

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TURUNAN SENYAWA TANIN DARI
EKSTRAK KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera*) SECARA
IN SILICO TERHADAP PROTEIN 3KC0 DAN *IN VIVO*
TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)**

(Skripsi)

Oleh
Fitri Febriani



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

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TURUNAN SENYAWA TANIN DARI EKSTRAK KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera*) SECARA IN SILICO TERHADAP PROTEIN 3KC0 DAN IN VIVO TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)

Oleh

FITRI FEBRIANI

Kandungan senyawa tanin diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui jenis turunan senyawa tanin yang berpotensi sebagai kandidat obat antidiabetes serta mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kelor terhadap penurunan kadar glukosa darah. Prosedur yang dilakukan yaitu menganalisis senyawa tanin ekstrak kulit batang kelor, memprediksi sifat farmakokinetik, toksisitas, serta *molecular docking* turunan senyawa tanin terhadap protein 3KC0, dan menentukan dosis ekstrak kulit batang kelor terbaik dalam menurunkan kadar glukosa darah. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, UV-Vis, dan FTIR, ekstrak kulit batang kelor positif mengandung tanin jenis katekin. Hasil uji *in silico* menunjukkan senyawa katekin memiliki sifat farmakokinetik dan toksisitas terbaik dan paling aman digunakan. Hasil *molecular docking* menyatakan senyawa katekin memiliki nilai RMSD 0,11 Å dengan energi ikatan -9,14 kkal/mol. Hasil uji *in vivo* menunjukkan dosis 200 mg/kg BB adalah dosis yang paling efektif menurunkan glukosa darah mencit dengan %GL sebesar 69,39%. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan senyawa tanin yang terkandung dalam ekstrak kulit batang kelor dapat dijadikan sebagai kandidat obat diabetes melitus.

Kata kunci: antidiabetes, kulit batang kelor, tanin, *molecular docking*, mencit.

ABSTRACT

ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST OF TANIN DERIVATIVE COMPOUNDS FROM EXTRACT OF MORINGA OLEIFERA BATS IN SILICO TO PROTEIN 3KC0 DAN IN VIVO ON MICE (*Mus musculus*)

By

FITRI FEBRIANI

The content of tannin compounds is known to lower blood glucose levels. This research was conducted to determine the types of tannin derivatives that have the potential as antidiabetic drug candidates and to determine the effect of moringa stem bark extract on reducing blood glucose levels. The procedure carried out was to analyze the tannin compounds of moringa bark extract, predict pharmacokinetic properties, toxicity, and molecular docking of tannin derivatives against 3KC0 protein, and determine the best dose of moringa bark extract in lowering blood glucose levels. Based on the results of phytochemical, UV-Vis, and FTIR, the moringa stem bark extract positively contained catechin type condensed tannins. The in silico test results showed that catechin compounds had the best pharmacokinetic and toxicity properties and were the safest to use. Molecular docking results show that the catechin compound has an RMSD value of 0.11 Å with a bond energy of -9.14 kcal/mol. The in vivo test results showed that a dose of 200 mg/kg BW was the most effective dose in lowering the blood glucose of mice with a %GL of 69.39%. Based on the results of the study, it can be concluded that the tannin compounds contained in moringa stem bark extract can be used as candidates for diabetes mellitus drugs.

Keywords: antidiabetic, moringa stem bark, tannins, molecular docking, mice.

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES TURUNAN SENYAWA TANIN DARI
EKSTRAK KULIT BATANG KELOR (*Moringa oleifera*) SECARA
IN SILICO TERHADAP PROTEIN 3KC0 DAN *IN VIVO*
TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)**

Oleh
Fitri Febriani

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 : **UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES
TURUNAN SENYAWA TANIN DARI
EKSTRAK KULIT BATANG KELOR
(*Moringa oleifera*) SECARA *IN SILICO*
TERHADAP PROTEIN 3KC0 DAN *IN VIVO*
TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*)**

Nama Mahasiswa : **Fitri Febriani**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011027

Program Studi : Kimia


Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing


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


NIP 197407172008122003


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

NIP 197412111998022001

2. Ketua Jurusan Kimia

FMIPA Universitas Lampung



Mulyono, Ph.D.

NIP 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

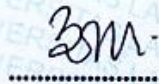


Sekretaris : Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing : Dian Septiani Pratama, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 25 Mei 2023

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fitri Febriani
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011027
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antidiabetes Turunan Senyawa Tanin dari Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringaoleifera*) secara *In Silico* terhadap Protein 3KC0 dan *In Vivo* terhadap Mencit (*Mus musculus*)”** adalah benar karya saya sendiri dan tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah inisebagaimana 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, 8 Juni 2023

nyatakan,


Fitri Febriani
1917011027

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Fitri Febriani, lahir di Cikampek, Karawang, Jawa Barat pada tanggal 11 Februari 2000. Penulis merupakan anak kedua dari Bapak Rudi Meihar dan Ibu Komariah, serta memiliki dua saudari kandung bernama Kori Nurwidyati dan Silviana Julianti. Penulis mulai mengawali jenjang pendidikan di TK Kartini II (2005-2006). Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SDN 1 Palapa (2006-2012), pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 4 Bandar Lampung (2012-2015) dan Sekolah Menengah Atas di Pondok Pesantren Diniyyah Putri Lampung (2015-2019).

Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung (FMIPA Unila). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi sebagai anggota Bidang Sosial Masyarakat Himpunan Mahasiswa Kimia (Sosmas Himaki) periode 2020-2021. Penulis juga pernah bergabung dengan Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas (BEM F) periode 2020-2021.

Perjalanan dan pengalaman yang pernah dilakukan selama kuliah yaitu menjadi panitia dari berbagai acara Himaki dan BEM FMIPA, salah satunya yaitu menjadi Bendahara Karya Wisata Ilmiah (KWI) tahun 2021. Pada Januari-Februari 2022, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Sawah Brebes selama 40 hari. Pada Juli 2022, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL), kemudian dilanjutkan dengan penelitian yang dimulai pada bulan Oktober 2023 dan selesai pada bulan April 2023.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang"

Atas rahmat Allah SWT
Kupersembahkan karya ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawab kepada:

Bapak dan Mamaku tercinta,
yang telah berjuang dan berusaha untuk dapat memberikan pendidikan
terbaik kepadaku, selalu mendoakan keberhasilanku, dan telah
memenuhi kewajiban perkuliahanku berupa finansial.

Untuk kedua saudariku Kori Nurwidyati dan Silviana Julianti, kedua ponakanku
Abdullah dan Ali yang selalu menghibur dan menjadi penyemangat dalam
menyelesaikan karya ini.

Rasa hormat kepada pembimbing penelitianku:

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

Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.

Terima kasih atas bimbingan, ilmu, nasihat, dan waktunya selama ini.

Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membagi ilmunya kepadaku.

Kalian yang telah banyak membantu selama perkuliahan
maupun penelitian.

Serta Almamaterku tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

"Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya."
(*QS. Al-Baqarah : 286*)

"Jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, dan sesungguhnya yang demikian itu sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyu."
(*QS. Al-Baqarah : 45*)

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain)."
(*QS. Al-Insyirah : 6-7*)

"Hidup yang tidak teruji adalah hidup yang tidak layak untuk dihidupi. Tanda manusia masih hidup adalah ketika ia mengalami ujian, kegagalan dan penderitaan."
(*Socrates*)

"Dare to dream then you will dare to be successful."
(*Fitri Febriani*)

SANWACANA

Segala puji hanya bagi Allah SWT, Rabb semesta alam, Dzat yang satu tiada dua. Alhamdulillah atas kehendak dan anugerah Allah SWT, Saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antidiabetes Turunan Senyawa Tanin dari Ekstrak Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*) secara *In Silico* terhadap Protein 3KC0 dan *In Vivo* terhadap Mencit (*Mus musculus*)”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Sholawat dan salam senantiasa tersampaikan kepada Nabi Muhammad SAW, Rasul mulia berakhlak Al-Qur'an, suri tauladan yang tak lekang oleh zaman.

Saya meyakini penelitian skripsi ini tidak akan selesai tanpa dukungan dan bantuan dari banyak kalangan. Maka dengan ini Saya sampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Penelitian I yang telah membimbing, memberikan ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran, dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikannya.
2. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Pembimbing Penelitian II atas semua arahan, nasihat, kritik, dan saran yang telah diberikan sehingga saya dapat termotivasi dan semangat menjalani penelitian. Semoga Allah senantiasa memberikan kemudahan.
3. Ibu Dian Septiani, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembahas atas segala arahan, koreksi, kritik, dan saran yang sangat bermanfaat bagi penulis. Semoga Allah senantiasa memberikan kemudahan.
4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
5. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan

Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
7. 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.
8. Kedua orang tua saya, Bapak Rudi Meihar dan Ibu Komariah yang selalu mendoakan, mendidik dan mengajarkan kerja keras, memberikan pendidikan yang terbaik, dan menjadi motivasi saya untuk mencapai hal-hal yang baik.
9. Kedua saudariku, Kori Nur Widyati dan Silviana Julianti yang selalu memberikan doa dan dukungan, serta ponakanku Abdullah dan Ali yang selalu membuat saya bersemangat.
10. Achmad Alfaridzi yang sudah banyak membantu dari awal penelitian hingga terbentuknya skripsi ini.
11. Tim penelitianku (Dr. Yuli Research'19), yaitu Maysya Dhiya Rizky A., S.Si., Qonita Putri H., S.Si., dan Unggul Sulistio S.U., S.Si. atas kerjasamanya menjalani senang sedih penelitian, saling *support* satu sama lain, dan mengurus segala sesuatu bareng. *See u on top guys!*. Semoga kita bisa jadi orang sukses.
12. Kakak-kakak seperbimbingan yaitu Kak Rusydi Iskandar, S.Si., Mba Valennisa Qunifah, S.Si., Mba Naura Tadzkiiana Nadifa, S.Si., Mba Devi Rahmawati, S.Si., Kak Hendriko Marisep, S.Si., Eni Asro Dzulhijjah, S.Si., Dinara Salsabila, S.Si. dan Luthfia Pritania Putri, S.Si.
13. Teman-teman kimia 2019, terima kasih atas kebersamaanyang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
14. Almamaterku, Universitas Lampung. *Thank you so much!*
15. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.
16. Diri saya sendiri yang bisa kuat melewati susah dan sedihnya perkuliahan dan penelitian serta bisa mendapatkan apa yang selama ini diinginkan.

