

**MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN FLAVONOID DENGAN  
PROTEIN 3KC0 DAN UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK  
DAUN KELOR PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

**(Skripsi)**

**Oleh**

*Maysya Dhiya Rizky Allisandra*  
**NPM 1917011030**



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

## ABSTRAK

### **MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN FLAVONOID DENGAN PROTEIN 3KC0 DAN UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN KELOR PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

Oleh

**Maysya Dhiya Rizky Allisandra**

Daun kelor dapat dimanfaatkan sebagai antidiabetes karena adanya kandungan senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa turunan flavonoid daun kelor sebagai antidiabetes berdasarkan *molecular docking* dan mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak daun kelor pada mencit jantan. Pada penelitian ini dilakukan ekstraksi daun kelor, karakterisasi senyawa flavonoid dengan spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR dan LC-MS, *molecular docking* senyawa turunan flavonoid daun kelor dengan protein 3KC0, serta uji aktivitas antidiabetes ekstrak daun kelor terhadap mencit jantan. Hasil karakterisasi menunjukkan ekstrak daun kelor mengandung senyawa turunan flavonoid yaitu myricetin, hesperidin dan kuersetin. Berdasarkan *molecular docking*, senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes adalah senyawa hesperidin dengan energi ikatan sebesar -10,03 kkal/mol dan residu asam amino pada sisi aktif protein 3KC0 yaitu LEU30, THR27, LYS112 dan GLY28. Senyawa terbaik berdasarkan farmakokinetik adalah senyawa kuersetin, sedangkan senyawa terbaik berdasarkan hasil toksisitas adalah senyawa hesperidin. Uji aktivitas antidiabetes menunjukkan dosis optimal ekstrak daun kelor dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit jantan yaitu 200 mg/kg BB dan persentase penurunan glukosa (%GL) sebesar 69,56% dengan nilai signifikan uji ANOVA  $p(\leq 0,05)$ . Oleh karena itu, daun kelor dapat digunakan sebagai antidiabetes.

Kata kunci: antidiabetes, daun kelor, flavonoid, *molecular docking*, mencit.

## **ABSTRACT**

### **MOLECULAR DOCKING OF FLAVONOID-DERIVED COMPOUNDS WITH 3KC0 PROTEIN AND ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST OF MORINGA LEAVES EXTRACT IN MALE MICE (*Mus musculus*)**

**By**

**Maysya Dhiya Rizky Allisandra**

Moringa leaves can be used as an antidiabetic because of the content of flavonoid compounds. This study aims to determine the types of flavonoid derivative compounds of Moringa leaves as antidiabetics based on molecular docking and determine the antidiabetic activity of Moringa leaves extract in male mice. In this study, Moringa leaves extraction, characterization of flavonoid compounds with UV-Vis spectrophotometer, FTIR spectrophotometer and LC-MS, molecular docking of Moringa leaves flavonoid derivative compounds with 3KC0 protein, and antidiabetic activity test of Moringa leaves extract against male mice. The characterization results show that Moringa leaves extract contains flavonoid derivative compounds, namely myricetin, hesperidin and quercetin. Based on molecular docking, compounds that have potential as antidiabetics are hesperidin compounds with binding energy of -10.03 kcal / mol and amino acid residues on the active side of 3KC0 proteins, namely LEU30, THR27, LYS112 and GLY28. The best compound based on pharmacokinetics is quercetin compound, while the best compound based on toxicity results is hesperidine compound. Antidiabetic activity test showed the optimal dose of Moringa leaves extract in reducing blood glucose levels of male mice was 200 mg/kg body weight and the percentage of glucose reduction (%GL) of 69.56% with a significant value of ANOVA test ( $p \leq 0.05$ ). Therefore, Moringa leaves can be used as an antidiabetic.

**Keywords:** antidiabetic, moringa leaves, flavonoids, molecular docking, mice.

**MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN FLAVONOID DENGAN  
PROTEIN 3KC0 DAN UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK  
DAUN KELOR PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

Oleh

*Maysya Dhiya Rizky Allisandra*

Skripsi

Sebagai Salah 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

: **MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN  
FLAVONOID DENGAN PROTEIN 3KCO DAN UJI  
AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN  
KELOR PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)**

Nama Mahasiswa

: **Maysya Dhiya Rizky Allisandra**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011030


Jurusan

: **Kimia**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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

  
**Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.**  
NIP 19741211 199802 2 001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

  
**Mulyono, Ph.D.**  
NIP 19740611 200003 1 002

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

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



---

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



---

Penguji  
Bukan Pembimbing : **Prof. Drs. Andi Setiawan, Ph.D.**



---

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**  
NIP 19711001 200501 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **23 Mei 2023**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Maysya Dhiya Rizky Allisandra

NPM : 1917011030

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "*Molecular Docking* Senyawa Turunan Flavonoid dengan Protein 3KC0 dan Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Kelor Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)" tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini sebagaimana tercantum dalam daftar pustaka. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 13 Mei 2023

Yang menyatakan,



FB8AKX301684585

Maysya Dhiya Rizky Allisandra

NPM. 1917011030

## RIWAYAT HIDUP



**Maysya Dhiya Rizky Allisandra** lahir di Pringsewu pada tanggal 26 Mei 2001, anak pertama dari 2 bersaudara, buah kasih pasangan dari Ayahanda “**Suyadi**” dan Ibunda “**Asriyah**”. Penulis mulai menempuh pendidikan pertama kali pada usia 4 tahun di Taman Kanak-Kanak Aisyiyah 3 Bustanul Athfal pada tahun 2005-2007, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SDN 2 Pringsewu Selatan pada tahun 2007-2013, penulis menempuh pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 3 Pringsewu pada tahun 2013-2016, kemudian mengambil jurusan IPA di SMA Negeri 1 Pringsewu pada tahun 2016-2019.

Pada tahun 2019, penulis terdaftar pada salah satu perguruan tinggi negeri sebagai mahasiswa jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri). Penulis aktif sebagai Kader Muda Himaki (KAMI) pada tahun 2019. Penulis pernah mengikuti kegiatan Program Kreativitas Mahasiswa skema PKM-RE yang berjudul “Salep Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) sebagai Penyembuh Infeksi Kulit yang Disebabkan oleh Bakteri *Staphylococcus aureus*” pada tahun 2021 dan berhasil meraih pendanaan hingga monev eksternal. Pada tahun yang sama, penulis meraih juara 5 KN-MIPA Bidang Kimia Tingkat Universitas dan mewakili Universitas Lampung sebagai peserta KN-MIPA Bidang Kimia Tingkat Wilayah 2021.



Awal tahun 2022, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Pamenang, Kecamatan Pagelaran, Kabupaten Pringsewu, Provinsi Lampung selama 40 hari. Pada Juli 2022, penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Anorganik/Fisik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang berjudul “Pemanfaatan Minyak Jelantah Dalam Pembuatan Sabun Cair dengan Penambahan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dan Bunga Telang (*Clitoria ternatea*)” dan bersama pengerjaan tugas akhir sebagai salah satu syarat kelulusan sebagai sarjana sains, penulis menjadi asisten praktikum Kimia Dasar di Laboratorium Kimia Dasar Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2022.

## MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.  
Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

*(Q.S. Al-Insyirah : 5-6)*

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

*(Q.S. Al-Baqarah : 286)*

“Janganlah kamu berduka cita, sesungguhnya Allah selalu bersama kita”

*(Q.S. At-Taubah : 40)*

“Barangsiapa yang mengerjakan kebaikan sekecil apapun,  
niscaya dia akan melihat balasannya”

*(Q.S. Al-Zalzalah : 7)*

“Apapun yang menjadi takdirku, akan mencari jalannya menemukanmu”

*(Ali bin Abi Thalib)*

“Hatiku tenang karena mengetahui bahwa apa yang melewatkanmu tidak akan  
pernah menjadi takdirku dan apa yang ditakdirkan untukku  
tidak akan pernah melewatkanmu”

*(Umar bin Kfattab)*

## *PERSEMBAHAN*

Puji syukur kehadiran Allah Swt. yang senantiasa melimpahkan rahmat, hidayah serta inayah-Nya. Sholawat beserta salam semoga selalu tercurahkan kepada baginda Nabi Muhammad Saw. Kupersembahkan karya ini untuk orang yang kusayangi:

*Teristimewa Ayahanda dan Ibunda, wanita nomor 1 di dunia*

Karya kecil ini kupersembahkan sebagai wujud cinta, bakti, hormat dan tanggung jawabku kepada Ayahanda Suyadi dan Ibunda Asriyah. Terimakasih atas dukungan, motivasi, pengorbanan serta doa yang senantiasa dipanjatkan untuk keberhasilanku.

Untuk adikku, Brilliant Bintang Rhamadhan dan Adonia Blessing Elsaday, serta keluarga tercinta yang tak pernah putus mendoakan dan memberi semangat

*Ibu Dr. Yuli Ambarwati, M.Si., Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. dan Bapak Syaiful Bahri, M.Si.*  
Atas bimbingan, ilmu, saran, dukungan selama penelitian dan penulisan tugas akhir.

*Dosen Jurusan Kimia*

Atas segala ilmu serta pembelajaran yang diberikan selama perkuliahan.

*Sahabat-sahabat Tercinta*

Especialy sahabat sejalan yang selalu menemani selama masa perkuliahan dalam keadaan suka maupun duka, terimakasih telah menjadi rumah tempat aku pulang.

*Almamaterku tercinta, Universitas Lampung*

## SANWACANA

*Alhamdulillah* rabbil'alamin, puji syukur kehadiran Allah Swt. karena limpahan rahmat, hidayah, nikmat sehat, kemudahan dan inayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “*Molecular Docking* Senyawa Turunan Flavonoid dengan Protein 3KC0 dan Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Kelor pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)”. Penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini melibatkan berbagai pihak yang memberikan bimbingan, dukungan, nasihat, serta bantuan. Oleh karena itu, dengan rasa hormat penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, M.Si. selaku pembimbing 1 serta Bapak Syaiful Bahri, M.Si. atas segala ilmu, arahan, bimbingan, saran, motivasi dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta skripsi ini dengan baik.
2. Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. selaku pembimbing 2 atas bimbingan, dukungan, dan saran sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
3. Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan, Ph.D. selaku pembahas yang telah memberikan saran, kritik dan masukan dalam penelitian dan penulisan skripsi.
4. Orangtua tercinta, Bapak Suyadi dan Ibu Asriyah atas curahan kasih sayang yang diberikan, dukungan finansial serta doa yang tidak pernah putus sampai saat ini.

5. Ibu Prof. Tati Suhartati, M.S. selaku dosen pembimbing akademik atas bimbingan, saran dan motivasi dalam segala hal terkait perkuliahan.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas ilmu, dukungan, nasihat dan pembelajaran yang telah diberikan selama menjalankan pendidikan di kampus.
10. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian serta tugas akhir.
11. Adik tersayang, Brilliant Bintang Rhamadhan dan Adonia Blessing Elsaday yang menjadi penyemangat dan motivasi penulis untuk menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu.
12. Keluarga besar Suwito dan Tarli yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan.
13. Tim Dr. Yuli's *Research* 19 yaitu Unggul Sulistio Satrio Utomo, Fitri Febriani dan Qonita Putri Hafidhoh terimakasih atas kebersamaan selama penelitian dan penyusunan skripsi, canda, tawa, air mata, bantuan, dukungan, saran, motivasi, semangat dan doa yang telah diberikan selama ini. Terimakasih telah menjadi teman penelitian terbaik, semoga kebaikan selalu menyertai kalian, aamiin.
14. Sahabat sejalan yaitu Aniska Legia dan Cantona Sasmitha yang telah menemani penulis selama masa perkuliahan, mendengarkan keluh kesah dan kegalauan penulis yang tiada henti dengan kalimat "hadeh cape", serta memberi dukungan, semangat dan saran terkait kehidupan perkuliahan, percintaan maupun masalah lainnya. Terimakasih telah membuat kenangan yang indah di tengah perjuangan sulitnya mendapatkan gelar Sarjana.

