parkia speciosa, Hassk).* J. Trap. Med Plants, 16(3), 161–165.
- Djaeni M, Prasetyaningrum A. 2010. *Kelayakan biji durian sebagai bahan pangan alternatif: aspek nutrisi dan tekno ekonomi.* Riptek 4 (11): 37- 45.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi Jilid 1.* Banyu Media Publishing. Malang.
- Fernando T, Patricia A, Yong-seo P, Soon-teck J, Seong-gook K, Bukgu H, Jerzy D, Zofia Z, Pawel Z, Pawel P, Shela S.. 2008. *Screening of the antioxidant and nutritional properties, phenolic contents and proteins of five durian cultivars.* Intl J Food Sci Nutr 59 (5): 415-427.
- Fessenden dan Fessenden. 1997. *Kimia Organik Edisi Ketiga.* Terjemahan oleh Alyosius Hadyana Pudjaatmaka. Erlangga. Jakarta.
- Gandjar, I., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis.* Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gritter, R.J. 1991. *Pengantar Kromatografi edisi kedua.* Terjemahan oleh Kokasih Padmawinata. penerbit ITB. Bandung.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Terbitan Kedua.* ITB. Bandung.
- Harbone, J. 1987. *Comparative Biochemistry of Flavonoids.* Academic Press. London.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry.* McGraw-Hill. USA. Hlm 369; 372 dan 402.
- Haryastuti, D. A. 2012. *Inhibisi Ekstrak Biji Pinang (Areca Catechu L.) Terhadap Pelepasan Kalsium Pada Proses Demineralisasi Gigi yang Distimulasi Streptococcus Mutans (Universitas Jember).*
- Hathway, D. E. 1962. *The Condensed Tannins. In Wood Extractives (Hilis W.E).* New York: Academic Press.
- Hayati, E.K., Fasyah, A.G dan Sa'adah, L. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.). Alchemy*, 4(2):193-200.
- Hidayah, N. 2016. *Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Mengurangi Emisi Metan Ternak Ruminansia.* Jurnal Sain Peternakan Indonesia, 11(2), <https://doi.org/10.31186/jspi.id.11.2.89-98>

- Indian Pharmacopoeia Commission. 2007. *Ministry of Health and Family Welfare. Indian pharmacopoeia*. Volume 1. Ghaziabad.
- Ishak, A. 2018. *Analisa fitokimia dan uji aktivitas anti oksidan biskut biji labu kuning (curcubita sp.) sebagai snack sehat*. Universitas Hasanuddin. Makasar.
- Kelly, S. G. 2011. *Quercetin*. *Alternative Medicine Review*. 16(2).
- Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Kowalska, T. 2003. *Encyclopedia of Chromatography*. New York: Marcell Dekker Inc.
- Kristianto, A. 2013. *Pengaruh Ekstrak Kasar Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa Bilimbi L.) pada Pengolahan Air*. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Jember.
- Malanggia, L. P., Sangia, M. S., Paaesdonga, J.J. E. 2012. *Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (Persea americana Mill.)*. *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1):5-10.
- Maria L, Hanna L, Zenon J, Iwona J, Ratiporn H, Sumitra P, Elena K, Zev T, Jerzy D, Simon T, Shela G. 2007. *The nutritional and metabolic indices in rats fed cholesterol-containing diets supplemented with durian at different stages of ripening*. *BioFactors* 29: 123-136.
- Markham. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* (K. Padmawinata, Ed.). Penerbit ITB. Bandung.
- Morris, G., Goodsell, D.S., Pique, M.E., Lindstrom. 2009. *Autodock version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligand*. La Jolla, California, U.S.A
- Mulyono. 2009. *Kamus Kimia*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Nakamura, Y., Watanabe, S., Miyake, N., Kohno, H., and Osawa, T. 2003. *Dihydrochalcones: Evaluation as Novel Radical Scavenging Antioxidants*. *J. Agric. Food Chem.* **51**(11): 3309–3312.
- Neldawati, Ratnawulan, dan Gusnedi. 2013. *Analisis Nilai Absorbansi dalam Penentuan Kadar Flavonoid untuk Berbagai Jenis Daun Tanaman Obat*. *PILLAR OF PHYSICS*. **2**: 76–83.
- Nugroho, A.E. 2006. *Animal Models of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism of Some Diabetogenics*. Fakultas Farmasi UGM. Yogyakarta. Review. 7:378-382.
- Perron, R. N. Dan Brumaghim, L. J. 2009. *A Review of the Antioxidant Mechanisms of Polyphenol Compounds Related to Iron Binding*. *Cell Biochem Biophys*, (53):75-100.

- Prameswari, O. M. & 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.
- Rahayu, F., Jose, C., dan Haryani, Y., .2015. *Total Fenolik, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Dari Produk Teh Hijau dan Teh Hitam Tanaman Bangun-Bangun (Coleus Amboinicus) dengan Perlakuan Ett Rumput Paitan. JOM FMIPA,* 2(1).
- RCSB. 2014. *About the PDB Archive and the RCSB PDB.* Retrieved from PDB.
- Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Edisi VI, oleh Kosasih Padmawinata. ITB press. Bandung, Hal 57, 73, 199.
- Sastrohamidjojo, H. 2007. *Dasar-Dasar Spektrofotokopi* (Edisi Kedua). Liberty. Jogjakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi.* Liberty. Yogyakarta.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II.* Malang: UM Press.
- Subroto, M . A. 2006. *Ramuan Herbal untuk Diabetes Melitus.* Penebar Swadaya, Jakarta, Indonesia. Hal: 16,19,29,40.
- Sudarmadji, S.B., Haryoto dan Suhardi. 2003. *Analisis Bahan Makanan dan Pertanian.* Liberty. Yogyakarta.
- Szkudelski T. 2001. *The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In B Cells Of The Rat Pancreas.* In: Physiology Research. P. 536-554.
- Tirtawinata, Muh R. 2016. *Durian (Pengetahuan Dasar Untuk Pecinta Durian).* Penebar Suadaya. Jakarta.
- Widyawati, A.T. dan Nurbani. 2017. Mini Review: *Teknologi inovasi budidaya durian di Kalimantan Timur.* Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon. 3. (1): 132– 137.
- Yandiana, Srinola. 2005. *Suplementasi Ginseng Liar (Wild ginseng) PADA Ransum Terhadap Pertumbuhan Mencit (Mus musculus).* Skripsi, Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yuriska, F.A. 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar.* Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.