Atas segala kebaikan yang diberikan, semoga Allah SWT membelasnya dengan pahala yang berlipat ganda. Penulis menyadari skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan namun penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan baru bagi rekan-rekan mahasiswa kimia dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, 8 Juni 2023
Penulis

Fitri Febriani
1917011027

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
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 Melitus	4
2.2. Tanaman Kelor (<i>Moringa oleifera</i>)	5
2.3. Senyawa Tanin	6
2.4. Ekstraksi Senyawa Kulit Batang Kelor	8
2.5. Uji Skrining Fitokimia Tanin	8
2.6. Ekstraksi Cair-cair (Partisi).....	8
2.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	9
2.8. Karakterisasi Senyawa Tanin	9
2.8.1. Spektrofotometer UV-Vis	10
2.8.2. Spektrofotometer FTIR.....	10
2.9. Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Turunan Senyawa Tanin	11
2.9.1. <i>Lipinski Rule of Five</i>	11
2.9.2. <i>Pre-ADME</i>	12
2.9.3. <i>Protoc</i>	13
2.10. <i>Molecular Docking</i>	13
2.11. Mencit	14
2.12. Aloksan	15

2.13. Glibenklamid.....	16
III. METODE PENELITIAN.....	17
3.1. Waktu dan Tempat	17
3.2. Alat dan Bahan.....	17
3.3. Prosedur Penelitian.....	18
3.3.1. Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Kelor.....	18
3.3.2. Uji Skrining Fitokimia Senyawa Tanin	18
3.3.3. Pemisahan Senyawa Tanin.....	19
3.3.3.1. Ekstraksi Cair-cair (Partisi)	19
3.3.3.2. Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA).....	19
3.3.3.3. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP).....	20
3.3.4. Karakterisasi Senyawa Tanin.....	20
3.3.5. Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Turunan Senyawa Tanin.....	21
3.3.5.1. <i>Lipinski Rule of Five</i>	21
3.3.5.2. <i>Pre-ADME</i>	21
3.3.5.3. <i>Protoc</i>	21
3.3.6. Uji <i>Molecular Docking</i> Turunan Senyawa Tanin	21
3.3.6.1. Perangkat Lunak <i>Molecular Docking</i>	21
3.3.6.2. <i>Redocking</i> Ligan Asli.....	22
3.3.6.3. Analisis Hasil <i>Redocking</i> dan Visualisasi 2D	23
3.3.6.4. <i>Docking</i> Menggunakan Ligan Senyawa Uji	23
3.3.6.5. Analisis Hasil <i>Docking</i> dan Visualisasi 2D	23
3.3.7. Uji Antidiabetes dengan Mencit.....	24
3.3.7.1. Rancangan Penelitian	24
3.3.7.2. Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Uji.....	24
3.3.7.3. Desain Perlakuan	25
3.3.7.4. Penginduksian Aloksan	25
3.3.7.5. Pemberian Glibenklamid.....	26
3.3.7.6. Pemberian Dosis Ekstrak.....	26
3.3.7.7. Parameter Uji.....	26
3.3.7.8. Analisis Data.....	27
3.3.8. Diagram Alir	28

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1. Ekstrak Kulit Batang Kelor	30
4.2. Fitokimia Ekstrak Kulit Batang Kelor	31
4.3. Senyawa Tanin dari Ekstrak Kulit Batang Kelor	32
4.4. Karakteristik Filtrat Tanin Kulit Batang Kelor	35
4.4.1. Spektrofotometer UV-Vis	35
4.4.2. Spektrofotometer FTIR	36
4.5. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas	38
4.5.1. <i>Lipinski Rule of Five</i>	38
4.5.2. <i>Pre-ADME</i>	40
4.5.3. <i>Protoc</i>	41
4.6. <i>Molecular Docking</i>	49
4.6.1. Validasi Senyawa Target	46
4.6.2. Preparasi Senyawa Uji	49
4.6.3. <i>Docking</i> Senyawa Uji	50
4.7. Uji Antidiabetes Ekstrak Kulit Batang Kelor secara <i>In Vivo</i> terhadap Mencit	57
4.7.1. Pengukuran Berat Badan	57
4.7.2. Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah	59
4.7.3. Analisis Data	62
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	65
5.1. Simpulan	65
5.2. Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN	74

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Identifikasi gugus fungsi pada infamerah	11
2. Rancangan penelitian	24
3. Hasil spektrum UV-Vis	35
4. Hasil spektrum FTIR	37
5. Hasil <i>Lipinski Rule of Five</i>	39
6. Hasil <i>Pre-ADME</i>	41
7. Hasil <i>protox</i> katekin	42
8. Hasil <i>protox</i> asam galat	42
9. Hasil <i>protox</i> asam elagat	43
10. Hasil <i>protox</i> galokatekin	43
11. Hasil <i>protox</i> afzelekin	44
12. Hasil <i>protox</i> glibenklamid	44
13. Hasil prediksi toksisitas seluruh senyawa uji	45
14. Hasil validasi parameter <i>docking</i>	49
15. Struktur turunan senyawa tanin	50
16. Hasil <i>grid center</i> dan <i>grid center redocking</i>	50
17. Hasil <i>docking</i> senyawa katekin	51
18. Hasil <i>docking</i> senyawa galokatekin	53
19. Hasil <i>docking</i> senyawa afzelekin	54
20. Hasil <i>docking</i> senyawa glibenklamid	55
21. Hasil <i>docking</i> seluruh senyawa uji	56
22. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes dalam %GL	61
32. Hasil uji ANOVA	62
24. Hasil BNT taraf 5% pekan ke-4	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman kelor	5
2. Struktur umum tanin	7
3. Mencit	14
4. Struktur aloksan	15
5. Struktur glibenklamid.....	16
6. Diagram alir karakterisasi senyawa tanin.....	28
7. Diagram alir uji farmakokinetik dan toksisitas.....	28
8. Diagram alir <i>molecular docking</i>	29
9. Ekstrak kental kulit batang kelor	30
10. Hasil uji skrining fitokimia senyawa tanin.....	31
11. Reaksi tanin dengan FeCl ₃	31
12. Hasil ekstraksi cair-cair, (a) pemisahan dua fase, (b) fraksi metanol, dan (c) fraksi n- heksana	32
13. Hasil KLTA senyawa tanin	33
14. Hasil KLTP (a) UV 254 nm dan (b) UV 366 nm	34
15. Filtrat Hasil KLTP	34
16. Spektrum UV-Vis filtrat tanin	35
17. Spektrum FTIR senyawa tanin	37
18. Protein 3KC0	46
19. Hasil preparasi protein 3KC0 (a) protein dan (b) ligan.....	47
20. Hasil validasi <i>redocking</i> (a) himpitan ligan, (b) interaksi asam amino, dan (c) <i>surface</i>	48
21. Visualisasi hasil <i>docking</i> katekin (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	51
22. Visualisasi hasil <i>docking</i> galokatekin (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	52

23. Visualisasi hasil <i>docking</i> afzelekin (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	54
24. Visualisasi hasil <i>docking</i> glibenklamid (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	55
25. Rata-rata berat badan mencit selama perlakuan	58
26. Rata-rata kadar glukosa darah mencit setelah perlakuan	59
27. Proses pembuatan ekstrak kental kulit batang kelor	75
28. Visualisasi hasil <i>docking</i> asam galat (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	76
29. Visualisasi hasil <i>docking</i> asam elagat (a) interaksi ligan dan (b) <i>surface</i>	76
30. Proses uji aktivitas antidiabetes pada mencit	77

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis berupa gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) melebihi batas normal. Organisasi *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2019 mencatat sekitar 483 juta orang berusia 20-79 tahun atau 9,3% dari total penduduk pada usia yang sama di dunia menderita DM. Prevalensi diabetes diperkirakan meningkat seiring penambahan umur penduduk menjadi 111,2 juta orang atau 19,9% pada rentang usia 65-79 tahun. Angka tersebut diprediksi akan terus meningkat hingga 578 juta di tahun 2030 dan 700 juta di tahun 2045 (*International Diabetes Federation*, 2019). Indonesia menempati urutan ke-7 dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak, prevalensi penderita diabetes mencapai 6,2% yang artinya ada lebih dari 10,8 juta penderita diabetes per tahun 2020 (*International Diabetes Federation*, 2021).

Penyakit DM dapat mengakibatkan gangguan kardiovaskular seperti hipertensi, infark jantung, hingga kematian jika tidak segera diberikan penanganan (Widodo, 2014). Pengobatan diabetes yang tersedia saat ini meliputi suntik insulin dan berbagai agen antidiabetes oral seperti sulfonilurea, biguanida, tiazolidinedion, dan glinida. Obat-obat tersebut diketahui memiliki beberapa efek samping bagi tubuh, oleh karena itu dibutuhkan pertimbangan untuk menggunakan agen hiperglikemik yang aman (Berawi dkk., 2019). Penggunaan bahan alamiah sebagai tanaman obat cenderung meningkat saat ini, karena relatif lebih murah, ketersediaan melimpah, dan relatif aman. Sekitar 800 tanaman di seluruh dunia diketahui sejauh ini memiliki potensi sebagai agen antidiabetes, salah satunya adalah tanaman kelor (*Kitukale and Chandewar*, 2014).

Tanaman kelor (*Moringa oleifera*) diketahui dapat menjaga kestabilan kadar glukosa darah dan tidak memiliki efek samping sehingga aman digunakan bagi penderita DM. Salah satu bagian tanaman kelor yang diketahui dapat dimanfaatkan sebagai agen antidiabetes adalah bagian kulit batang (Affandi, 2019). Hasil uji fitokimia Ikalinus (2013) terhadap kulit batang kelor menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif seperti steroid, alkaloid, tanin, fenolat, dan flavonoid. Mekanisme tanin sebagai antidiabetik yaitu dengan cara menghambat penyerapan glukosa di intestinal dan menghambat adipogenesis sehingga berpotensi pada pengobatan diabetes. Selain itu dapat memperbaiki stress oksidatif patologik pada situasi diabetik, tanin juga bertindak sebagai anti radikal bebas dan mengaktifkan enzim antioksidan yang meregenerasi sel β pankreas (Kumari dan Jain, 2012). Untuk memastikan adanya senyawa tanin pada kulit batang kelor yang digunakan, maka perlu dilakukan karakterisasi dan melakukan prediksi sifat obat dari turunan senyawa tanin secara *in silico*.

Metode *in silico* adalah suatu metode yang menggunakan program khusus untuk memperkirakan kondisi atau situasi nyata ke simulasi komputer dengan tujuan meningkatkan efisiensi dan kalkulasi dalam mendesain obat. Uji *in silico* melibatkan uji farmakokinetik, uji toksisitas, dan *molecular docking*. Hasil penilaian tersebut kemudian digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang akan dijadikan sebagai kandidat obat, yang selanjutnya dapat dievaluasi secara *in vivo* (Shofi, 2021). Uji antidiabetes secara *in vivo* dilakukan dengan pemberian ekstrak kulit batang kelor terhadap hewan uji mencit (*Mus musculus*).

Berdasarkan penjelasan diatas, perlu dilakukannya pengujian secara *in silico* untuk memprediksi turunan senyawa tanin pada ekstrak kulit batang kelor yang berpotensi sebagai kandidat obat antidiabetes. Penelitian ini juga dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kelor dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit, selain itu dengan adanya penelitian ini dapat digunakan sebagai langkah awal dalam penemuan kandidat obat baru khususnya obat antidiabetes.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan ekstrak kental kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dan karakteristik senyawa tanin.
2. Mengetahui jenis turunan senyawa tanin terbaik yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat antidiabetes berdasarkan uji farmakokinetik dan toksisitas.
3. Melakukan uji *molecular docking* turunan senyawa tanin dari kulit batang kelor terhadap protein 3KC0.
4. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus*).
5. Mengetahui dosis ekstrak kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus*).