15. Sohib satu kamar kos, Widya Putri Andesa yang telah membantu penulis dalam banyak hal, mendoakan dan saling menguatkan.
16. Sahabat kecilku, Nur Rohmah Destriana, Safira Regina Prameswari dan Anggi Aprilia Putri yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan.
17. Kakak dan adik seperbimbingan, Kak Hendriko, Mba Eni, Mba Dinara, Mba Tania, Cikal, Anggun, Dian dan Rifqi atas segala ilmu, semangat, motivasi, dan saran.
18. Teman-teman *Chemistry* 19, khususnya kelas A yang memberikan pengalaman hebat selama perkuliahan.
19. Pemilik akun NCrypted yang telah membersamai penulis pada hari-hari yang tidak mudah selama proses pengerjaan skripsi, meluangkan waktu, tenaga, pikiran serta memberi dukungan, semangat dan motivasi tanpa henti pada penulis. Terimakasih telah menjadi sosok rumah yang tidak hanya berupa tanah dan bangunan. *Thank's for coming and let's go to Mythical Glory!*

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

Bandar Lampung, 13 Mei 2023

Penulis

Maysya Dhiya Rizky Allisandra

NPM. 1917011030

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Tanaman Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> ) .....	4
2.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	5
2.1.2 Khasiat Tanaman .....	5
2.1.3 Flavonoid Daun Kelor .....	6
2.2 Diabetes Melitus .....	7
2.3 Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	8
2.4 Aloksan .....	9
2.5 Glibenklamid .....	10
2.6 Maserasi .....	11
2.7 Ekstraksi Cair-cair .....	11
2.8 Uji Skrining Fitokimia .....	12
2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	13
2.10 Karakterisasi Senyawa .....	14
2.10.1 Spektrofotometer UV-Vis .....	14
2.10.2 Spektrofotometer FTIR .....	15
2.10.3 <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry</i> (LC-MS). .....	16
2.11 <i>Molecular Docking</i> .....	17
2.12 Perangkat Lunak Simulasi <i>Docking</i> .....	18

2.12.1	<i>Autodock Tools</i> .....	18
2.12.2	<i>Discovery Studio Visualizer (DSV)</i> .....	18
2.13	Penentuan Farmakokinetik .....	18
2.13.1	<i>Lipinski Rule of Five</i> .....	18
2.13.2	SwissADME .....	19
2.13.3	Toksistas.....	20
<b>III.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
3.1	Waktu dan Tempat .....	21
3.2	Alat dan Bahan .....	21
3.3	Prosedur Penelitian .....	22
3.3.1	Preparasi dan Pembuatan Ekstrak Sampel .....	22
3.3.2	Identifikasi Flavonoid .....	22
3.3.3	Pemisahan Senyawa.....	23
3.3.4	Karakterisasi Senyawa .....	24
3.3.5	Simulasi <i>Docking</i> .....	25
3.3.6	Penentuan Farmakokinetik .....	26
3.3.7	Uji Aktivitas Antidiabetes .....	27
3.3.8	Diagram Alir.....	30
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>32</b>
4.1	Ekstrak Daun Kelor.....	32
4.2	Identifikasi Flavonoid pada Daun Kelor .....	33
4.3	Pemisahan Senyawa Flavonoid .....	34
4.3.1	Hasil Ekstraksi Cair-cair .....	34
4.3.2	Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis .....	35
4.3.3	Pemisahan Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis Preparatif .....	36
4.4	Karakterisasi Senyawa Flavonoid.....	37
4.4.1	Spektrofotometer UV-Vis .....	37
4.4.2	Spektrofotometer FTIR.....	39
4.4.3	<i>Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry (LC-MS)</i> .....	41
4.5	<i>Molecular Docking</i> Senyawa Turunan Flavonoid dan Protein 3KC0 ..	44
4.5.1	Validasi Metode <i>Docking</i> .....	44
4.5.2	<i>Docking</i> Senyawa Uji .....	47
4.6	Prediksi Toksisitas dan Penentuan Farmakokinetik .....	54
4.6.1	Prediksi Toksisitas .....	54



4.6.2 Penentuan Farmakokinetik .....	58
4.7 Uji Aktivitas Antidiabetes .....	62
4.7.1 Berat Badan Mencit Jantan ( <i>Mus musculus</i> ) .....	62
4.7.2 Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan ( <i>Mus musculus</i> ).....	65
<b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>73</b>
5.1 Simpulan.....	73
5.2 Saran.....	73
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>74</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>82</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daerah Frekuensi Gugus Fungsi Spektrum Inframerah (IR) .....	16
2. Rancangan Acak Lengkap .....	27
3. Hasil Identifikasi Flavonoid .....	33
4. Hasil Pengukuran UV-Vis Filtrat Hasil KLTP .....	38
5. Interpretasi Filtrat Hasil KLTP Dugaan Kuersetin .....	40
6. Hasil Analisis dan Identifikasi Senyawa Flavonoid menggunakan LC-MS ..	42
7. Hasil Validasi Metode <i>Docking</i> .....	47
8. Hasil <i>Docking</i> Myricetin .....	48
9. Hasil <i>Docking</i> Hesperidin .....	50
10. Hasil <i>Docking</i> Kuersetin .....	51
11. Hasil <i>Docking</i> Glibenklamid .....	52
12. Hasil <i>Docking</i> Keseluruhan Senyawa Uji .....	53
13. Hasil Farmakokinetik Senyawa Myricetin Secara <i>Protok</i> .....	55
14. Hasil Farmakokinetik Senyawa Hesperidin Secara <i>Protok</i> .....	55
15. Hasil Farmakokinetik Senyawa Kuersetin secara <i>Protok</i> .....	56
16. Hasil Farmakokinetik Senyawa Glibenklamid Secara <i>Protok</i> .....	56
17. Hasil <i>Protok</i> Senyawa Uji .....	57
18. Hasil <i>Lipinski Rule of Five</i> Senyawa Uji .....	59
19. Hasil SwissADME Senyawa Uji .....	60
20. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes dalam % <i>Glucose Lowering</i> (%GL) .....	69
21. Hasil Signifikan pada uji <i>Oneway</i> ANOVA .....	70
22. Hasil Uji BNT .....	70
23. Berat Badan Mencit Pekan Ke-1 .....	83
24. Berat Badan Mencit Pekan Ke-2 .....	83

25. Berat Badan Mencit Pekan Ke-3 .....	83
26. Berat Badan Mencit Pekan Ke-4 .....	84
27. Kadar Glukosa Darah Mencit Pekan Ke-1 .....	84
28. Kadar Glukosa Darah Mencit Pekan Ke-2 .....	84
29. Kadar Glukosa Darah Mencit Pekan Ke-3 .....	85
30. Kadar Glukosa Darah Mencit Pekan Ke-4 .....	85
31. Uji ANOVA Kadar Glukosa Darah Mencit Setelah Perlakuan.....	95

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Kelor .....	4
2. Struktur Kimia Flavonoid.....	6
3. Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) .....	8
4. Struktur Kimia Aloksan .....	9
5. Struktur Kimia Glibenklamid .....	10
6. Diagram Alir Uji <i>in vivo</i> .....	30
7. Diagram Alir Uji <i>in silico</i> .....	31
8. Ekstrak Kental Metanol Daun Kelor.....	33
9. Hasil Identifikasi Flavonoid .....	33
10. Reaksi Uji Flavonoid .....	34
11. Hasil Ekstraksi Cair-cair .....	35
12. Hasil KLT .....	36
13. Hasil KLTP.....	37
14. Filtrat Hasil KLTP .....	37
15. Spektrum UV-Vis .....	38
16. Spektrum IR.....	39
17. Kromatogram Filtrat Hasil KLTP.....	41
18. Spektrum Massa.....	43
19. Protein 3KC0 .....	45
20. Preparasi 3KC0 .....	45
21. Validasi Metode <i>Docking</i> .....	46
22. Hasil <i>Docking</i> Myricetin .....	48

23. Hasil <i>Docking</i> Hesperidin .....	49
24. Hasil <i>Docking</i> Kuersetin .....	51
25. Hasil <i>Docking</i> Glibenklamid .....	52
26. Grafik Rerata Hasil Pengukuran Berat Badan Mencit Jantan ( <i>Mus musculus</i> ) .....	64
27. Grafik Rerata Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan ( <i>Mus musculus</i> ).....	66
28. Preparasi Sampel Ekstrak Daun Kelor .....	98
29. Uji Aktivitas Antidiabetes .....	99

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah (hiperglikemia) karena gangguan sekresi insulin atau resistensi insulin. DM dapat berasal dari faktor genetik maupun faktor pengaruh lingkungan. Penyakit ini memiliki gejala klinis seperti banyak minum (polidipsia), banyak kencing (poliuria), banyak makan (polifagia), kelelahan yang parah dan penglihatan kabur atau memburuk. Hiperglikemia yang berlangsung lama dapat berkembang mengakibatkan gangguan metabolisme yang berbahaya bahkan kematian (Masharani, 2011; Powers, 2008). Berdasarkan data *World Health Organization* 70% dari total kematian di dunia disebabkan oleh penyakit DM (WHO, 2016). Penyakit DM dapat dicegah dan diatasi dengan menggunakan obat tradisional yaitu tanaman herbal.

Salah satu jenis tanaman herbal yang digunakan sebagai obat tradisional dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu tanaman kelor (*Moringa oleifera*). Bagian tanaman kelor yang sering digunakan sebagai obat adalah daun dan kulit batang yang dimanfaatkan sebagai antidiabetes (Jaiswal *et al.*, 2009; Pari *et al.*, 2007). Daun kelor memiliki aktivitas antidiabetes yang dikaitkan dengan adanya kandungan senyawa flavonoid (Mthiyane *et al.*, 2022). Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah karena mampu melindungi sel  $\beta$  pankreas sebagai penghasil insulin dan dapat membantu merangsang sekresi insulin (Novalinda dkk., 2021).

Pengujian potensi senyawa flavonoid sebagai antidiabetes dapat dilakukan secara *in silico* (pemodelan komputer) yaitu dengan metode *molecular docking* atau penambatan molekul. Metode *molecular docking* atau penambatan molekul dilakukan karena biaya yang murah dan cepat (Pinzi dan Rastelli, 2019). Penelitian sebelumnya, *molecular docking* senyawa flavonoid yaitu flavon, flavanol dan kalkon sebagai antidiabetes dilakukan oleh Mulyati dan Panjaitan (2021) dan menunjukkan senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antidiabetes. *Molecular docking* senyawa-senyawa metabolit sekunder daun kelor sebagai antidiabetes juga pernah dilakukan oleh Rendi *et al.* (2021), kelemahan pada penelitiannya yaitu senyawa-senyawa metabolit sekunder yang digunakan diperoleh hanya berdasarkan literatur. *Molecular docking* khususnya senyawa turunan flavonoid daun kelor sebagai antidiabetes belum pernah dilakukan sebelumnya, oleh karena itu pada penelitian ini dilakukan *molecular docking* terhadap senyawa turunan flavonoid yang diperoleh dari ekstrak daun kelor sebagai antidiabetes dengan protein 3KC0.

Aktivitas antidiabetes juga dapat diketahui secara *in vivo* menggunakan hewan coba. Berdasarkan penelitian sebelumnya, uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kelor terhadap kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan telah dilakukan oleh Rizqi dkk. (2018) dan menunjukkan dosis optimal yaitu 100 mg/kg BB dengan persentase penurunan kadar glukosa darah yaitu 69,94%. Penelitian yang telah dilakukan Anwar *et al.* (2021), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar jantan. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa dosis efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar jantan yaitu 100 mg/kg BB. Namun, pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, belum diketahui jenis senyawa flavonoid dalam daun kelor yang berpotensi sebagai antidiabetes berdasarkan *molecular docking*.

Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan *molecular docking* atau penambatan molekul senyawa turunan flavonoid daun kelor dan uji aktivitas antidiabetes ekstrak metanol daun kelor terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi aloksan.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mendapatkan ekstrak metanol daun kelor (*Moringa oleifera*) dan karakteristik senyawa flavonoid yang didapatkan.
2. Menentukan jenis senyawa turunan flavonoid daun kelor yang berpotensi sebagai antidiabetes berdasarkan *molecular docking*.
3. Menentukan farmakokinetik senyawa turunan flavonoid daun kelor berdasarkan *Protox*, *Lipinski Rule of Five* dan SwissADME.
4. Menentukan aktivitas antidiabetes dan dosis optimal ekstrak daun kelor dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari hasil penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui jenis senyawa turunan flavonoid daun kelor yang dapat berpotensi sebagai antidiabetes.
2. Memberikan informasi mengenai pemanfaatan daun kelor sebagai antidiabetes yang dapat menurunkan kadar glukosa darah.



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*)

Tanaman kelor termasuk dalam famili Moringaceae yang tumbuh di daerah tropis dan subtropis seperti Sri Lanka, Vietnam, Thailand, India, Malaysia dan Indonesia, serta dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat-obatan tradisional, makanan ternak dan makanan tradisional (Stohs *et al.*, 2016). Tanaman kelor memiliki nama atau sebutan di daerah yang berbeda antara lain murong (Aceh), kero, wori, kelo, keloro (Sulawesi), kawona (Sumbawa), kelor (Sunda dan Melayu), kelo (Ternate), meronggih (Madura), dan munggai (Minang). Tanaman ini juga memiliki berbagai nama atau sebutan di negara yang berbeda yaitu saijan (Pakistan), kacang kelor (Malaysia), murunga (Sri Lanka), malunkai (Philipina), lamu (Taiwan), sandalo (Italia), Behenbaum (Jerman), drumstick tree (Inggris), kelor (Indonesia), dan marum (Thailand) (Kurniasih, 2013). Tanaman kelor mengandung banyak nutrisi dengan kadar protein 27%, vitamin A dan C, kalsium, zat besi, fosfor, polisakarida, glikosida, asam amino, serta kandungan polifenol lainnya (Gaikwad *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian Dwipayana dkk. (2018) senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun kelor yaitu flavonoid, alkaloid, triterpenoid, steroid, tanin dan saponin. Bagian daun tanaman kelor dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Tanaman Kelor

### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi tanaman kelor sebagai berikut (Stenis, 2008):

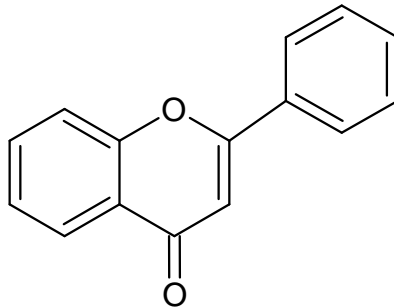
Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: <i>Moringa</i>
Spesies	: <i>Moringa oleifera</i>

### 2.1.2 Khasiat Tanaman

Tanaman kelor memiliki banyak manfaat yang cukup beragam. Tanaman ini biasanya ditanam sebagai sayur dan tanaman pagar, dapat juga dimanfaatkan sebagai pakan ternak, serta sebagai obat-obatan. Akar kelor dimanfaatkan untuk menyembuhkan nyeri, rematik, penyakit asma dan sariawan. Kulit akarnya juga mampu mengatasi pembengkakan dan sariawan. Kulit batangnya digunakan untuk pelancar haid, flu dan sariawan. Daun kelor dapat digunakan dalam penyembuhan pembengkakan limpa, penurun gula darah (hipoglikemik), meningkatkan nafsu makan, menangani anemia, panas dalam dan mempelancar air susu ibu. Berbagai penelitian yang telah dilakukan seperti antioksidan, urolitiasis, hepatoprotektor, immunomodulator, hipokolesterolemik (penurun kolesterol) (Mardiana, 2013), sebagai obat malaria, antiinflamasi, penyembuh luka, antiasma, antiarthritis, analgesik, antitiroid, antimikroba, antitumor, antiulser, antipiretik, anafilaksis, antifertilitas, antiplasmodial dan antihipertensi (Pandey *et al.*, 2012).

### 2.1.3 Flavonoid Daun Kelor

Flavonoid dalam ekstrak daun kelor mampu melindungi sel  $\beta$ -pankreas sehingga sekresi insulin meningkat dan resistensi insulin menurun. Aktivitas hipoglikemik daun kelor disebabkan karena adanya senyawa flavonoid seperti kuersetin dan kaempferol (Adeeyo *et al*, 2013). Struktur kimia senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Struktur Kimia Flavonoid

Senyawa flavonoid, terutama senyawa kuersetin merupakan penghambat yang kuat terhadap GLUT 2 (transport glukosa) pada mukosa usus sehingga absorpsi glukosa dapat diturunkan. Pengurangan glukosa dan fruktosa yang diserap dari usus ini menyebabkan kadar glukosa darah turun. Berdasarkan mekanisme tersebut dapat diasumsikan bahwa penghambatan GLUT 2 (transport glukosa) pada usus dapat menjadi terapi dalam mengontrol kadar glukosa dalam darah (Toby dkk., 2020). Gugus hidroksil (-OH) yang terdapat dalam flavonoid memiliki peran penting dalam menghambat enzim glukosidase. Gugus tersebut akan berinteraksi dengan enzim glukosidase sehingga aktivitas enzim akan terhambat (Melo *et al.*, 2006). Penghambatan enzim glukosidase dapat membatasi kadar glukosa darah dengan memperlambat atau menunda proses hidrolisis dan absorpsi karbohidrat sehingga penghambatan enzim ini dapat berguna untuk terapi diabetes (Lebovitz, 1997).

## 2.2 Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah suatu penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi batas normal. Gangguan metabolisme ini dapat disebabkan secara genetik maupun klinis berupa hilangnya toleransi karbohidrat. Diabetes melitus ditandai dengan hiperglikemia puasa dan postprandial, penyakit vaskular mikroangiopati dan aterosklerosis yang ditandai dengan terjadinya gangguan dalam mekanisme metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, serta dihubungkan dengan menurunnya kerja sekresi insulin (Fatimah, 2015).

Glukosa adalah karbohidrat berupa gula monosakarida paling penting yang banyak diserap ke dalam aliran darah sebagai suatu glukosa dan gula lain yang diubah menjadi glukosa dalam hati. Bahan bakar dalam jaringan tubuh yang utama yaitu glukosa yang berfungsi sebagai penghasil energi serta merupakan produk akhir dan sumber utama bagi organisme hidup yang fungsinya dikontrol oleh insulin (Amir dkk., 2015). Penyakit diabetes melitus dipengaruhi oleh kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah sewaktu yang meningkat  $\geq 200$  mg/dL dapat disertai dengan gejala polidipsia, polifagia, poliuria dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Istilah kadar glukosa darah menggambarkan tingkat glukosa yang ada di dalam darah. Konsentrasi glukosa darah atau tingkat glukosa dalam serum dikontrol dengan baik di dalam tubuh.

Seseorang menderita diabetes jika nilai kadar glukosa darah puasa  $>126$  mg/dL dan kadar glukosa darah sewaktu  $>200$  mg/dL. Setiap hari, kadar glukosa darah dapat berubah-ubah, kadar glukosa darah akan meningkat setelah makan dan akan kembali normal setelah 2 jam. Kadar glukosa darah normal di pagi hari setelah malam sebelumnya berpuasa yaitu 70-110 mg/dL darah. Kadar glukosa darah biasanya  $<120$ -140 mg/dL saat 2 jam setelah makan atau minum dengan kandungan gula ataupun karbohidrat lainnya, kadar gula darah sewaktu memiliki nilai normal berkisar antara 80-180 mg/dL (PERKENI, 2015).

Penyakit diabetes biasanya muncul tanpa gejala, tetapi ada beberapa gejala yang perlu untuk diwaspadai sebagai tanda atau ciri-ciri adanya penyakit diabetes. Gejala diabetes ditandai dengan polidipsia, poliuria serta penurunan berat badan walaupun terjadi peningkatan nafsu makan (polifagia), penglihatan kabur, terganggunya koordinasi gerak anggota tubuh, kesemutan tangan atau kaki, seringkali muncul gatal-gatal yang sangat mengganggu (pruritus) dan menurunnya berat badan tanpa sebab yang jelas (Muchid, 2005).

### **2.3 Mencit (*Mus musculus*)**

Mencit (*Mus musculus*) termasuk mamalia pengerat yang cepat berkembang biak. Mencit memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari. Mencit telah banyak dipergunakan sebagai hewan percobaan dalam penelitian karena siklus hidupnya yang relatif pendek, jumlah anak per kelahirannya banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, dan sifat anatomis dan fisiologisnya terdeteksi baik (Tolistiawaty dkk., 2014). Mencit dapat hidup di berbagai daerah mulai dari iklim dingin, sedang maupun panas dan dapat hidup di kandang maupun bebas sebagai hewan liar. Mencit liar lebih suka dengan suhu lingkungan yang tinggi maupun pada suhu rendah, mencit dapat beradaptasi dengan baik (Pribadi, 2008). Mencit jantan secara umum digunakan sebagai hewan uji karena mencit jantan memiliki kondisi hormonal yang lebih stabil dibanding mencit betina, selain itu mencit jantan juga tidak mengalami siklus estrus, masa kehamilan serta menyusui yang mempengaruhi psikologis hewan uji. Mencit jantan dengan usia 2-3 bulan merupakan mencit dewasa muda yang memiliki keadaan fisiologik yang optimum (Indrawati dkk., 2015). Hewan uji mencit dapat dilihat pada Gambar 3.



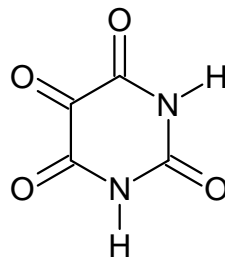
**Gambar 3.** Mencit (*Mus musculus*)

Klasifikasi mencit adalah sebagai berikut (Kartika dkk., 2017):

Kingdom : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Mamalia  
Ordo : Rodentia  
Famili : Muridae  
Genus : *Mus*  
Spesies : *Mus musculus*

## 2.4 Aloksan

Aloksan (2, 4, 5, 6-tetraoksipirimidin; 5, 6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil (Endro, 2006). Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik) (Rohilla dan Shahjad, 2012), dan sering digunakan untuk penelitian diabetes menggunakan hewan coba. Aloksan dapat menghasilkan radikal hidroksil yang sangat reaktif dan dapat menyebabkan diabetes pada hewan coba (Herra dan Haidi, 2005). Aloksan sebagai diabetogenik dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Endro, 2006). Struktur kimia aloksan ditunjukkan pada Gambar 4.