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang pemanfaatan kulit batang kelor (*Moringa oleifera*) sebagai tanaman herbal yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus.
3. Mengetahui jenis tanin terbaik pada kulit batang kelor yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat antidiabetes.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) akibat adanya kerusakan sel β pankreas yang rusak sehingga mengganggu aktifitas insulin (*International Diabetes Federation, 2023*). Menurut Misnadiarly (2006), nilai normal glukosa darah adalah <110 mg/dL, jika nilai glukosa darah >200 mg/dL maka dapat dikatakan mengalami diabetes. IDF mencatat sekitar 483 juta orang berusia 20-79 tahun atau 9,3% dari total penduduk pada usia yang sama di dunia menderita DM. Prevalensi diabetes diperkirakan meningkat seiring penambahan umur penduduk menjadi 111,2 juta orang atau 19,9% pada rentang usia 65-79 tahun. Angka tersebut diprediksi akan terus meningkat hingga 578 juta di tahun 2030 dan 700 juta di tahun 2045. Indonesia berstatus waspada karena menempati urutan ketujuh dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak. Prevalensi penderita diabetes mencapai lebih dari 10,8 juta penderita diabetes pada tahun 2020 (*International Diabetes Federation, 2021*).

DM terbagi menjadi DM tipe 1 dan tipe 2. DM tipe 1 disebabkan oleh kerusakan sel β pankreas sehingga produksi insulin tidak ada sama sekali. Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas untuk mencerna glukosa dalam darah. DM tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin yakni kondisi dimana sel-sel di otot, lemak, usus, dan hati tidak merespons insulin dengan baik dan tidak dapat menggunakan glukosa darah sebagai energi, sehingga menyebabkan kadar glukosa darah menjadi naik (*International Diabetes Federation, 2021*). Upaya untuk mencegah dan mengobati komplikasi pada penderita DM tipe 2 adalah dengan modifikasi gaya hidup dan pemberian terapi antidiabetik untuk mengontrol glukosa darah (Pratama dan Ratnasari, 2021).

2.2. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Moringa oleifera tumbuh di tanah berpasir dengan pH sedikit asam dan memiliki ketinggian mulai dari 5-12 m dengan batang lurus setebal 10-30 cm. Daunnya berbentuk majemuk, bulat telur, berukuran kecil, dan berwarna hijau muda. Tanaman ini memiliki bunga berwarna putih kekuning-kuningan dan memiliki pelepah bunga berwarna hijau. Buah kelor berbentuk segitiga memanjang berkisar antara 20-60 cm, berwarna hijau muda hingga kecoklatan. Bijinya berbentuk bulat dan berwarna coklat kehitaman. Batangnya berkayu, tegak, berwarna putih kotor, berkulit tipis, permukaan kasar, cenderung tumbuh lurus dan memanjang (Affandi, 2019). Tanaman kelor dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Tanaman kelor (Affandi, 2019)

Klasifikasi tanaman kelor berdasarkan *Integrated Taxonomic Information System* (2017) adalah sebagai berikut:

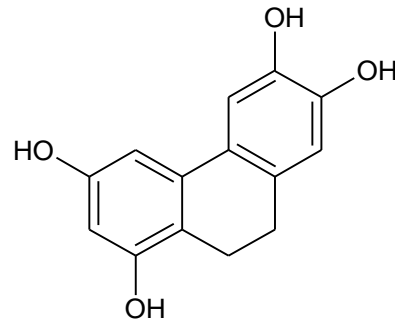
Kingdom : Plantae
Sub kerajaan : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Dilleniidae
Bangsa : Capparales
Suku : Moringaceae
Genus : *Moringa*
Spesies : *Moringa oleifera*

Ekstrak tanaman kelor (*Moringa oleifera*) mengandung berbagai *phytochemical* seperti alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, glikosida dan lain-lain dapat digunakan sebagai antimikroba, antikaner, antidiabetes dan manfaat lainnya (Berawi dkk., 2019). *Moringa oleifera* dikonsumsi tidak hanya karena nilai gizinya tetapi juga manfaat medisnya. Berbagai macam potensi nutrisi dan obat telah dikaitkan dengan akarnya, kulit batang, daun, bunga, buah-buahan, dan biji-bijian. *Moringa oleifera* telah digunakan untuk pengobatan dan manajemen penyakit yang berbeda dalam pengobatan tradisional untuk antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antibakteri, antispasmodik, antijamur, antiinflamasi, anti-TB, analgesik, antidiabetes, diuretik, menurunkan kolesterol, dan sifat hepatoprotektif (Rajanandh *et al.*, 2012).

Salah satu bagian tanaman kelor yang diduga memiliki efek hipoglikemia adalah kulit batang kelor. Hasil penelitian Ikalinus (2013) menunjukkan kulit batang kelor dapat mengobati penyakit diabetes sebab mengandung senyawa-senyawa aktif seperti steroid, alkaloid, tannin, fenolat, dan flavonoid. Menurut Berawi dkk. (2019), ekstrak tanaman herbal yang mengandung berbagai *phytochemical* seperti alkaloid, tanin, flavonoid, steroid, glikosida dan lain-lain dapat digunakan sebagai antimikroba, antikanker, antidiabetes dan manfaat lainnya.

2.3. Senyawa Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin merupakan senyawa yang mempunyai berat molekul 500-3000 dan mengandung sejumlah besar gugus hidroksi fenolik yang memungkinkan membentuk ikatan silang yang efektif dengan protein dan molekul-molekul lain seperti polisakarida, asam amino, asam lemak, dan asam nukleat (Hagerman, 2021). Struktur umum tanin dapat dilihat pada **Gambar 2** berikut.



Gambar 2. Struktur umum tanin (Robinson, 1995)

Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer asam galat dan asam elagat yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan C-C berupa katekin dan galokatekin (Patra dan Saxena, 2010). Tanin yang berasal dari hijauan umumnya membentuk tanin terkondensasi dan mempunyai ikatan kompleks dengan protein yang lebih kuat dibandingkan dengan tanin terhidrolisis (Fahey dan Berger, 1988).

Tanin dapat berinteraksi dengan protein dan ada tiga bentuk ikatan yaitu: (1) ikatan hidrogen, (2) ikatan ion, (3) ikatan kovalen. Tanin terhidrolisis dan terkondensasi berikatan dengan protein dengan membentuk ikatan hidrogen antara kelompok fenol dari tanin dan kelompok karboksil (aromatik dan alifatik) dari protein. Ikatan kuat antara tanin dan protein akan berpengaruh terhadap pencernaan protein (Mueller, 2006).

Tanin memiliki efek sebagai antidiabetes, karena tanin mampu mengganti sel β pankreas yang rusak dan melawan resistensi insulin (Novalinda dkk., 2021). Menurut Kumari dan Jain (2012), mekanisme tanin sebagai antidiabetik yaitu dengan cara menghambat penyerapan glukosa di intestinal dan menghambat adipogenesis sehingga berpotensi pada pengobatan diabetes. Selain itu dapat memperbaiki stress oksidatif patologik pada situasi diabetik, tannin juga bertindak sebagai anti radikal bebas dan mengaktifkan enzim antioksidan yang meregenerasi sel β pankreas.

2.4. Ekstraksi Senyawa Kulit Batang Kelor

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pemilihan pelarut dan metode ekstraksi menjadi hal penting yang dapat mempengaruhi proses skrining fitokimia. Pelarut yang tidak sesuai memungkinkan senyawa aktif yang diinginkan tidak dapat tertarik secara baik dan sempurna. Terdapat berbagai cara untuk melakukan ekstraksi, salah satunya yaitu dengan metode maserasi (Tetti, 2014). Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut yang dipilih pada suhu kamar, dengan pergantian pelarut secara berkala sehingga jaringan menjadi lunak dan senyawa yang ada di dalam jaringan akan larut ke dalam cairan. Proses perendaman bahan dalam pelarut membentuk pemecahan dinding sel dan membran sel yang diakibatkan oleh perbedaan tekanan antara luar sel dengan bagian dalam sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan pecah dan terlarut. Proses selanjutnya dapat dilakukan pemekatan ekstrak dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator*, sehingga ekstrak yang diperoleh mengandung lebih banyak senyawa metabolit sekunder (Novitasari dan Putri, 2016).

2.5. Uji Skrining Fitokimia Tanin

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan yang dapat memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa target (tanin) dalam bahan alam yang akan diteliti. Metode skrining fitokimia secara kualitatif dapat dilakukan melalui reaksi perubahan warna menggunakan pereaksi FeCl_3 (Vifta dan Yustisia, 2018).

2.6. Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

Partisi merupakan pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen kimia akan terpisah ke dalam kedua fase sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi konsentrasi yang tetap (Gu, 2000). 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, 2008).

2.7. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang berguna untuk memisahkan senyawa organik. Teknik pemisahan dengan KLT memiliki banyak kelebihan, karena KLT merupakan teknik yang serbaguna, yang dapat diaplikasikan untuk hampir semua senyawa. KLT dilakukan dengan menggunakan fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah silika gel yang dapat berfluoresensi dalam sinar UV. Fase gerak berperan dalam pemisahan senyawa dan timbulnya noda bercak pada plat KLT di bawah lampu UV 254 nm dan UV 366 nm (Rosamah, 2019).

Jarak yang ditempuh noda pada permukaan plat dan untuk mengetahui nilai R_f nya maka dapat diukur menggunakan persamaan berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Jika hasil identifikasi suatu komponen dengan nilai R_f yang sama dengan standar, maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki karakteristik yang sama, namun jika nilai R_f berbeda, maka senyawa tersebut dapat dikatakan senyawa yang berbeda. Nilai R_f yang baik dinyatakan pada rentang nilai 0,2 - 0,8 (Bidleymayer, 1987).

2.8. Karakterisasi Senyawa Tanin

Karakterisasi senyawa dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa tanin pada ekstrak kulit batang kelor berdasarkan hasil yang terbaca dari analisis yang digunakan. Metode analisis yang dipakai pada penelitian ini yaitu dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR.

2.8.1. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode instrumen yang paling sering diaplikasikan dalam analisis kimia yang bertujuan untuk mendeteksi senyawa (padat atau cair) yang berdasarkan pada absorbansi foton pada daerah UV-Vis dengan panjang gelombang 200-800 nm (Sastrohamidjojo, 2018).

Prinsip kerja spektrofotometri UV-Vis adalah ketika molekul menyerap radiasi UV atau Vis dengan panjang gelombang tertentu, maka elektron akan mengalami transisi atau tereksitasi dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi dan sifatnya karakteristik pada tiap senyawa. Penyerapan cahaya dari sumber radiasi yang dipancarkan pada atom analit besarnya tepat sama dengan perbedaan tingkat energi transisi elektronnya (Pavia *et al.*, 2009). Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk promosi elektron akan menyerap sinar pada panjang gelombang yang lebih pendek, sedangkan molekul yang memerlukan energi yang lebih sedikit akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih panjang. Senyawa yang menyerap cahaya dalam daerah tampak memiliki elektron yang lebih mudah ditransisikan (Herliani, 2008).