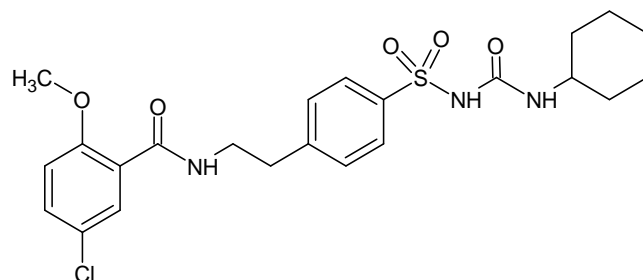
**Gambar 4.** Struktur Kimia Aloksan

Metode yang paling potensial untuk menginduksi hewan eksperimental diabetes melitus adalah dengan cara induksi aloksan. Pemberian aloksan adalah cara yang

cepat untuk menghasilkan kondisi diabetes eksperimental pada binatang percobaan. Aloksan dapat menyebabkan diabetes melitus tergantung insulin pada binatang tersebut dengan karakteristik mirip dengan diabetes melitus tipe 1 pada manusia. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin. Pemberian aloksan setelah 24-48 jam, integritas sel-sel  $\beta$  menghilang dan terjadi degranulasi yang menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia yang permanen. Terjadi destruksi secara morfologi dan nekrosis pada sel beta pankreas yang *irreversible* (Rohilla dan Shahjad, 2012). Aksi sitotoksik aloksan pada sel beta pankreas dimediasi oleh radikal bebas melalui reaksi redoks, homeostasis kalsium intraseluler yang terganggu, dan inhibisi enzim glukokinase (Endro, 2006; Rohilla dan Shahjad, 2012).

## 2.5 Glibenklamid

Glibenklamid merupakan obat diabetes melitus yang bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin (Krentz dan Bailey, 2005). Menurut Jones dan Hattersley (2010), pengobatan dengan menggunakan glibenklamid secara oral disarankan bagi penderita diabetes akibat kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Cing (2010) telah membuktikan secara histopatologis bahwa terapi glibenklamid memiliki efek memperbaiki kelenjar pankreas yang rusak lebih baik dari obat tradisional. Glibenklamid dapat memicu laju absorpsi glukosa gastrointestinal dan meningkatkan kadar sekresi insulin plasma, bahkan pada saat kadar glukosa plasma darah berada di bawah ambang sekresi insulin, hal inilah yang memicu kelaparan dan pada akhirnya menyebabkan kenaikan berat badan bagi para pengonsumsinya (Krentz dan Bailey, 2005). Struktur kimia glibenklamid ditunjukkan pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Struktur Kimia Glibenklamid

Glibenklamid akan lebih efektif bila diminum 30 menit sebelum makan untuk mencapai kadar optimal di plasma. Obat ini cepat diserap dalam saluran pencernaan, memiliki waktu paruh sekitar 4 jam, dalam plasma, sekitar 90-99% terikat pada protein plasma, terutama albumin, meskipun waktu paruhnya pendek, namun efek hipoglikemiknya berlangsung selama 12-24 jam sehingga cukup diberikan satu kali sehari sekitar 50% dari dosis diekskresikan dalam urin dan 50% melalui empedu ke tinja. Dosis awal untuk diabetes melitus tipe 2 adalah 2,5-5 mg setiap hari, disesuaikan setiap 7 hari dengan penambahan sebesar 2,5 atau 5 mg sehari sampai 15 mg perhari (Suherman, 2007).

## **2.6 Maserasi**

Maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Prinsip kerja dari maserasi adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Pelarut yang digunakan akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel simplisia yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang berada di dalam sel mengandung zat aktif sementara pelarut yang berada di luar sel belum terisi zat aktif, sehingga terjadi ketidakseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam sel dengan konsentrasi zat aktif di luar sel. Perbedaan konsentrasi ini mengakibatkan terjadinya proses difusi, dimana larutan dengan konsentrasi tinggi akan terdesak keluar sel dan digantikan oleh pelarut dengan konsentrasi rendah. Peristiwa ini terjadi berulang-ulang sampai didapat suatu kesetimbangan konsentrasi larutan antara di dalam sel dengan konsentrasi larutan di luar sel (Marjoni, 2016).

## **2.7 Ekstraksi Cair-cair**

Ekstraksi cair-cair atau yang dikenal dengan ekstraksi *solvent* merupakan proses pemisahan fasa cair yang memanfaatkan perbedaan kelarutan zat terlarut yang



akan dipisahkan antara larutan asal dan pelarut pengestrak (*solvent*). Prinsip dasar ekstraksi cair-cair ini melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut (*solvent*) lain yang tidak saling melarut (*immisible*) dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fasa beberapa saat setelah penambahan *solvent*. Hal ini menyebabkan terjadinya perpindahan massa dari pelarut asal ke pelarut pengestrak (*solvent*). Perpindahan zat terlarut ke dalam pelarut baru yang diberikan disebabkan oleh adanya daya dorong (*dirving force*) yang muncul akibat adanya beda potensial kimia antara kedua pelarut, sehingga proses ekstraksi cair-cair merupakan proses perpindahan massa yang berlangsung secara difusional (Laddha dan Degaleesan, 1978).

## 2.8 Uji Skrining Fitokimia

Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa kimia di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, tanin, saponin, triterpenoid, dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder merupakan senyawa kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

Analisis fitokimia atau uji fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui keberadaan senyawa kimia spesifik seperti alkaloid, senyawa fenol (termasuk flavonoid), steroid, saponin, dan terpenoid tanpa menghasilkan penapisan biologis. Uji ini sangat bermanfaat untuk memberikan informasi jenis senyawa kimia yang terdapat pada tumbuhan. Senyawa-senyawa ini merupakan metabolit sekunder yang mungkin dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat. Analisis ini merupakan tahapan awal dalam isolasi senyawa bahan alam sehingga menjadi panduan bersama-sama dengan uji aktivitas biologis senyawa tersebut. Salah satu tujuan pengelompokan senyawa-senyawa aktif ini adalah untuk mengetahui hubungan biosintesis dan famili tumbuhan. Informasi ini sangat berguna bagi ahli sintesis kimia organik untuk memprediksi atau

mengubah substituen senyawa aktif tersebut sehingga dapat lebih berkhasiat. Tanaman yang diuji fitokimianya dapat berupa tanaman segar, kering yang berupa rajangan, serbuk, ekstrak atau dalam bentuk sediaan.

Uji fitokimia dilakukan berdasarkan pada reaksi yang menghasilkan warna atau endapan. Uji warna sederhana dan reaksi tetes selama bertahun-tahun dikembangkan untuk menunjukkan adanya senyawa tertentu atau golongan tertentu karena sudah terbukti khas dan peka. Uji fitokimia masih sering digunakan dalam pencirian senyawa karena mudah dan tidak memerlukan peralatan yang rumit (Rafi, 2003). Berdasarkan hasil penelitian Manek dkk. (2020), menunjukkan hasil uji fitokimia ekstrak daun kelor mengandung senyawa aktif alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid, namun tidak terdapat saponin dan steroid. Hasil ini dapat dipengaruhi karena jumlah senyawa tidak cukup dalam ekstrak yang diuji atau keberadaan unsur hara pada tanah yang mempengaruhi keberadaan senyawa kimia pada tanaman tersebut.

## **2.9 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu kromatografi yang berdasarkan proses adsorpsi. Lapisan yang memisahkan terdiri atas fase diam dan fase gerak. Fase diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapiskan pada lempeng kaca atau aluminium, jika fase diam berupa silika gel maka bersifat asam, jika fase diam alumina maka bersifat basa. Fase gerak yang digunakan umumnya merupakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik (Gritter *et al.*, 1991).

Prinsip dari metode KLT adalah sampel ditotolkan pada lapisan tipis (fase diam) kemudian dimasukkan kedalam wadah yang berisi fase gerak (eluen) sehingga sampel tersebut terpisah menjadi komponen-komponennya. Salah satu fase diam yang paling umum digunakan adalah silika gel  $F_{254}$  yang mengandung indikator flourosensi ditambahkan untuk membantu penampakan bercak tanpa warna pada lapisan yang dikembangkan. Fase gerak terdiri dari satu atau beberapa pelarut

(dengan perbandingan volume total 10) yang akan membawa senyawa yang mempunyai sifat yang sama dengan pelarut tersebut (Gritter *et al.*, 1991; Stahl, 1985; Nyiredy, 2002). Identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada kromatografi lapis tipis dapat menggunakan harga Rf (*Retardation factor*) yang menggambarkan jarak yang ditempuh suatu komponen terhadap jarak keseluruhan yang terdapat pada rumus berikut (Nirwana dkk., 2015).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

Nilai Rf dapat dijadikan bukti dalam mengidentifikasi suatu senyawa. Senyawa-senyawa dengan nilai Rf yang sama atau hampir sama dapat menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang sama atau mirip (Peter, 2010). Harga maksimum Rf adalah 1, sampel bermigrasi dengan kecepatan sama dengan eluen. Harga minimum Rf adalah 0, dan ini teramati jika sampel tertahan pada posisi titik awal dipermukaan fase diam. Harga-harga Rf untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Perlu diperhatikan bahwa harga-harga Rf yang diperoleh hanya berlaku untuk campuran tertentu dari pelarut dan penyerap yang digunakan. Nilai Rf sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu, hal tersebut dapat digunakan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Senyawa yang mempunyai Rf lebih besar berarti mempunyai kepolaran yang rendah, begitu juga sebaliknya, hal tersebut dikarenakan fasa diam bersifat polar. Senyawa yang lebih polar akan tertahan kuat pada fasa diam, sehingga menghasilkan nilai Rf yang rendah (Gandjar dan Rohman, 2012).

## **2.10 Karakterisasi Senyawa**

### **2.10.1 Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer UV-Vis bermanfaat untuk penentuan konsentrasi senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200-400 nm) atau daerah sinar tampak (400-800 nm). Biasanya cahaya tampak merupakan campuran dari cahaya yang mempunyai berbagai panjang gelombang ( $\lambda$ ) dari 400-800 nm (Tahir, 2008).

Spektrofotometri merupakan metode pengukuran yang didasarkan pada interaksi radiasi elektromagnetik dengan materi berupa molekul, akibat dari interaksi ini menyebabkan energi diserap dan dipancarkan oleh molekul dan dihubungkan pada konsentrasi analit dalam larutan. Prinsip dasar dari spektrofotometri UV-Vis adalah ketika molekul menyerap radiasi UV atau *visible* 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 (Rudi dkk., 2004). 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). Analisis spektrofotometri UV-Vis ini pada dasarnya dilakukan dengan memperhatikan adanya sistem karbonil yang berkonjugasi dengan cincin aromatik pada suatu flavonoid. Hal ini yang menyebabkan senyawa flavonoid dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu di daerah ultraviolet (UV). Senyawa flavonol mempunyai serapan di daerah UV-Vis pada dua panjang gelombang, yaitu sekitar 350-385 nm pada pita I dan sekitar 250-280 nm pada pita II (Markham, 1998).

### **2.10.2 Spektrofotometer FTIR**

Spektrofotometer FTIR biasa digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi suatu senyawa. Prinsip dari spektrofotometer FTIR adalah ketika molekul dari suatu senyawa diberikan energi radiasi inframerah, maka molekul tersebut akan mengalami vibrasi dengan syarat energi yang diberikan terhadap molekul cukup untuk mengalami vibrasi. Sejumlah frekuensi energi yang diperoleh sebagian akan diserap, sedangkan yang lain diteruskan atau ditransmisikan tanpa diserap. Hasil dari persen transmittan dengan frekuensi akan menghasilkan spektrum inframerah (Sastrohamidjojo, 1991). Berikut gugus fungsi beserta daerah frekuensi spektrum inframerah ditunjukkan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Daerah Frekuensi Gugus Fungsi Spektrum Inframerah (IR) (Silverstein *et al.*, 2005).

Gugus Fungsi	Tipe Senyawa	Daerah Frekuensi (cm <sup>-1</sup> )
C-H	Alkana	2850-2970
		1340-1470
	Alkena	3010-3095
		675-995
	Alkuna	3300
Cincin aromatik	3010-3100 690-900	
O-H	Fenol, monomer alkohol, alcohol	3590-3650
	Ikatan hidrogen, fenol	3200-3600
	Monomer asam karboksilat	3500-3650
	Ikatan hidrogen asam karboksilat	2500-2700
N-H	Amina, amida	3300-3500
C=C	Alkena	1610-1680
	Cincin aromatik	1500-1600
C≡C	Alkuna	2100-2260
C-N	Amina, amida	1180-1360
C≡N	Nitril	2210-2280
C-O	Alkohol, eter, asam karboksilat, ester	1050-1300
C=O	Aldehid, keton, asam karboksilat, ester	1690-1760
NO <sub>2</sub>	Senyawa nitro	1500-1570
		1300-1370

### 2.10.3 *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry (LC-MS)*

*Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry (LC-MS)* berfungsi untuk memisahkan beberapa senyawa atau campuran senyawa berdasarkan kepolarannya (prinsip kerja kromatografi), dimana setelah campuran senyawa tersebut terpisah, maka senyawa yang murni akan diidentifikasi berat molekulnya. Data yang didapatkan adalah berat molekul ditambah beberapa muatan dan berat

molekul pelarut (Agilent Technologies, 2001). LC-MS dapat digunakan pada sebagian besar senyawa yang tak volatil dan senyawa yang berbobot molekul besar. Pemakaian spektrofotometer massa dalam kromatografi kolom memungkinkan pengukuran bobot dalam molekul pada komponen senyawa murni atau campuran (Gritter *et al.*, 1991).

Spektrofotometer massa dalam LC-MS digunakan terutama untuk membantu mengidentifikasi senyawa organik yang belum diketahui identitasnya maupun meyakinkan identitas suatu senyawa organik. Umumnya spektrum massa diperoleh dengan mengubah suatu senyawa menjadi ion-ion yang bergerak cepat yang dipisahkan berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan.

Spektrofotometer massa mampu menghasilkan berkas ion dari suatu zat uji, memilah ion tersebut menjadi spektrum yang sesuai dengan perbandingan massa terhadap muatan dan merekam kelimpahan relatif tiap jenis ion yang ada.

Umumnya hanya ion positif yang dipelajari karena ion negatif yang dihasilkan dari sumber tumbukan biasanya jumlahnya sedikit (Pavia, 2006).

### **2.11 *Molecular Docking***

*Molecular docking* atau penambatan molekul merupakan ilmu yang mempelajari tentang bagaimana dua atau lebih struktur dari suatu molekul dapat berikatan satu sama lain. *Molecular docking* digunakan untuk memprediksi interaksi yang terjadi antar dua molekul atau lebih (Dar dan Mir, 2017). Prinsip dalam penambatan molekul yaitu dengan menambatkan ligan pada bagian sisi aktif reseptor suatu protein sehingga muncul interaksi yang dapat dianalisis (Kroemer, 2003).

Penambatan molekul membantu dalam mempelajari interaksi obat atau ligan dan reseptor atau protein 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).

## **2.12 Perangkat Lunak Simulasi Docking**

### **2.12.1 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).

### **2.12.2 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).

## **2.13 Penentuan Farmakokinetik**

### **2.13.1 Lipinski Rule of Five**

*Lipinski Rule of Five* atau disebut juga *Pfizer Rule of Five* atau *Rule of Five* (RO5) merupakan 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 absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME). Syarat suatu senyawa kimia sebagai kandidat obat antara lain (Lipinski *et al.*, 2004):

1. Berat molekul kurang dari 500
2. Memiliki tidak lebih dari 5 ikatan hidrogen donor

3. Memiliki tidak lebih dari 10 ikatan hidrogen akseptor
4. Nilai logP tidak lebih dari 5
5. *Molar refractivity* sebaiknya diantara 40 hingga 130

### 2.13.2 SwissADME

SwissADME adalah *software* berbasis web yang digunakan untuk mengukur dan mengetahui sifat-sifat fisika dan kimia dengan parameter ADME, sifat farmakokinetik serta sifat kemiripan obat dari satu senyawa atau lebih. Kelebihan dari *software* ini adalah penggunaan dan hasil analisisnya mudah serta dapat diakses secara gratis (Daina *et al.*, 2017). SwissADME digunakan untuk mengetahui tingkat kemiripan dengan melihat nilai farmakokinetik senyawa aktif saat masuk dalam tubuh. ADME merupakan fase farmakokinetik suatu senyawa aktif dalam tubuh yang meliputi penyerapan (absorpsi), kemudian tersebar ke seluruh jaringan tubuh melalui darah (distribusi) dan dimetabolisis oleh organ-organ tertentu terutama hati (biotransformasi), selanjutnya sisa atau hasil metabolisme ini dikeluarkan dari tubuh melalui ekskresi (eliminasi) (Garcia *et al.*, 2008).

Kriteria pada penentuan farmakokinetik ini dilihat dari nilai HIA (*Human Intestinal Absorption*) yang menunjukkan kemampuan dalam mengabsorpsi obat di usus untuk memprediksi tingkat absorpsi suatu obat, selain itu nilai PPB (*Plasma Protein Binding*) juga diperhatikan karena merupakan parameter distribusi yang diprediksi berdasarkan keterikatannya dengan protein plasma. Berikut 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



### 2.13.3 Toksisitas

Uji toksisitas pada penelitian ini dilakukan menggunakan *software protox* yang 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 sebagai berikut (El-Din *et al.*, 2016).

- a. Kelas 1 : Sangat 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 ( $LD_{50} > 5000$ )

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2022-Februari 2023. Ekstraksi daun kelor dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi menggunakan instrumen spektrofotometer UV-Vis dilaksanakan di Laboratorium Kimia Anorganik-Fisik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilaksanakan di UPT-LTSIT FMIPA Universitas Lampung dan *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry* (LC-MS) dilaksanakan di Pusat Laboratorium Forensik Bogor. Simulasi *molecular docking* dilakukan di Universitas Lampung. Uji 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 *blender*, wadah penyimpanan maserasi, satu set alat destilasi, *rotary evaporator*, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur, glukometer, strip glukosa, spuit 1 cc, jarum sonde, alat suntik, neraca, corong pisah, corong kaca, gelas beaker, spatula, satu set alat klt analitik dan klt preparatif, tabung sentrifus, sentrifus, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR dan alat *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry* (LC-MS). *Software* yang digunakan dalam simulasi *docking* yaitu *Autodock Tools* dan *Discovery Studio Visualizer 2021*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun kelor yang diambil dari daerah Pringsewu, glibenklamid, kuersetin, akuades, metanol, n-heksana, etil asetat, Na-CMC 1%, alkohol *swabs*, aloksan, HCl pekat, serbuk Mg dan kertas saring. Bahan yang digunakan dalam simulasi *docking* yaitu protein 3KC0 yang diunduh di *website* RCSB PDB, ligan senyawa uji, serta *website* yang digunakan untuk penentuan farmakokinetik meliputi *Lipinski Rule of Five*, SwissADME dan protox.

### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Preparasi dan Pembuatan Ekstrak Sampel**

Tahap pertama preparasi, daun kelor yang diambil di daerah Pringsewu sebanyak 3kg dicuci bersih lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan saja agar kandungan flavonoid yang terkandung dalam daun kelor tidak rusak, untuk menghasilkan daun kelor yang benar-benar kering dibutuhkan waktu selama 5 hari. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk simplisia.

Tahap kedua yaitu pembuatan ekstrak, metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Serbuk daun kelor ditambahkan pelarut metanol dengan perbandingan serbuk:pelarut yaitu 1:4, dimasukkan ke dalam toples, ditutup dan dibiarkan selama 3x24 jam dan terlindung dari sinar matahari, setiap 1x24 jam dilakukan pengadukan dan penyaringan. Campuran disaring sehingga didapat maserat dan diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental.

#### **3.3.2 Identifikasi Flavonoid**

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan metode skrining fitokimia. Ekstrak kental dilarutkan terlebih dahulu menggunakan pelarut metanol. Pereaksi yang digunakan dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid adalah pereaksi Wilsatater (HCl pekat dan serbuk Mg). Sampel sebanyak 1 ml ditambahkan dengan beberapa tetes HCl pekat dan sedikit serbuk magnesium (Mg). Reaksi positif jika terjadi perubahan warna menjadi merah hingga jingga (Putra dkk., 2016).

### 3.3.3 Pemisahan Senyawa

#### 3.3.3.1 Ekstraksi Cair-Cair (Partisi)

Ekstraksi cair-cair pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol dan n-heksana. Kedua pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, metanol bersifat polar dan n-heksana bersifat non polar dengan tujuan memisahkan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya dengan prinsip “*like dissolved like*”. Ekstrak sampel sebanyak 30 gram dilarutkan dengan 50 mL metanol lalu ditambahkan dengan 50 mL n-heksana ke dalam corong pisah. Campuran yang terbentuk kemudian dikocok dan dibuang gasnya, kemudian dipisahkan antara fraksi metanol dan fraksi n-heksana.

#### 3.3.3.2 Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui pola pemisahan senyawa yang terdapat pada sampel. Ekstrak kental selanjutnya dipisahkan dengan KLT menggunakan plat silika F<sub>254</sub> sebagai fase diam dan eluen sebagai fase gerak. Penentuan eluen dilakukan dengan cara “*trial error*” sehingga didapatkan eluen yang memberikan pola pemisahan terbaik. Eluen tersebut dijenuhkan dalam chamber yang tertutup.

Plat KLT dengan panjang 4 cm dibuat garis lurus 0,5 cm dari garis bawah dan 0,5 cm dari garis atas. Fraksi sampel dan standar ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada batas bawah plat KLT, kemudian dimasukkan ke dalam chamber yang eluennya telah dijenuhkan sebelumnya. Plat KLT diletakkan dalam chamber dengan posisi berdiri dan dengan kemiringan 50<sup>0</sup> dari dinding chamber. Chamber ditutup dan plat KLT dibiarkan terelusi hingga batas atas. Plat KLT dikeluarkan lalu dibiarkan mengering dan noda yang terbentuk diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Apabila bercak noda tak terlihat, maka semprotkan plat menggunakan serum sulfat (penampak noda), dikeringkan dan dimasukkan dalam oven hingga diperoleh warna noda yang stabil dan terlihat. Penggunaan serum sulfat ini bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan senyawa organik dalam suatu sampel yang ditandai munculnya bercak noda

berwarna kuning. Noda warna yang terbentuk ditandai dan diukur jarak tempuhnya untuk dihitung nilai Rf-nya (Hasma dan Winda, 2019).

Standar yang digunakan pada metode KLT ini adalah kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa golongan flavonoid yang biasanya digunakan sebagai pembanding atau standar dalam identifikasi senyawa flavonoid. Penggunaan standar ini bertujuan untuk mempermudah dalam membandingkan nilai Rf yang dihasilkan antara ekstrak dan standar kuersetin. Nilai Rf yang hampir sama menandakan bahwa ekstrak dan pembanding memiliki karakteristik yang sama. Fraksi sampel yang menunjukkan pemisahan terbaik dengan nilai Rf yang hampir sama dengan standar digunakan untuk pemisahan kromatografi lapis tipis preparatif atau KLTP.