Penetapan kadar tanin dengan metode spektrofotometri didasarkan atas reaksi pembentukan warna yaitu reduksi ion ferri menjadi ion ferro oleh senyawa tanin dan polifenolik lainnya, diikuti oleh pembentukan kompleks ferrisianida dan ion ferro. Warna yang terbentuk diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 250-720 nm (Gandjar dan Abdul, 2018).

2.8.2. Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometry Fourier Transform Infra Red (FTIR) atau spektrofotometri inframerah merupakan teknik analisis yang berdasarkan pada pengukuran vibrasi dari molekul yang tereksitasi oleh radiasi inframerah pada rentang panjang gelombang tertentu. Jika radiasi inframerah dilewatkan melalui suatu sampel, maka molekul-molekulnya dapat menyerap energi dan terjadi transisi diantara tingkat vibrasi dasar dan tingkat vibrasi tereksitasi (Hendayana *et al.*, 1994).

Umumnya daerah radiasi IR dibagi menjadi tiga daerah, yaitu IR dekat (14000-4000 cm^{-1}) yang peka terhadap vibrasi *overtone*, IR sedang (4000-400 cm^{-1}) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam molekul tersebut, dan IR jauh (400-10 cm^{-1}) untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik tetapi butuh teknik khusus. Biasanya analisis senyawa dilakukan pada daerah IR sedang (Griffith, 1975). Berikut adalah identifikasi gugus fungsi pada inframerah (Skoog *et al.*, 1998) ditunjukkan pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Identifikasi gugus fungsi pada inframerah

	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})
O-H	Alifatik dan aromatik	3600-3000
NH₂	Amina sekunder dan tersier	3600-3100
C-H	Aromatik	3150-3000
C-H	Alifatik	3000-2850
-C=N	Nitril	2400-2200
-C=C-	Alkuna	2260-2100
COOR	Ester	1750-1700
COOH	Asam karboksilat	1740-1670
C=O	Aldehid dan keton	1740-1660
CONH₂	Amida	1720-1640
C=C-	Alkana	1670-1610
C-O-C	Eter	1310-1020
C-N	Amina	1280-1180
R-O-R	Alifatik	1160-1060

2.9. Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Turunan Senyawa Tanin

2.9.1. *Lipinski Rule of Five*

Lipinski Rule of Five adalah aturan praktis untuk mengidentifikasi senyawa kimia yang memiliki aktivitas farmakologi atau biologi yang berpotensi sebagai obat aktif dan diberikan secara oral pada manusia. Aturan ini menjelaskan sifat

molekul penting bagi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Lipinski, 2000). Ketentuan obat secara oral harus memenuhi '*Lipinski's Rule of Five*' yaitu diantaranya:

- Berat molekul kurang dari 500,
- Memiliki tidak lebih dari 5 gugus hidrogen donor,
- Memiliki tidak lebih dari 10 gugus hidrogen akseptor,
- Nilai logP tidak lebih dari 5,
- *Molar refractivity* sebaiknya diantara 40-130.

2.9.2. *Pre-ADME*

Prediction of Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion (Pre-ADME) merupakan salah satu *software online* yang dapat digunakan untuk memprediksikan berbagai macam sifat dari struktur kimia yang memiliki suatu senyawa. *Software* ini mudah digunakan untuk mendapatkan informasi terkait kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME) maupun tentang sifat toksik suatu senyawa kimia (Kalita, 2019).

Uji yang dapat di analisis menggunakan *Pre-ADME* adalah uji HIA (*Human Intestinal Absorption*) dan PPB (*Plasma Protein Binding*). HIA merupakan salah satu uji yang digunakan untuk memprediksi potensi terabsorpsi suatu senyawa obat di dinding usus. 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 (Yang, 2019). Berikut adalah klasifikasi nilai HIA dan PPB (Nursamsiar *et al.*, 2016).

a. HIA (*Human Intestinal Absorption*) (%)

- HIA (%) 0-20 : tidak terabsorpsi dengan baik (kategori rendah)
- HIA (%) 20-70 : cukup terabsorpsi (kategori sedang)
- HIA (%) 70-100 : terabsorpsi dengan baik (kategori baik)

b. PPB (*Plasma Protein Binding*) (%)

- PPB (%) > 90 : terikat kuat pada protein plasma
- PPB (%) < 90 : terikat lemah pada protein plasma

2.9.3. *Prottox*

Prottox Web Server adalah *software* yang digunakan untuk memberikan informasi mengenai prediksi sifat toksisitas senyawa uji yang digunakan sebagai kandidat obat. Parameter pada uji ini yaitu prediksi kelas toksisitas dan prediksi yang meliputi *hepatotoxicity*, *carcinogenicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity*, dan *cytotoxicity*. Potensi toksisitas jangka pendek suatu senyawa dinyatakan dengan LD_{50} dan ditetapkan sebagai tanda statistik pemberian suatu senyawa sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% pada hewan uji (Priyanto, 2007). Adapun kelas toksisitas suatu senyawa adalah sebagai berikut (El-Din *et al.*, 2016).

- a) Kelas 1 : fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)
- b) Kelas 2 : fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)
- c) Kelas 3 : beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)
- d) Kelas 4 : berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)
- e) Kelas 5 : mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)
- f) Kelas 6 : tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

2.10. *Molecular Docking*

Molecular Docking adalah ilmu yang mempelajari tentang bagaimana suatu struktur dari suatu molekul dapat berikatan satu sama lain. *Molecular docking* bertujuan untuk menyesuaikan dan menyelaraskan suatu molekul kecil (ligan) ke dalam sel target yaitu molekul besar (protein). Hasil *docking* berupa nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) atau nilai energi ikatan. Prinsip *molecular docking* yaitu dengan menambatkan ligan pada bagian sisi aktif reseptor suatu protein sehingga muncul interaksi yang dapat dianalisis (Kroemer, 2003).

Molecular Docking membantu dalam mempelajari interaksi obat atau ligan dan reseptor dengan mengidentifikasi situs aktif yang cocok pada reseptor atau protein, mendapatkan geometri terbaik dari kompleks ligan dan reseptor, dan mengetahui energi ikatan dari ligan yang berbeda untuk merancang ligan yang lebih efektif (Mukesh dan Rakesh, 2011).

2.11. Mencit

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu hewan yang sering dipakai di laboratorium untuk suatu penelitian dengan besarnya penggunaan mencit mencapai 40%. Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan mamalia lain (Nugroho, 2018). Mencit mempunyai berat badan 18-20 gram pada umur 4 minggu dan 30-40 gram pada umur 6 minggu atau lebih (Mutiarahmi dkk., 2021).

Adapun klasifikasi mencit menurut Nugroho (2018) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Pilum	: Chordata
SubPilum	: Vertebrata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Spesies	: <i>Mus musculus L.</i>



Gambar 3. Mencit

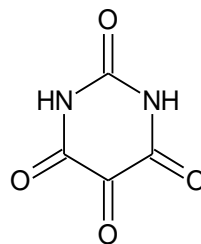
Sumber : Rejeki dkk., 2018

Mencit (**Gambar 3**) merupakan hewan mamalia yang mempunyai ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia. Mencit banyak digunakan sebagai hewan uji karena hewan ini memiliki sistem reproduksi, pernapasan, dan peredaran darah yang menyerupai manusia (Nugroho, 2018).

Mencit jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian karena kondisi hormonal pada jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina, karena mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa-masa tertentu seperti pada masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Tingkat stress mencit betina juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu pada saat pengujian (Ariyanti dkk., 2007).

2.12. Aloksan

Aloksan adalah senyawa turunan urea yang sering dituliskan dengan 5,5-dihidroksil pirimidin-2,4,6-trion dengan rumus molekul $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik (Walde *et al.*, 2002).



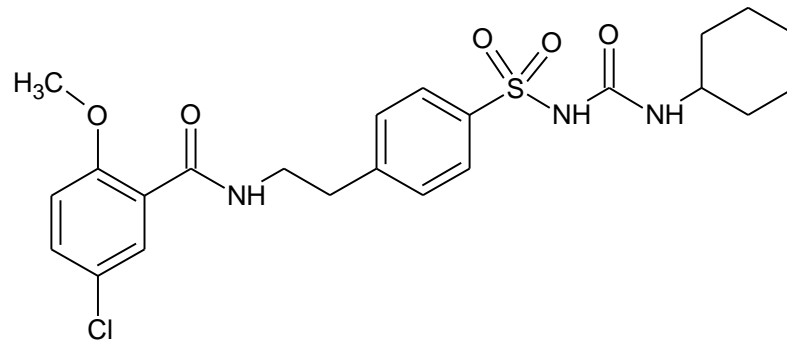
Gambar 4. Struktur aloksan

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan 120 - 150 mg/kg BB aloksan. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada hewan percobaan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel β pankreas (Szkudelski, 2001). Sel β pankreas yang rusak tidak dapat menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (hiperglikemia).

Kondisi hiperglikemia menurut Roberston *et al.* (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen relatif, spesies oksigen relatif yang berlebih dapat menyebabkan stress oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel β pankreas.

2.13. Glibenklamid

Glibenklamid adalah agen antihiperglikemik golongan sulfonilurea generasi II. Glibenklamid berbentuk hablur, tidak berbau, dan berwarna putih atau hampir putih, larut pada pelarut organik seperti asetonitril dan metanol serta praktis tidak larut dalam air (Depkes RI, 1995). Struktur Glibenklamid dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Struktur glibenklamid

Mekanisme kerja glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu merangsang sekresi insulin dari granula-granula sel-sel β pankreas merangsang melalui interaksinya dengan ATP sensitif K *Channel* pada membran dan keadaan ini akan membuka kanal ion Ca^{2+} dengan terbukanya kanal ion Ca^{2+} maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel beta sehingga merangsang sel insulin (Widyastuti, dkk., 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2022 – Februari 2023. Pelaksanaan penelitian dilakukan di empat tempat, yaitu:

1. Pembuatan ekstrak, uji skrining fitokimia, uji KLTA, dan KLTP dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
2. Karakterisasi menggunakan spektrofotometer *Ultraviolet-Visible* (UV-Vis) dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
3. Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung.
4. Pengujian aktivitas antidiabetes pada mencit dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.
5. Simulasi *docking* dilakukan di Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan, penggiling, wadah maserasi, corong pisah, 1 set alat destilasi, rangkaian *vacum rotary evaporator*, labu bulat, tabung reaksi, pipet tetes, 1 set alat KLT dan KLTP, lampu UV, sentrifus, tabung sentrifus, spektrofotometer UV-Vis dan FTIR, sudip, gelas beaker, kandang mencit beserta wadah minum dan makan, spuit 1 cc, glukometer, jarum sonde, strip glukosa, *alcohol swabs*, dan alat suntik.