### **3.3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif (KLTP)**

Pada pemisahan dengan KLTP digunakan plat silika  $G_{60}F_{254}$  dengan ukuran 10 cm x 20 cm sebagai fase diam. Plat KLTP dibuat garis lurus 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis atas. Sampel kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah (batas bawah), selanjutnya dielusi dengan menggunakan eluen yang sama pada KLT. Elusi dihentikan setelah terelusi sampai pada garis batas atas. Noda-noda diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil KLTP kemudian diambil dan dilarutkan dengan pelarut metanol. Campuran tersebut kemudian disentrifus untuk memisahkan antara filtrat dan endapan yang merupakan silika. Filtrat yang dihasilkan kemudian digunakan untuk karakterisasi.

## **3.3.4 Karakterisasi Senyawa**

### **3.3.4.1 Ultraviolet–Visible Spectrophotometry (UV-Vis)**

Filtrat hasil KLTP dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis. Filtrat sebanyak 3 mL dimasukkan ke dalam kuvet dan diamati spektrumnya pada panjang gelombang 200-400 nm.

### 3.3.4.2 *Fourier Transform Infrared Spectrophotometry (FTIR)*

Filtrat hasil KLTP dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR dengan panjang gelombang 4000-600  $\text{cm}^{-1}$  dan diamati spektrum yang terbentuk.

### 3.3.4.2 *Liquid Chromatography-Mass Spectrophotometry (LC-MS)*

Filtrat hasil KLTP sebanyak 5  $\mu\text{l}$  diinjeksikan ke alat LC-MS (Merk: Waters, USA) kemudian diamati kromatogram yang terbentuk. Kondisi alat LC-MS yaitu menggunakan *Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)* untuk *system* LC dan ES (*electrospray ionization*) untuk *system* MS. *Column* yang digunakan yaitu C18 (1.8  $\mu\text{m}$  2.1x100 mm) HSS pada temperatur 50°C (*column*) dan 25°C (*room*) dengan MS mode positif.

### 3.3.5 *Simulasi Docking*

#### 3.3.5.1 *Validasi Metode Docking*

##### a. *Preparasi Protein Target (Reseptor) dan Ligan Native*

Protein target diunduh dari database *Protein Data Bank* dengan kode PDB 3KC0, kemudian ligan *native* dipisahkan dari semua komponen dalam kompleks protein menggunakan program *Discovery Studio Visualizer 2021* dan disimpan dalam bentuk file PDB dengan nama ligan.pdb. Kompleks protein 3KC0 dibuka pada program *Discovery Studio Visualizer 2021* kemudian dilakukan penghapusan semua molekul air dan ligan *native*, lalu disimpan dengan nama file reseptor.pdb dalam format PDB.

##### b. *Redocking Ligan Native pada Reseptor*

*Redocking* dilakukan untuk mendapatkan metode *docking* yang valid. Reseptor dan ligan yang telah dipisahkan selanjutnya dipreparasi menggunakan *Autodock Tools*. Simpan file hasil preparasi dengan nama file reseptor.pdbqt dan ligan.pdbqt. Prosedur selanjutnya yaitu menentukan lokasi atau *grid box*. Simpan file hasil penentuan *grid box* dengan nama file grid.gpf. Banyaknya konformasi (*running*) ligan ditentukan dengan melakukan *Genetic Algorithm*. Simpan file jenis dengan nama file dock.dpf.

File *grid* dan *dock* tersebut selanjutnya akan dilakukan validasi metode *docking* dengan cara menjalankan *Run Autogrid* dan *Run Autodock*. *Running* yang telah selesai akan tersimpan dalam file dengan bentuk (.dlg). Metode *docking* dikatakan valid apabila interaksi antara ligan dan reseptor sebagai protein target memberikan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2 Å.

### 3.3.5.2 Docking Senyawa Uji

*Docking* senyawa uji dilakukan dengan prosedur dan pengaturan yang sama seperti metode *redocking* yang telah valid. Semua senyawa uji di-*docking*-kan dengan reseptor sebagai protein target menggunakan program *Autodock Tools*. Hasil *docking* senyawa uji dinyatakan dengan nilai *binding energy* atau energi ikatan. Nilai energi ikatan ditetapkan pada konformasi terbaiknya, yaitu konformasi hasil *docking* dengan nilai energi ikatan paling rendah. Nilai energi ikatan dapat diperoleh dengan cara membuka file dengan format file (.dlg) kemudian klik *control-F* “*lowest energy*” atau dapat juga dengan menggunakan *keyword* “*histogram*”.

### 3.3.5.3 Analisis Hasil Docking dan Visualisasi 2D

Visualisasi 2D dilakukan menggunakan program *Discovery Studio Visualizer* 2021 dengan tujuan memudahkan dalam melihat interaksi ikatan terjadi antara ligan dengan reseptor dalam bentuk 2D. Hasil *docking* dianalisis menggunakan program *Autodock Tools* dan *Discovery Studio Visualizer* 2021. Hasil *docking* dilihat dan dinilai berdasarkan nilai energi ikatan serta interaksi ligan atau senyawa uji dengan reseptor sebagai protein targetnya.

### 3.3.6 Penentuan Farmakokinetik

Senyawa yang memiliki aktivitas antidiabetes yang baik berdasarkan hasil analisis *docking* kemudian diprediksi profil farmakokinetik dan sifat toksisitasnya menggunakan beberapa situs *website* meliputi *Lipinski Rule of Five*, *SwissADME* dan *protox*.

### 3.3.7 Uji Aktivitas Antidiabetes

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan hewan uji dan 3 kali pengulangan. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan berat badan 15-30 gram dan berumur 2-3 bulan. Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang akan digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rancangan Acak Lengkap

Kelompok Perlakuan	Ulangan			Total Ulangan
	1	2	3	
K(+)	K(+) $U_1$	K(+) $U_2$	K(+) $U_3$	3
K(-)	K(-) $U_1$	K(-) $U_2$	K(-) $U_3$	3
K(n)	K(n) $U_1$	K(n) $U_2$	K(n) $U_3$	3
D <sub>1</sub>	D <sub>1</sub> $U_1$	D <sub>1</sub> $U_2$	D <sub>1</sub> $U_3$	3
D <sub>2</sub>	D <sub>2</sub> $U_1$	D <sub>2</sub> $U_2$	D <sub>2</sub> $U_3$	3
D <sub>3</sub>	D <sub>3</sub> $U_1$	D <sub>3</sub> $U_2$	D <sub>3</sub> $U_3$	3
Total Kelompok Perlakuan	6	6	6	18

Keterangan:

K(+) = Kelompok Positif

D<sub>1</sub> = Ekstrak Daun Kelor Dosis 1

K(-) = Kelompok Negatif

D<sub>2</sub> = Ekstrak Daun Kelor Dosis 2

K(n) = Kelompok Normal

D<sub>3</sub> = Ekstrak Daun Kelor Dosis 3

Kelompok perlakuan pada penelitian ini terdiri dari 6 kelompok perlakuan dengan 3 kali pengulangan dan jumlah mencit sebanyak 18 ekor. Rincian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol positif K(+) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi glibenklamid.
- b. Kelompok kontrol negatif K(-) : hanya diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari.



- c. Kelompok kontrol normal K(n) : hanya diberi makan dan air minum secukupnya.
- d. Kelompok dosis 1 (D<sub>1</sub>) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 50 mg/kg BB/hari.
- e. Kelompok dosis 2 (D<sub>2</sub>) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 100 mg/kg BB/hari.
- f. Kelompok dosis 3 (D<sub>3</sub>) : diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak daun kelor dengan dosis 200 mg/kg BB/hari.

Uji aktivitas antidiabetes diawali dengan tahap aklimatisasi hewan uji selama 1 minggu dengan tujuan agar mencit mampu beradaptasi dengan lingkungan disekitarnya. Tahap aklimatisasi ini dilakukan dengan cara mencit diberi pakan standar, air minum yang cukup dan ditempatkan di kandang terpisah masing-masing kandang berisi satu ekor mencit. Tahap kedua yaitu mencit diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari. Penginduksian aloksan ini bertujuan agar mencit mengalami kondisi hiperglikemik. Perlakuan dilakukan setelah mencit diinduksi aloksan atau telah mengalami kenaikan kadar glukosa darah (hiperglikemik). Mencit pada masing-masing kelompok diberikan perlakuan secara oral selama 2 minggu.

Parameter yang diamati yaitu kadar glukosa darah dan berat badan mencit. Pengukuran kadar glukosa darah dan berat badan mencit dilakukan sebanyak 4 kali yaitu:

- a. Tahap pertama dilakukan sebelum mencit diinduksi aloksan atau setelah aklimatisasi (pekan 1).
- b. Tahap kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan (pekan 2).
- c. Tahap ketiga dilakukan pengukuran pada minggu ke-1 setelah mencit diberi perlakuan dosis ekstrak metanol daun kelor (pekan 3).
- d. Tahap keempat dilakukan pengukuran pada minggu ke-2 setelah mencit diberi perlakuan dosis ekstrak metanol daun kelor (pekan 4).

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan menggunakan glukometer. Pengambilan darah mencit dilakukan dengan cara mensterilkan ujung ekor mencit dengan *alcohol swabs* agar tidak terjadi iritasi, kemudian ujung ekor mencit dilukai sedikit hingga darah keluar dan diteteskan pada strip glukometer yang sebelumnya telah dimasukkan ke dalam alat glukometer, setelah itu tunggu selama 10 detik hingga nilai kadar glukosa darah muncul pada layar glukometer. Data hasil pengukuran kadar glukosa darah dan berat badan mencit selanjutnya dianalisis.