Alat-alat yang digunakan untuk simulasi *docking* adalah perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan yaitu laptop, sedangkan

perangkat lunak yang digunakan berupa aplikasi software yaitu *Discovery Studio Visualization 2021*, *Autodock Tools*, dan *Avogadro*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang kelor yang didapatkan dari pekarangan rumah di Kelurahan Gunung Terang, Kecamatan Langkapura, Kota Bandar Lampung. Bahan-bahan lainnya yaitu metanol 96%, etil asetat, n-heksana, plat silika alumunium, plat silika kaca, NaCl 0.9%, aloksan, FeCl₃ 10%, air, glibenklamid, akuades, NaCMC 1%, mencit, dan pangan mencit.

Bahan-bahan yang digunakan pada saat simulasi docking adalah protein 3KC0 yang didapatkan dari website RCSB PDB, ligan senyawa uji, serta situs farmakokinetik seperti *Lipinski Rule of Five*, *Pre-ADME*, dan *Prottox*.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan Ekstrak Kulit Batang Kelor

Pembuatan ekstrak kulit batang kelor diawali dengan memisahkan kulit batang dari batang kelor dengan cara dikupas. Kulit batang kelor kemudian dibersihkan dari pengotornya, dipotong kecil-kecil, dikeringkan, dan dihaluskan sampai didapatkan serbuk simplisia. Serbuk simplisia sebanyak 1 kg selanjutnya dimaserasi menggunakan pelarut metanol dengan perbandingan simplisia dan metanol adalah 1:3. Maserasi dilakukan selama 24 jam tanpa terkena cahaya, kemudian disaring sehingga didapat maseratnya, dan dilakukan sebanyak 3x24 jam. Maserat yang telah didapatkan kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental, lalu disimpan di dalam kulkas.

3.3.2. Uji Skrining Fitokimia Senyawa Tanin

Uji skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin dalam ekstrak kulit batang kelor yang akan digunakan dalam penelitian. Uji ini dilakukan dengan cara mengencerkan ekstrak kental dengan pelarutnya (metanol), kemudian dipipet 1 mL sampel ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 3 tetes larutan FeCl₃ 10%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

3.3.3. Pemisahan Senyawa Tanin

3.3.3.1. Ekstraksi Cair-cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair dilakukan menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yaitu n-heksana dan metanol. Ekstraksi cair-cair dilakukan dengan melarutkan 30 gram ekstrak kental dengan metanol 50 mL ke dalam corong pisah, lalu ditambahkan juga 50 mL n-heksana. Campuran tersebut selanjutnya dikocok hingga tercampur, kemudian didiamkan selama 10-15 menit hingga terdapat dua lapisan (metanol pada lapisan bawah dan n-heksana pada lapisan atas). Lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan menjadi fraksi n-heksana dan fraksi metanol.

3.3.3.2. Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA)

Pemisahan dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik (KLTA) diawali dengan memotong plat silika 60 F₂₅₄ untuk 3 noda yaitu 4x2 cm. Plat KLT diberi garis 1 cm (dari batas bawah) dan 0,5 cm (dari batas atas). Standar tanin (asam galat) yang telah dibuat ditotolkan pada plat KLT, fraksi metanol dan fraksi n-heksana dari ekstrak sampel juga ditotolkan pada plat yang sama. Penotolan dilakukan dengan pipa kapiler secara tegak lurus, selanjutnya lempeng yang telah ditotolkan dimasukkan dalam *chamber* berisi komponen eluen yang telah dijenuhkan sebelumnya. Komponen eluen atau fase gerak yang digunakan adalah metanol: n-heksana: etil asetat (2:2:6) sebanyak 2 mL. Posisi lempeng berdiri dengan kemiringan 50° dari dinding *chamber*. *Chamber* ditutup dan lempeng KLT dibiarkan terelusi hingga batas atas lempeng, setelah terelusi selesai lempeng dikeluarkan dan dibiarkan hingga kering dan noda yang didapatkan ditandai dan diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 366 nm dan 254 nm.

Noda yang tidak nampak disemprot dengan serum sulfat lalu diangin-anginkan hingga kering, selanjutnya dipanaskan dalam oven selama 3 menit. 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 R_f (Meyers *and* Meyers, 2008).

Standar baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah asam galat. Asam galat adalah standar baku yang biasanya digunakan untuk senyawa tanin. Penggunaan standar baku asam galat dalam KLT ini bertujuan untuk mempermudah dalam mengidentifikasi keberadaan senyawa tanin dalam fraksi metanol ataupun fraksi n-heksana dengan membandingkan nilai Rf nya.

3.3.3.3. Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)

Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP) adalah pemisahan lebih lanjut dari KLTA, dimana prosedur yang dilakukan hampir sama, hanya saja jenis plat, jumlah eluen dan chamber yang digunakan berbeda. KLTP dilakukan menggunakan plat silika kaca 60 dengan ukuran 10 cm x 20 cm. Fraksi yang diketahui mengandung tanin dari hasil KLT ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis atas. Plat silika yang telah ditotolkan sampel lalu dielusi menggunakan eluen etil asetat: n-heksan: metanol (6:2:2) sebanyak 10 mL, elusi dilakukan sampai pada garis batas. Noda yang terbentuk diukur nilai Rfnya, selanjutnya diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang terbentuk diberi tanda kemudian dikerok. Hasil yang didapatkan selanjutnya dilarutkan dalam metanol sebanyak 13 mL dan disentrifus.

3.3.4. Karakterisasi Senyawa Tanin

Isolat yang menunjukkan positif mengandung tanin yang diperoleh dari hasil KLTP dilarutkan dengan metanol dan disentrifugasi, selanjutnya dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Masing- masing isolat dimasukkan dalam kuvet dan diamati spektrum yang dihasilkan pada panjang gelombang 200-800 nm. KBr ditambahkan dengan isolat yang diduga senyawa tanin lalu diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR dengan panjang gelombang 4000-400 cm^{-1} , spektrum yang terbentuk diamati.

3.3.5. Uji Farmakokinetik dan Toksisitas Turunan Senyawa Tanin

3.3.5.1. *Lipinski Rule of Five*

Langkah awal yang dilakukan adalah dengan membuka website <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>, kemudian input senyawa yang akan di uji dalam bentuk .pdb, lalu di *submit*. Hasil yang akan didapatkan berupa berat molekul, donor ikatan H, akseptor ikatan H, Log P, dan *Molar Refractivity*.

3.3.5.2. *Pre-ADME*

Pertama-tama membuka website <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>, kemudian pilih *ADME prediction*, lalu membuat struktur senyawa yang akan diuji dan klik *submit*, sehingga didapatkan hasil berupa nilai HIA (*Human Intestinal Absorbtion*) dan PPB (*Plasma Protein Binding*).

3.3.5.3. *Protox*

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan *protox*, yakni dengan membuka website https://tox-new.charite.de/protox_II/, kemudian dilanjutkan dengan pemilihan senyawa yang akan diuji dan menentukan lima model prediksi toksisitas yang diperlukan (*hepatotoxicity, carcinogenicity, immunotoxicity, mutagenicity, cytotoxicity*). Hasil *protox* akan menunjukkan nilai LD₅₀, kelas toksisitas, dan lima model toksisitas.

3.3.6. Uji *Molecular Docking* Turunan Senyawa Tanin

3.3.6.1. Perangkat Lunak *Molecular Docking*

1. *Autodock Tools*

Autodock Tools adalah perangkat lunak yang menjalankan program *docking*. Perangkat lunak ini memiliki kelebihan yaitu efektif, cepat dan akurat dalam memprediksi konformasi dan energi ikatan antara ligan dengan reseptor. *Autodock Tools* terbentuk dari dua program di antaranya yaitu *autodock* dan *autodock grid*. Program *autodock* digunakan untuk melakukan *docking* ligan dan reseptor dengan

pengaturan ukuran *grid* yang sudah terdiskripsi. Pendiskripsian *autogrid* dapat dilakukan sebelum *docking*. Untuk pencarian konformasi, *Autodock Tools* membutuhkan ruang dalam sistem koordinat x, y, dan z dimana posisi ligan dianggap akan terikat baik dengan reseptor (Morris *et al.*, 2010).

2. *Discovery Studio Visualizer* (DSV)

Discovery Studio Visualizer (DSV) merupakan suatu perangkat lunak yang dapat digunakan untuk visualisasi struktur molekul agar dapat dilihat gambar interaktif dari struktur molekul tersebut. DSV menampilkan gambar hasil visualisasi struktur suatu senyawa dengan kualitas tinggi dan dapat digunakan pada sistem perangkat *Windows* maupun *Linux* (*Accelrys Enterprise Platform*, 2005).

3.3.6.2. *Redocking Ligan Asli*

Protein 3KC0 yang akan digunakan diambil dari website RCSB PDB. Protein dan ligan asli pada 3KC0 dipisahkan menggunakan *Discovery Studio Visualization*, lalu masing-masing disimpan dengan *file* reseptor.pdb dan ligan.pdb. Protein dan ligan tersebut selanjutnya dipreparasi menggunakan *AutodockTools* 1.5.7 dan disimpan dengan *file* reseptor.pdbqt dan ligan.pdbqt. Hasil preparasi kemudian dilanjutkan dengan penentuan *grid box* dan disimpan dengan *file grid.gpf.*, hal ini dilakukan untuk membuat ligan dan mencari konformasi terbaiknya pada sisi aktif protein. *Grid box* yang telah dibuat selanjutnya dilakukan *rigid file* nama pada protein dan ligan. Langkah selanjutnya melakukan *Genetic Algorithm* untuk membuat banyaknya konformasi (*running*) yang akan dilakukan ligan asli terhadap protein. File jenis Lamarckian disimpan dengan nama *dock.dpf*.

Validasi *docking* dilakukan dengan menjalankan *Run Autogrid* dan *Run Autodock*. *Run Autogrid* membutuhkan *autogrid4.exe* dan *file grid.gpf* untuk menjalankannya, sedangkan *Run Autodock* membutuhkan *autodock4.exe* dan *file dock.dpf*. Klik *Launch* untuk melakukan *Running*. Hasil *file running* akan tersimpan oleh sistem dalam bentuk (.dlg).

3.3.6.3. Analisis Hasil *Redocking* dan Visualisasi 2D

Hasil *file running* dalam bentuk *.dlg* dibuka untuk melihat informasi terkait energi ikatan dan nilai RMSD dari berbagai konformasi. RMSD yang paling rendahlah yang dipilih, karena semakin kecil nilai RMSD ligan hasil *redocking* maka semakin bagus dan semakin mirip dengan ligan asli, kemudian *file* disimpan dalam bentuk (*.pdb*). *Discovery Studio Visualization* dibuka untuk menampilkan interaksi ikatan yang terjadi, yaitu dengan membuka file konformasi yang telah dipilih, lalu klik ligan *interaction* dan *show 2D diagram*. Sementara untuk melihat himpitan yang terjadi antara ligan *redocking* dan ligan asli adalah dengan membuka konformasi hasil *redocking*, lalu *drag* ligan asli pada layar kerja, dan protein dimatikan. File yang didapatkan disimpan dalam bentuk gambar (*.png*).

3.3.6.4. *Docking* Menggunakan Ligan Senyawa Uji

Langkah dalam melakukan *docking* membutuhkan protein 3KC0 dan ligan senyawa uji. Ligan senyawa uji yang digunakan adalah turunan senyawa tanin yaitu katekin, galokatekin, afzelekin, dan senyawa pembanding glibenklamid. Senyawa uji dibuat melalui Avogadro dan disimpan dalam bentuk (*.pdb*). Ligan senyawa uji selanjutnya dilakukan preparasi menggunakan *Autodock Tools* dengan cara yang sama seperti preparasi ligan asli untuk mendapatkan *file* (*.pdbqt*).

File (*.pdbqt*) dari masing-masing ligan senyawa uji selanjutnya dilakukan penentuan *grid box*. *Grid box* diubah dengan angka yang sesuai pada *grid box redocking* (*grid.gpf*), kemudian disimpan dengan nama (*griduji.gpf*). Penentuan banyaknya konformasi (*running*) juga disimpan dengan nama (*dockuji.dpf*). Langkah selanjutnya adalah menjalankan *running Autogrid* dan *Autodock*, dimana *file running* akan disimpan oleh sistem dalam bentuk (*.dlg*).

3.3.6.5. Analisis Hasil *Docking* dan Visualisasi 2D

Hasil *running* selanjutnya dapat dibaca dalam *file* (*.dlg*) melalui menu *analyse*. Konformasi terbaik dipilih dan disimpan dalam bentuk (*.pdb*), kemudian

dibuka menggunakan *Discovery Studio Visualization*, lalu klik ligan *interaction* dan *show 2D diagram*, maka akan muncul interaksi ikatan yang terjadi. Konformasi hasil *docking* dibuka kembali dalam lembar kerja baru, lalu *drag* ligan asli ke layar kerja. Hasil *file* disimpan dalam bentuk gambar (.png).

3.3.7. Uji Antidiabetes terhadap Mencit

3.3.7.1. Rancangan Penelitian

Rancangan Penelitian pada uji antidiabetes dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rancangan penelitian

Kelompok Perlakuan	Ulangan			Total Ulangan
	1	2	3	
K(+)	K(+U1)	K(+U2)	K(+U3)	3
K(-)	K(-U1)	K(-U2)	K(-U3)	3
K(n)	K(n)U1	K(n)U2	K(n)U3	3
D1	D1U1	D1U2	D1U3	3
D2	D2U1	D2U2	D2U3	3
D3	D3U1	D3U2	D3U3	3
Total	6	6	6	18

Keterangan :

K(+) : Kontrol positif

K(-) : Kontrol negatif

K(n) : Kontrol normal

D1 : Dosis 1 (50 mg/kgBB)

D2 : Dosis 2 (100 mg/kgBB)

D3 : Dosis 3 (200 mg/kgBB)

3.3.7.2. Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam uji aktivitas antidiabetes adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan sebanyak 18 ekor. Mencit yang digunakan didapatkan dari Palembang. Mencit yang akan diuji dibagi terlebih dahulu menjadi 6 kelompok (masing-masing 3 ekor). Mula-mula mencit diaklimatisasi selama 1 pekan agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan sebelum dilakukan perlakuan. Mencit diberikan pakan standar, air yang cukup dan kandang yang sama dengan tujuan agar tidak mempengaruhi hasil (Harborne, 1987). Mencit ditempatkan dalam kandang yang terpisah untuk menghindari pertenggaran.

3.3.7.3. Desain Perlakuan

Mencit yang telah diaklimatisasi selanjutnya akan diberikan beberapa perlakuan berbeda. Desain perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok mencit adalah sebagai berikut:

- Kontrol positif (K(+)) : diinduksi aloksan dan diberi glibenklamid pada minggu ke-3 dan ke-4.
- Kontrol negatif (K(-)) : diinduksi aloksan dan tanpa pemberian apapun (pengobatan).
- Kontrol normal (K(n)) : tidak diinduksi aloksan, hanya diberi pakan standar dari awal hingga akhir penelitian.
- Dosis 1 (D1) : diinduksi aloksan kemudian diberikan ekstrak kulit batang kelor dengan dosis 50 mg/kgBB.
- Dosis 2 (D2) : diinduksi aloksan kemudian diberikan ekstrak kulit batang kelor dengan dosis 100 mg/kgBB.
- Dosis 3 (D3) : diinduksi aloksan kemudian diberikan ekstrak kulit batang kelor dengan dosis 200 mg/kgBB.

3.3.7.4. Penginduksian Aloksan

Pada hari ke-6 mencit yang telah diaklimatisasi dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Pada hari ke-7 dilakukan pengecekan kadar glukosa darah mencit, selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan untuk mengetahui dosis aloksan yang akan diinduksikan. Aloksan diinduksikan terhadap mencit dengan dosis 150 mg/kg BB. Induksi aloksan dilakukan pada 5 kelompok mencit yaitu kelompok K(+), K(-), D1, D2, dan D3.

Pada saat penyuntikan terlebih dahulu bagian tengkuk mencit dibersihkan dengan alkohol *swabs*, kemudian syringe yang sudah berisi larutan aloksan diinjeksi pada bagian tengkuk dengan suntikan antara 45°-90° bergantung pada posisi jaringan dan panjang jarum. Berdasarkan *American Diabetes Association* (2010), kriteria diagnose terjadinya peningkatan kadar glukosa darah pada penderita diabetes melitus apabila diperoleh kadar gula darah telah mencapai ≥ 200 mg/dL, tahap ini disebut sebagai mencit hiperglikemia atau diabetes.

3.3.7.5. Pemberian Glibenklamid

Mencit pada kelompok (K+) yang telah mencapai keadaan hiperglikemia selanjutnya diberikan glibenklamid yang bertujuan untuk mengetahui besarnya penurunan kadar glukosa darah dan juga digunakan sebagai pembanding. 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 diberikan pada mencit kelompok (K+) adalah sebesar 5 mg/kg BB.

3.3.7.6. Pemberian Dosis Ekstrak

Mencit hiperglikemia pada kelompok D1, D2, dan D3 diberikan ekstrak kulit batang kelor dengan variasi dosis masing-masing adalah 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 200 mg/kg BB. Banyaknya dosis yang diberikan pada mencit dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

3.3.7.7. Parameter Uji

Parameter uji yang diamati adalah berat badan dan kadar glukosa darah mencit. Pengamatan berat badan dan kadar glukosa darah dilakukan sebanyak 4 kali dalam 4 pekan. Pada pekan ke-1 mencit dilakukan aklimatisasi, pekan ke-2 dilakukan penginduksian aloksan, pekan ke-3 dan pekan ke-4 dilakukan pemberian glibenklamid dan dosis ekstrak kulit batang kelor.

Pengamatan berat badan dilakukan menggunakan timbangan dan pengamatan kadar glukosa darah dilakukan menggunakan glukometer. Pengecekan kadar glukosa darah dilakukan dengan mensterilkan ekor mencit menggunakan alkohol swabs agar tidak terjadi iritasi atau infeksi, kemudian sedikit ekor mencit dilukai hingga keluar darahnya lalu diteteskan pada strip yang terdapat pada glukometer, kemudian ditunggu 10 detik untuk mendapatkan nilai kadar glukosa darah yang terdapat pada layar glukometer.

3.3.7.8. Analisis Data

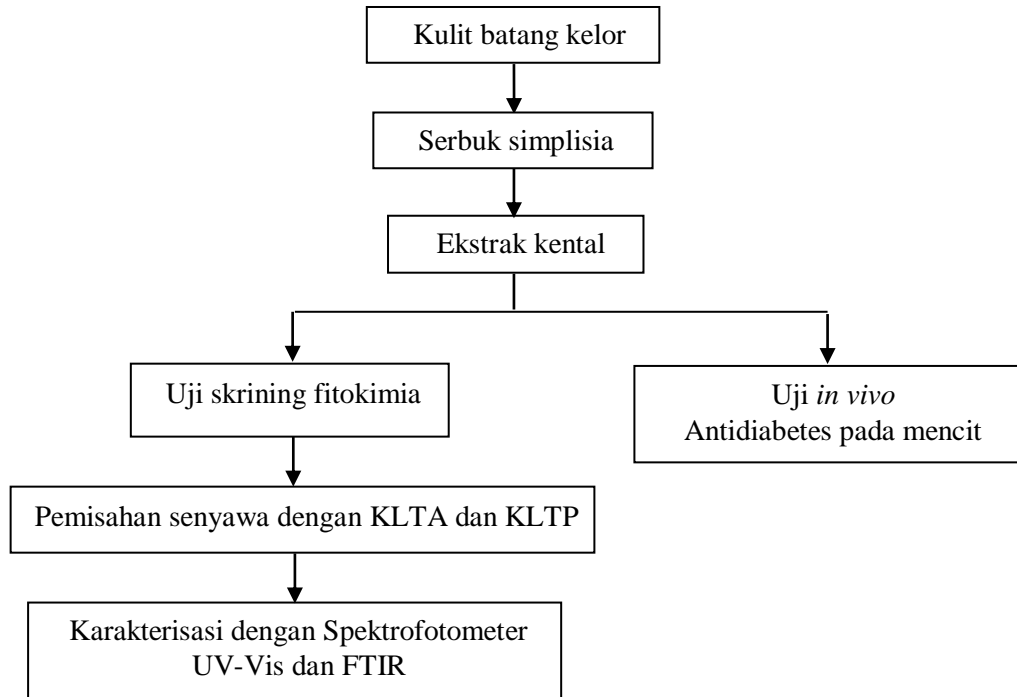
Data yang telah didapatkan dari hasil uji aktivitas antidiabetes selanjutnya akan dianalisis menggunakan metode statistik *one way ANOVA (Analys of Variance)* dan BNT (Beda Nyata Terkecil) taraf 5%. Analisis data menggunakan *one way ANOVA* dan BNT bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata kadar glukosa darah diantara 6 kelompok perlakuan. Uji *one way ANOVA* yang menghasilkan nilai $p \leq 0,05$ (terdapat perbedaan), maka dilanjutkan menggunakan uji Post Hoc LSD atau uji BNT taraf 5% untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan (Dahlan, 2008). Persentase penurunan kadar glukosa darah mencit didapatkan dari penilaian aktivitas antidiabetes *in vivo* yaitu:

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

3.3.8. Diagram Alir

Prosedur dalam penelitian ini telah dirangkum ke dalam bentuk diagram alir sebagai berikut:

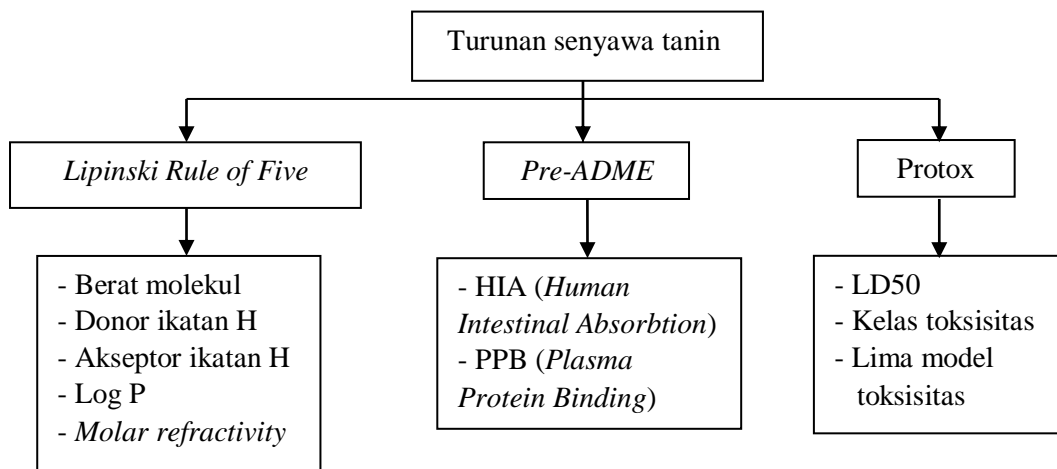
1. Diagram alir uji *in vivo*



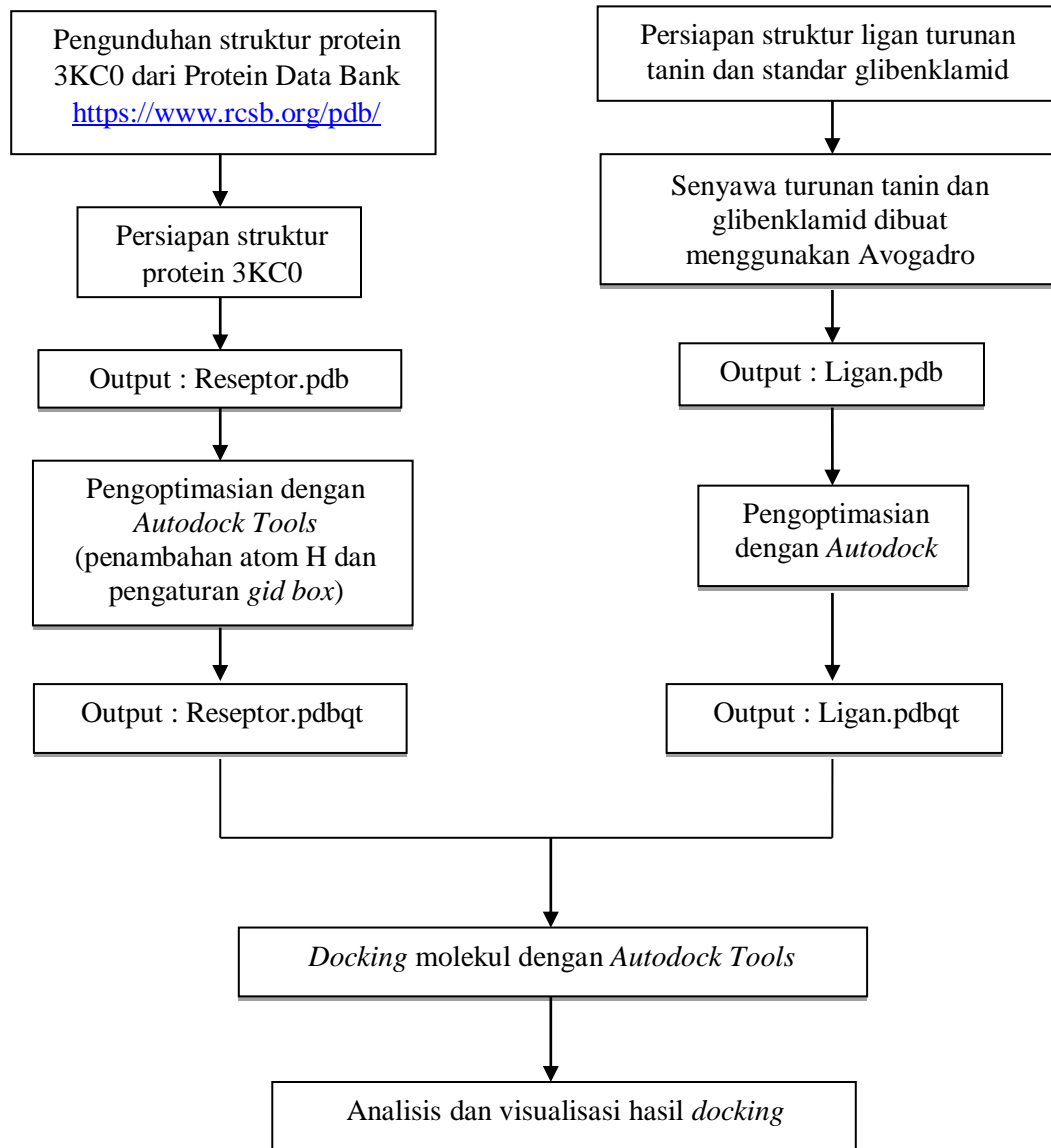
Gambar 6. Diagram alir karakterisasi senyawa tanin

2. Diagram alir uji *in silico*

a. Uji farmakokinetik dan toksisitas



Gambar 7. Diagram alir uji farmakokinetik dan toksisitas

b. Uji *molecular docking***Gambar 8.** Diagram alir *molecular docking*

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak kulit batang kelor yang didapatkan sebanyak 47 g dari 1000 g simplisia (4,7% rendemen) dan hasil karakterisasi menunjukkan kulit batang kelor mengandung senyawa tanin jenis katekin.
2. Hasil keseluruhan uji farmakokinetik dan toksisitas menunjukkan bahwa senyawa katekin merupakan senyawa terbaik yang memenuhi kriteria sebagai kandidat obat.
3. Hasil simulasi *molecular docking* menunjukkan bahwa turunan senyawa tanin yang memiliki hasil *docking* terbaik adalah senyawa katekin dan galokatekin yang memiliki nilai RMSD $\leq 2\text{\AA}$ dan energi bebas ikatan paling kecil yaitu (-9,14) sampai (-9,11).
4. Hasil uji secara *in vivo* menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kelor dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit.
5. Dosis ekstrak kulit batang kelor yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit adalah dosis 200 mg/kg BB dengan persentase penurunan kadar glukosa darah (%GL) sebesar 69,39%.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan, adapun saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya agar melakukan pemurnian terhadap sampel serta menggunakan karakterisasi tambahan seperti NMR dan GCMS. Uji terhadap mencit dapat dilakukan dengan pemberian senyawa tanin jenis katekin yang telah dipisahkan dari ekstrak kulit batang kelor.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi, N. N. (2019). *Kelor Tanaman Ajaib untuk Kehidupan yang Lebih Sehat*. Deepublish. Yogyakarta.
- Ambarwati, Y., Reni W., Yandri A. S., Aspita L., dan Yessi M. (2021). *Pemanfaatan Senyawa Kompleks Cr(III) dan Cu(II) dengan Ligan Asam Amino Fenilalanin sebagai Bahan Alternatif Antidiabetes*. Seminar Nasional Bersama FMIPA Unila Tahun 2021.
- American Diabetes Association. (2010). Diagnosis and Classification of Diabetes Melitus. *Diabetes Care*. 33(9).
- Aribowo, A. I., Christina F. L., Lestasi M. U., Nurma D., dan Sridevi A. (2021). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Tanaman. *Jurnal Health Sains*. 2(6).
- Ariyanti, R., Wahyuningtyas N., dan Wahyuni A. (2007). Pengaruh Pemberian Infusa Daun Salam terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Mencit Putih Jantan yang Di Induksi dengan Potassium Oksanat. *Jurnal Pharmacon*. 8(20).
- Arwansyah, H. (2014). Simulasi *Molecular Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) pada Kanker Prostat. *Jurnal Dinamika*. 5(2): 60-75.
- Atomssa, T and Gholap A. V. (2015). Characterization and Determination of Catechin in Green Tea Leaves Using UV-Visible Spectrometer. *Journal of Engineering and Technology Research*. 7(1): 22-31.
- Azis, F. K., Cantika N., Fauziyah A. O., Lita W., dan Broto S. (2016). Hasil *In Silico* Senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028, dan SCB13970547 dibandingkan Turunan Zerumbon terhadap Human Liver Glycogen Phosphorylase (1I5Q) sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kimia VALENSI*. 2(2): 120-124.

- Bachtiar, Kamiel R., Susanti S., dan Richa M. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa dalam Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb*) secara *in Silico*. *Journal of Pharmacopolium*. 4(1).
- Berawi K.N., Wahyudo R., dan Pratama A.A. (2019). Potensi Terapi *Moringa Oleifera* (Kelor) pada Penyakit Degeneratif. *Jurnal Kedokteran Unila*. 3 (1): 210 - 214.
- Bidlingmayer, B. A. (1987). *Preparative Liquid Chromatograph*. Elsevier Publishing Company. Amsterdam.
- Brooijmans, N. (2009). Docking Methods, Ligan Design, and Validating Data Sets in The Structural Genomics Era. *Journal Computation*. 11: 635-663.
- Cole, J. C. dan Taylor R. (2005). Comparing Protein-Ligand Docking Program is Difficult. *PubMed Protein*. 60: 325-329.
- Dahlan, S. (2008). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Salemba Medik. Jakarta.
- Dany, D. A., Hari P., Maulana T., dan Agung E. N. (2013). Interaksi Senyawa Aktif dari *Aegle marmelos Correa* sebagai Anti Inflamasi dengan Reseptor Cox-1 dan Cox-2. *Jurnal Obat Tradisional*. 18(2): 80-87.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesi. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Dirjen POM. Jakarta.
- Ditjen POM. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Departemen Kesehatan RI. Hal: 1212 dan 1157. Jakarta.
- Dongga, I. R. Y., Sunarti, dan Titik S. (2016). Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida R.Br.*) terhadap Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 8(2): 144-150.
- El-Din, H., Loutfy S., Fathy N., Elberry M., and Mayla A. (2016). Molecular Docking Based Screening of Compounds Againts VP40 from Ebola Virus. *Bioinformatika*. 12(3): 192-196.
- Fahey, G. C. dan Berger L. (1988). *Carbohydrate Nutrition of Ruminants*. In: *D.C Chruch. Digestive Phisiology and Nutrition of Ruminants, The Ruminants Animal*. Prentice Hall Eglewood Cliifs. New Jersey.