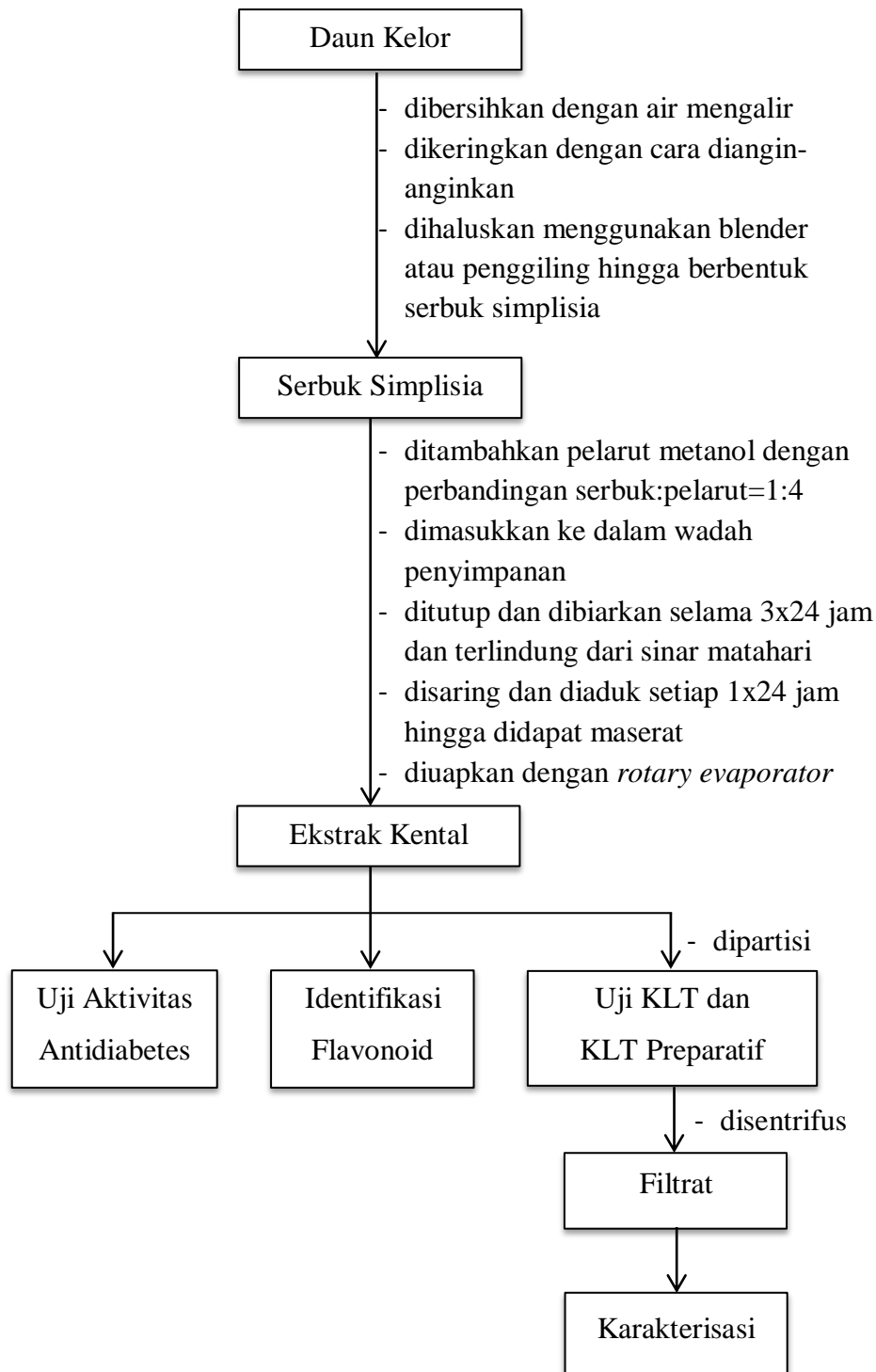
Analisis data hasil pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan cara *Analysis of Variance* (ANOVA). Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan metode statistik *One-way Anova* dan BNT taraf nyata 5% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan. Jika pada uji *One-way Anova* menghasilkan nilai signifikan  $p < 0,05$  (terdapat perbedaan), maka dapat dilanjutkan dengan uji BNT taraf nyata 5% untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan (Dahlan, 2008). Penurunan kadar glukosa darah yang menunjukkan aktivitas antidiabetes dinyatakan sebagai %GL. Rumus perhitungan %GL sebagai berikut (Budiasih dan Pertiwi, 2016):

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

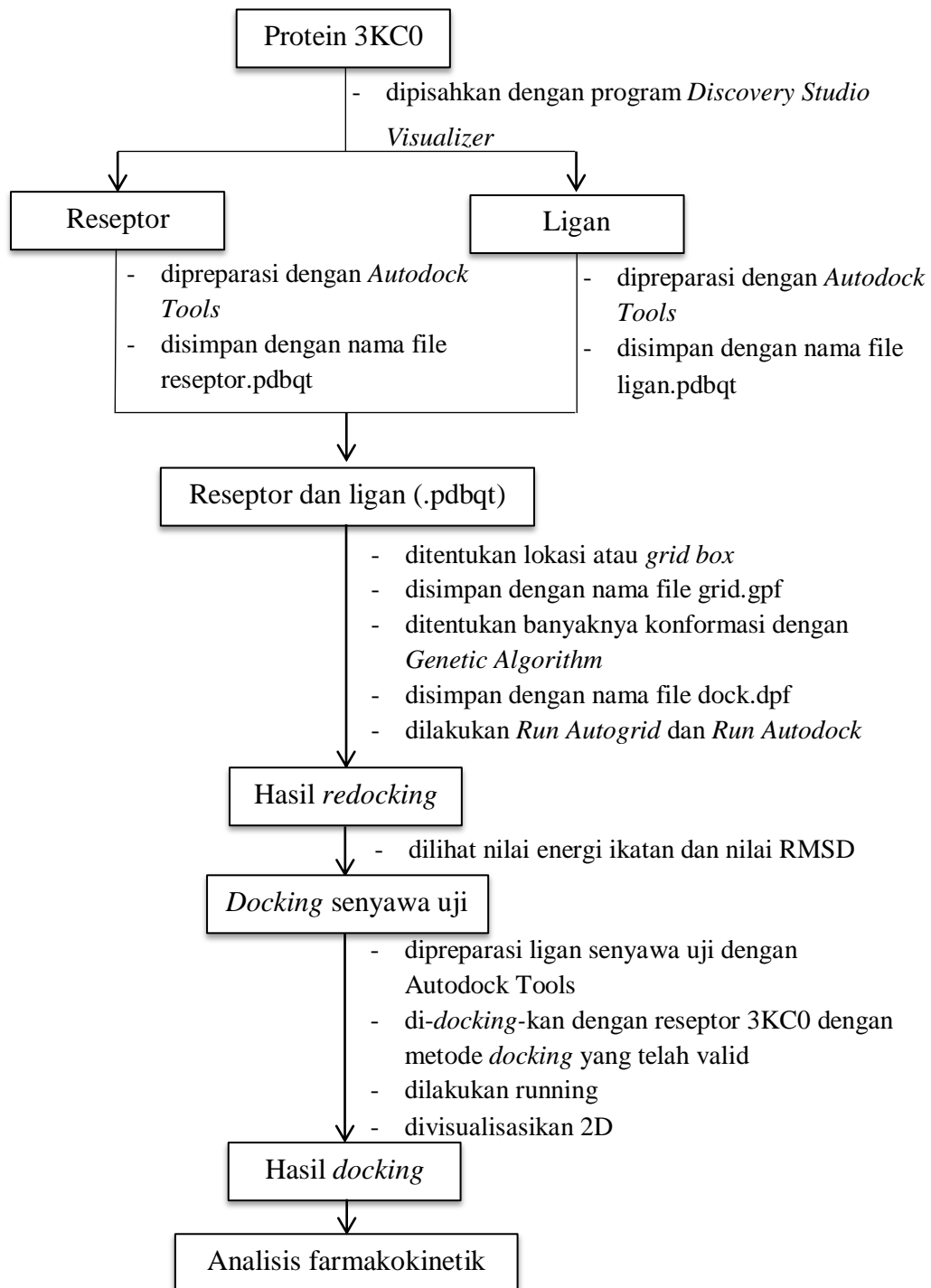
### 3.3.8 Diagram Alir

Berdasarkan prosedur diatas, maka bentuk diagram alir sebagai berikut.

a. Diagram alir uji *in vivo*



**Gambar 6.** Diagram Alir Uji *in vivo*

b. Diagram alir uji *in silico*Gambar 7. Diagram Alir Uji *in silico*

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan simpulan sebagai berikut:

1. Ekstrak metanol daun kelor yang diperoleh yaitu sebanyak 66,02 gram dengan persentase rendemen 5,5% dan hasil karakterisasi senyawa turunan flavonoid yaitu myricetin, hesperidin serta kuersetin.
2. Senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat antidiabetes berdasarkan *molecular docking* adalah senyawa hesperidin dengan nilai energi ikatan sebesar -10,03 kkal/mol.
3. Berdasarkan hasil farmakokinetik, senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat antidiabetes adalah senyawa kuersetin, sedangkan senyawa terbaik berdasarkan hasil toksisitas adalah senyawa hesperidin.
4. Dosis optimal ekstrak daun kelor yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi aloksan yaitu 200 mg/kg BB dan persentase penurunan kadar glukosa (% GL) sebesar 69,56% dengan nilai signifikan uji ANOVA ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran untuk pengembangan penelitian ini yaitu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh senyawa turunan flavonoid daun kelor terhadap penurunan kadar glukosa darah secara *in vivo* untuk mengetahui aktivitas antidiabetes yang lebih spesifik terhadap senyawa turunan flavonoid.

## DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. (2005). *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California: Accelrys Software Inc.
- Adeeyo, A., Adefule, A., Ofusuri, D., Aderinola, A., and Caxton-Martins, E. (2013). Antihyperglycemic Effects of Aqueous Leaf Extracts of Mistletoe and Moringa oleifera in Streptozotocin-Induced Diabetes Wistar Rats. *Diabetologia Croatica*, 42(3), 1-8.
- Agilent Technologies. (2001). *Basics of LC-MS*. U.S.A.: Agilent Technologies.
- Albu, J., Heilronn, L., Kelley, D., and Smith, S. (2010). Metabolic Changes Following a 1-Year Diet and Exercise Intervention in Patients with Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 59, 627-633.
- Ambarwati, Y., Firguna, D., Bahri, S., Laila, A., and Hadi, S. (2021). Synthesis of Cr(III)-Aspartate and Cu(II)-Aspartate Complexes as Antidiabetic Compund. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 32(4), 539–547.
- Amin. (2015). Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Antibakteri Turunan Benzimidazol menggunakan Metode Pm3. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 12(1), 254.
- Amir, S., Wungouw, H., dan Pangemanan, D. (2015). Kadar Glukosa Darah Sewaktu pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di Puskesmas Bahu Kota Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(1), 32.
- Annisa, R., Yuniarti, U., dan Sunardi, C. (2012). Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Daun Andong Merah (*Cordyline fruticosa* L.A. Cheval) terhadap Bakteri Penyebab Diare. *JSTFI*, 1(1), 22-31.
- Anwar, T., Safhi, M., Hakeen, H., Alshahrani, S., Siddiqui, R., Sivakumar, S., et al. (2021). Antidiabetic Potential of Moringa oleifera Lam. Leaf Extract in Type 2 Diabetic Rats and Its Mechanism of Action. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 20(1), 95-103.
- Azis, F. K., Nukitasari, C., Oktavianingrum, F., Ariyati, L., dan Santoso, B. (2016). Hasil In Silico Senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547 Dibandingkan Turunan Zerumbon terhadap Human Liver Glycogen Phosphorylase (115Q) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kimia Valensi*, 2(2), 120-124.

- Bachtiar, K. R., Susanti, S., Mardianingrum, R., dan Tasikmalaya, U. (2021). Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa dalam Minyak Atsiri Rimpang Bangle. *4*(1), 36-43.
- Bhutkar, M. and Tambe , D. (2020). Analytical Characterization of Quercetin Isolated from Leaves of *Psidium guajava* L. *International Journal of Creative Research Thoughts*, *6*, 2320-2882.
- Bohnert , T. and Gan, L. (2013). Plasma Protein Binding: From Discovery to Development. *J. Pharm Sci*, *102*(9), 2953–2994.
- Budiasih, K. S. dan Pertiwi, K. R. (2016). *Pengembangan Suplemen Hipoglikemik Berbasis Cr(III) Melalui Uji Pre Klinik sebagai Sumber Nutraceutical Product Bagi Penyandang Diabetes Mellitus Tipe 2*. Yogyakarta: LPPM UNY.
- Chaisin, T., Rudeekulthamrong, P., and Kaulpiboon, J. (2021). Enzymatic, Synthesis, Structural Analysis, and Evaluation of Antibacterial Activity and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition of Hesperidin Glycosides. *Catalysts*, *11*(532), 1-17.
- Cing, M. (2010). *Potensi Antihiperlikemia Ekstrak Kulit Kayu Mahoni (Swietenia macrophylla King) Pada Tikus yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]*. Bogor: FMIPA IPB.
- Dahlan, S. (2008). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Salemba Medik.
- Daina, A., Michielin, O., and Zoete, V. (2017). SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*, *7*.
- Dar , A. and Mir, S. (2017). Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical and Bioanalytical Techniques*, *8*(2).
- Dwipayana, Agus, I. N., Elsyana, V., dan Tutik. (2018). Identifikasi dan Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor Pada Variasi Pelarut dengan Metode DPPH. *Jurnal Farmasi Malahayati*, *1*(2), 80-87.
- El-Din, H., Loutfy, S., Fathy, N., Elberry, M., Mayla, A., Kassem, S., et al. (2016). Molecular Docking Based Screening of Compounds Against VP40 from Ebola Virus. *Bioinformation*, *12*(3), 192-196.
- Endro. (2006). Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, *7*, 378-382.
- Fatimah, R. N. (2015). Diabetes Melitus Tipe 2. *J. Majority*, *4*(5), 93-94.
- Fitriani, N., Akhmad, S., dan Lestariana, W. (2014). Efek Kuersetin Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Diabetes Melitus Tipe 2 yang Diinduksi dengan Streptozotocin-Nicotinamide. *JKKI*, *6*(2), 104-111.