- Frimayanti, N., Anita L., dan Livia N. (2021). Studi Molecular Docking Senyawa 1,5-Benzothiazepine sebagai Inhibitor Dengue DEN-2 NS2B/NS3 Serine Protease. *Chempublish Journal*. 6(1): 54-62.
- Gandjar, I. G. dan Abdul R. (2018). *Spektroskopi Molekuler untuk Analisis Farmasi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Griffith, P. (1975). *Chemical Infrared Fourier Transform Spectroscopy*. John Wiley and Sons. New York.
- Gu, T. (2000). Liquid-Liquid Partitioning Methods for Bioseparations. *Academic Press*. 2: 329-364.
- Hagerman, A.E. (2002). *Tannin Handbook*. Universitas Miami. Miami.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia*. ITB Press. Bandung.
- Hardjono, S. (2015). Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N-(4-Fluorofenil)Tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol.14. No.2. Hlm. 246-255.
- Harjono, S. (1992). *Spektroskopi Inframerah Edisi Pertama*. Liberty. Yogyakarta.
- Hendriani, R., Nursamsiar, dan Ami T. (2017). In Vitro and In Silico Evaluation of Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Quercetin Contained in Sonchus Arvensis Leaf Extract. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 1(1): 50-53.
- Herliani, A. (2008). *Spektrofotometri*. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Hevener, K. E., Zhao W., Ball D. M., Babaoglu K., Qi J., White S. W., and Lee R. E. (2009). Validation of Molecular Docking Programs Forvirtual Screening Against Dihydropteroate Synthase. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 49(2): 444-460.
- Huang, S. Y. and Zou, X. 2007. Efficient Molecular Docking of NMR Structure. *Protein Science*. A Publication of the Protein Society. 16(1): 43-51.
- Huey, R., Morris G. M., Olson A. J., and Goodsell D. (2007). A Semiempirical Free Energy Force Fields with Charge-Based Desolvation. *Journal of Computational Chemistry*. 28(6): 1145-1152.

- Ikalinus, R. (2013). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. 4(1): 71-79.
- Integrated Taxonomic Information System.(2017). *Moringa oleifera (Drumstick Tree): Biological Classification and Name*. Encyclopedia of Life Newsletter.http://hy_ent ri e s / 46214757/overview/moringa-oleifera. Diakses pada 6 November 2021.
- International Diabetes Federation. (2019). *IDF Diabetes 9th Edition*. Belgium: International Diabetes Federation.
- International Diabetes Federation. (2021). *IDF Diabetes Atlas 10th Edition*. http://diabetesatlas.org/en/resources/2021/idf_atlas_10th_edition_2021. Diakses pada 21 April 2021.
- International Diabetes Federation. (2023). *IDF Diabetes Atlas 11th Edition*. http://diabetesatlas.org/en/resources/2023/idf_atlas_11th_edition_2023. Diakses pada 16 Januari 2023.
- Kalita, J., Chetia D., and Rudrapal M. (2019). Molecular Docking, Drug-Likeness Studies and ADMET Prediction of Quinoline Imines for Antimalarial Activity. *Journal Medicinal Chemistry Drug*. 2(1): 1-7.
- Kitukale, M. D., and Chandewar A. V. (2014). An Overview on Some Recent Herbs Having Antidiabetic Potential. *Research*.
- Khopkar, S. M. (2008). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Kumari, M and Jain S. (2012). Tanins: An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes. *Research Journal of Recent Science*. 1(12): 70- 71.
- Kusuma, G. P. O. R. (2021). Uji Antihiperglikemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Glukosa. *Jurnal Natur Indonesia*. 19(1): 1-5.
- Larantukan, S. V. M., Ni Luh E. S., dan Sri K. W. (2014). Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor Glukosa Darah Tikus Hiperglikemia. *Indonesia Medicus Veterinus*. 3(4) : 292-299.
- Laurence and Bacharach. (1964). *Evaluation of Drug Activities Pharmacometrics, Metode Laboratorium dalam Toksikologi, reviewer: Hakim, L. Pusat Antar Universitas Bioteknologi*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

- Lins L. and Brasseur R. 1995. The Hydrophobic Effect in Protein Folding. *Faseb Journal*. 9: 535-540.
- Lipinski, C. A. (2000). Drug-Like Properties and The Causes of Poor Solubility and Poor Permeability. *Journal Pharmacol.* 44(1): 235-249.
- Lipinski, C. A. (2004). Lead-And Drug-Like Compouds: The Rule of Five Revolution. *Article in Drug Discovery Today Technologies*. 1(4).
- Lodish, H., Berk A., Zipursky S., Matsudaira P., Baltimore D., and Darnell J. (2000). *Mollecular Cell Biology 4th Edition*. W.H Freeman Company. New York.
- Maulida, U., Jofrisha, dan Mauliza. (2019). Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol pada Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L) Urban). *KATALIS Jurnal Pendidikan Kimia dan Ilmu Kimia*. 2(2): 1-8.
- Megantara, S., Levita J., Iwo M. I., and Ibrahim S. (2018). Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction of Andrographolide and Its Derivates as Anti-HIV Drugs. *Reasearch Journal of Chemistry and Environment* 22 (Special Issue 1). 82-85.
- Misnadiarly. (2006). *Diabetes Mellitus, Mengenali Gejala, Menanggulangi, Mencegah Komplikasi*. Pustaka Populer Obor. Jakarta.
- Mueller, H. I. (2006). Unrevelling The Coundrum of Tannins in Animal Nutrition and Health. *Journal Science Food Agric*. 86: 2010-2037.
- Mukesh, B. and Rakesh K. (2011). Molecular Docking: A Review. *International Journal Pham*. 2(6): 1746-1751.
- Mutiarahmi, C. N., Tyagita H., dan Ronny L. (2021). Penggunaan Mencit sebagai Hewan Coba di Laboratorium yang Mengacu pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Indonesia Medicus Veterinus*. 10(1): 134-145.
- Muttaqin, F. Z. 2019. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A pada Kanker Leukemia. *Pharmacoscript*. 2(2): 131-151.
- Narko, T., Benny P., Riska P., Dang S., dan Faridhatul K. (2017). Molecular Docking Study of Bulb of Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr) Compounds as Anti Servical Cancer. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 8(2): 1-14.

- Novalinda, Mukti P., dan Laode R. (2021). Bahan Alam yang Berpotensi sebagai Antidiabetes. *Jurnal Farmasi*. 389-397.
- Novitasari, A.E. dan Putri D.Z. (2016). Isolasi dan Identifikasi Saponin pada Ekstrak Daun Mahkota Dewa dengan Ekstraksi Maserasi. *Jurnal Sains*. 6(12):10-14.
- Nugroho, R. A. (2018). *Mengenal Mencit Sebagai Hewan Laboratorium*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Nursamsiar, Toding A. T., and Awaluddin A. (2016). Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *PHARMACY: Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 13(1): 92-100.
- Patra, A. K. dan Saxena J. (2010). A New Perspective on The Use of Plant Secondary Metabolites to Inhibit Methanogenesis in The Rumen. *Journal Phytochemistry*. 71: 1198-1222.
- Pavia, D. L., Lampman G. M., Kriz G., dan Vyvyan J. R. (2009). *Introduction to Spectroscopy*. Saunders College. Philadelphia.
- Pratama, I. P. dan Ratnasari M. D. P. (2021). Pola Penggunaan Obat pada Pasien Diabetes Melitus Tipe II dengan Komplikasi Neuropati pada Salah Satu Rumah Sakit Swasta Denpasar Bali. 3(2): 30-37.
- Priyanto. (2007). *Toksisitas Radikal Bebas*. Leskonfi. Depok.
- Rajanandh M. G., Satishkumar M.N., Elango K., dan Suresh B. (2012). *Moringa oleifera Lam. A Herbal Medicine for Hyperlipidemia: A Pre-Clinical Report*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2(5).
- Rejeki, P. S., Eka A. C. P., dan Rizka E. P. (2018). *Ovariectomi pada Tikus dan Mencit*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Rias, Y. A. dan Ekawati S. (2017). Hubungan antara Berat Badan dengan Kadar Gula Darah Acak pada Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Wiyata*. 4(1): 72-77.
- Robertson, R. P., Harmon J., Tran P., Tanaka, and Takahashi. (2003). *Glucose Toxicity in Beta-Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, and The Gluthione Connection*. 52: 581-587.
- Rohman, A. (2009). *Kromatografi untuk Analisis Obat*. Graha Ilmu. Yogyakarta.

- Rorong, S. I., Joke L. T., Olie S. D., dan Ferdy A. K. (2020). Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Pakoba Merah *Syzygium sp* pada Tikus Putih *Rattus norvegicus* yang Diinduksi Aloksan. *Majalah InfoSains*. 1(2): 38-47.
- Rosamah, E. (2019). *Kromatografi Lapis Tipis*. Mulawarman University Press. Samarinda.
- Sangi, M., Runtuwene M. R. J., Simbala H. E., dan Makang V. M. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara. *Chemistry Progress*. 1: 47-53.
- Sari, I. W., Junaidin, dan Pratiwi D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon atamineus B.*) dalam Glukosidase Receptor as Antidiabetic Type 2. *Jurnal Farmagazine*. 7(2): 54-60.
- Sastry, G. M., Adzhigirey M., Day T., Annabhimoju R., and Sherman W. (2013). Protein and Ligand Preparation: Parameters, Protocols, and Influence on Virtual Screening Enrichments. *Journal Computation*. 27(3): 221-234.
- Sastrohamidjojo, H. (2018). *Dasar-dasar Spektroskopi*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Shofi, M. (2021). Uji *in Silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Bioaktif Biji Trembesi (*Samanea saman(jacq.) Merr*) sebagai Kandidat Obat Diabetes Mellitus. *Jurnal Pharma Bhakta*. 1(2): 1-14.
- Skoog, D. A., Holler F., and Nieman T. A. (1998). *Principles of Instrumental Analysis*. Fifth ed. Harcourt Brace. Philadelphia.
- Sriwahyuni I. (2010). *Uji fitokimia dalam Farmasi*. ITB Press. Bandung.
- Stefaniu. 2019. *Molecular Docking and Molecular Dynamic*. British Library Cataloguing. British.
- Suharna. 2012. Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Makassar: UIN Alauddin.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In β Cells Of The Rat Pancreas. *Physiology Research*. 50: 536-54.
- Tetti, M. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7 (2): 361-367.

- Vifta, R. L. dan Yustisia D.A. (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa B.*). *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. 1 : 8-14.
- Walde, S.S., Dohle C., Schott O., dan Gleich M. H. (2002). Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. *Life Sciences*. 71. 1681–1694.
- Widodo, F.Y. (2014). Pemantauan Penderita Diabetes Mellitus. *Jurnal Ilmiah Kedokteran*. 3(2): 55-89.
- Widowaty, W. (2008). Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 7(2): 6-7.
- Widyastuti, S., Samsidar U., dan Dina R. (2022). Uji Efektivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Daun Senggani (*Melastomapolyanthum .BI*) dan Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Mencit (*Mus musculus*). *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 4(3): 262-267.
- Yang, H. (2019). AdmetSAR 2.0: Web-Service for Prediction and Optimization of Chemical ADMET Properties. *Journal Bioinformatics*. 35(6): 1067-1069.
- Yuda, P. E. S., Erna C., dan Niluh P. Y. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbisa hirta L.*). *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 3(2): 61-70.
- Zirconia, A., Kurniasih N., dan Amalia V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *Journal Al-Kimiya*. 2(1): 9-17.