- Gaikwad, S., Krishna, G., and Reddy, K. (2011). Moringa oleifera Leaves: Immunomodulation in Wistar Albino Rats. *Int J of Pharm and Pharm Science*, 3, 426 – 430.
- Gandjar, I. dan Rohman, A. (2012). *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Garcia, R., Bermejo, M., Moss, A., and Casabo, V. (2008). Pharmacokinetics in Drug Discovery. *J Pharm Sci*, 97(2), 654-690.
- Gritter, R., Bobbit, J., dan Swharting, A. (1991). *Pengantar Kromatografi Edisi 2*. Bandung: ITB.
- Guthrie, D. and Guthrie, R. (2004). Pathophysiology of Diabetes Mellitus. *Critical Care Nursing Quarterly*, 27(2), 113-125.
- Hasma dan Winda. (2019). Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.) dengan Metode KLT. *Jurnal Kesehatan Manarang*, 5(2), 125-131.
- Herliani, A. (2008). *Spektrofotometri*. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Herra, S. dan Haidi, M. S. (2005). Uji Aktivitas Penurunan Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia Polyantha pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Media Kedokteran*, 21, 64.
- Indrawati, Yuliet, dan Ihwan. (2015). Efek Antidiabetes Ekstrak Air Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.) terhadap Mencit (*Mus musculus*) Model Hiperglikemia. *Galenika Journal of Pharmacy*, 2(1), 69-76.
- Jaiswal, D., Rai, P., Kumar, A., and Metha, S. (2009). Effect of Moringa oleifera Lam. Leaves Aqueous Extract Therapy on Hyperglycemic Rats. *J. Ethnopharmacol*, 123, 392-396.
- Jones, A. and Hattersley, A. T. (2010). *Monogenic causes of diabetes. Didalam: Holt R et al., editor., Textbook of Diabetes 4th edition*. Chichester: Blacwell Publishing.
- Kartika, A., Hotnida, H., dan Fuah, A. (2017). Strategi Pengembangan Usaha Ternak Tikus (*Rattus norvegicus*) dan Mencit (*Mus musculus*) di Fakultas Peternakan IPB. *Jurnal Ilmu Produksi Dan Teknologi Hasil Peternakan*, 1(3), 147-154.
- Krentz, A. J. and Bailey, C. J. (2005). Oral Antidiabetic Agents: Current Role In Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*, 65, 384-411.
- Kroemer, R. (2003). Molecular Modelling Probes: Docking and Scoring. *Biochemical Society Transactions*, 31(5).
- Kurniasih. (2013). *Khasiat dan Manfaat Daun Kelor*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.



- Kusuma, G. P. (2021). Uji Antihiperlikemik Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jnatan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Natur Indonesia*, 19(1), 1-5.
- Laddha, G. and Degaleesan, T. (1976). *Transport Phenomena in Liquid Extraction*. New Delhi: Tata Mc-Graw Hill Publishing Co. Ltd.
- Lebovitz. (1997). Alpha-Glucosidase Inhibitors. *Endocrin Metab Clin*, 26(3), 539-551.
- Lenny, S. (2006). *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanida, dan Alkaloida (Karya Ilmiah)*. Sumatera Utara: Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Leslie, Z., Chelsea, M., Oleg, U., and Tudor, I. (2016). BDDCS: The Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug Deliv Rev*, 101, 89-98.
- Lipinski, C. (2000). Drug-like Properties and The Causes of Poor Solubility and Poorpermeability. *J Pharmacol Toxicol Methods*, 44(1), 235-249.
- Lipinski, C. (2004). Lead-And Drug-Like Compouds: The Rule of Five Revolution. *Article in Drug Discovery Today Technologies*, 1(4), 337-341.
- Manek, B., Telussa, A., Folamauk, C., dan Setianingrum, E. (2020). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*) sebagai Penurun Kadar Asam Urat pada Tikus Putih Galur Sprague dawley. *Cendana Medical Journal*, 20(2), 185-190.
- Mardiana, L. (2013). *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Marjoni, R. (2016). *Dasar-Dasar Fitokimia* . Jakarta: Trans Info Media.
- Markham, K. R. (1998). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- Masharani, U. (2011). *Diabetes Mellitus and Hypoglicemia on Current Medical Diagnosis and Treatment*. The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Melo, E., Gomes, A., and Carvalho, I. (2006). a- and b-Glucosidase Inhibitors: Chemical Structure and Biological Activity. *Tetrahedron*, 62, 10277-10302.
- Morris, G., Goodsell, D., Pique, M., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., et al. (2010). *Autodock Version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors*. United States of America: The Scripps Research Institute.
- Mthiyane, F., Dlodla, P., Ziqubu, K., Mthembu, S., Muvhulawa, N., Hlengwa, N., et al. (2022). A Review on the Antidiabetic Properties of *Moringa oleifera* Extracts: Focusing on Oxidative Stress and Inflammation as Main Therapeutic Targets. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 1-17.
- Muchid. (2005). *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Mukesh , B. and Rakesh, K. (2011). Molecular Docking: A Review. *Int J Res Ayurv Pharm*, 2(6), 1746-1751.
- Mulyati, B. dan Panjaitan, R. S. (2021). Studi Penambatan Molekul Flavonoid pada Reseptor  $\alpha$ -Glukosidase menggunakan Plants. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 18(2), 68-76.
- Muthusamy, B. and Girija, S. (2020). Analysis of Flavonoid Content, Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Activity of In Vitro Hairy Root Extract of Radish (*Raphanus sativus* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 140(3), 619-633.
- Nirwana, A., Astirin, O., dan Widiyani, T. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Benalu Kersen (*Dendrophtoe pentandra* L. Miq.). *El-Vivo*, 3(2), 9-15.
- Novalinda, Priastomo, M., dan Rijai, L. (2021). Bahan Alam yang Berpotensi sebagai Antidiabetes. *Mulawarman Pharmaceutical Conference*, (pp. 389-397).
- Nugrahani, R., Andayani, Y., dan Aliefman, H. (2016). Skrining Fitokimia dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam Sediaan Serbuk. *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*, 2(1), 96-103.
- Nursamsiar, N., Toding, A., dan Awaluddin. (2016). Studi In Silico Senyawa Turunan Analag Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *PHARMACY*, 13(1), 92-100.
- Nyiredy, S. Z. (2002). Planar Chromatographic Method Development Using The Prisma Optimization System and Flow Charts. *Journal Chromatography Scientific*, 40, 1-10.
- Pandey, A., Pandey, R. D., Tripathi, P., Gupta, P., Haider, J., Bhatt, S., et al. (2012). *Moringa Oleifera* Lam. (Sahijan) - A Plant with a Plethora of Diverse Therapeutic Benefits: An Updated Retrospection. *Medicinal Aromatic Plants ISSN: MAP an open access Journal*, 1(1), 2-6.
- Pari, L., Karamac, M., Kosinska, A., Rybarczyk, A., and Amarowicz, R. (2007). Antioxidant activity of the crude extracts of drumstick tree (*Moringaoleifera* Lam.) and sweet brommweed (*Sopariaducist*L) leaves. *Polish Journal Of Food And Nutrition Sciences*, 57(2), 201-208.
- Pavia. (2006). *Introduction to Organic Laboratory Techniques*. USA: Thomson Learning.
- Peng, P., Jin, J., Zou, G., Sui, Y., Han, Y., Zhao, D., et al. (2021). Hesperidin Prevents Hyperglycemia in Diabetic Rats by Activating the Insulin Receptor Pathway. *Experimental and Therapeutic*, 21(53), 1-2.
- PERKENI. (2015). *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: PERKENI.

- Peter, L. (2010). *Thin Layer Chromatography of the Active Ingredients in Excedrin and Anacin*. Hoboken: Stevens Institute of Technology.
- Pinzi, L. and Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigma in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4331.
- Powers, A. C. (2008). *Diabetes Mellitus on Harrison's Principles of Internal Medicine*. New York: McGraw-Hill Medical.
- Prabhu, V. dan Ravi, S. (2012). Quantification of Quercetin and Stigmasterol of *Couroupita guianensis* aubl by HPTLC Method and In-Vitro Cytotoxic Activity by MTT Assay of The Methanol Extract Against HeLa, NIH 3T3 and HepG2 Cancer Cell Lines. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(4), 126-130.
- Pribadi, G. (2008). *Penggunaan Mencit dan Tikus Sebagai Hewan Penelitian Nikotin (Skripsi)*. Bogor: Program Studi Teknologi Produksi Ternak Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Priyanto. (2007). *Toksisitas Radikal Bebas, Dalam: Sunaryo H.ED, Toksisitas Obat, Zat Kimia dan Terapi Antidotum*. Depok: Leskonfi.
- Putra, A., Wowor, dan Herlina, W. (2015). Gambaran Kadar Gula Darah Sewaktu Pada Mahasiswa Angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(3), 835.
- Putra, I., Dharmayudha, A., dan Sudimartini, L. (2016). Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 464-473.
- Rafi, M. (2003). *Identifikasi Fisik dan Senyawa Kimia pada Tumbuhan Obat: Fokus pada Tanaman Obat untuk Diabetes Melitus, di dalam Pelatihan Tanaman Obat Tradisional (Swamedikasi): Pengobatan Penyakit Diabetes Melitus*. Bogor: Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian IPR.
- Rendi, I. P., Maranata, G. J., Chaerunisa, H., Nugrahaeni, N., dan Alfathonah, S. S. (2021). Molecular Docking of Compounds in *Moringa oleifera* Lam with Dipeptidyl Peptidase-4 Receptors as Antidiabetic Candidates. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(3), 242-249.
- Rizqi, N., Kosman, R., dan Khaerunnisa, S. (2018). Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan. *J. Pharm. Sci*, 1(2), 49-54.
- Rohilla, A. and Shahjad, A. (2012). Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical*, 3, 819-823.
- Rudi, L., Suratno, W., dan Paundan. (2004). Perbandingan Penentuan Surfaktan Anonik dengan Spektrofotometer UV-Vis Menggunakan Pengompleks Malasit Hijau dan Metilen Biru. *Jurnal Kimia Lingkungan*, 6(1), 58-61.
- Sari, I., Junaidin, dan Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) pada

- Reseptor  $\alpha$ -Glukosidase sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54-60.
- Sastrohamidjojo. (1991). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Shehzadi, N., Hussain, K., Bukhari, N., Islam, M., Khan, M., Salman, M., et al. (2018). Hypoglycemic, Hepatoprotective and Molecular Docking Studies of 5-[(4-chlorophenoxy) methyl]-1,3,4-oxadiazole-2-thiol. *Bangladesh J Pharmacol*, 13, 149-156.
- Silverstein, R., Webster, F., Kiemle, D., and Bryce, D. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds, 7th Edition*. New York: John Wiley and Sons Inc.
- Stahl, E. (1985). *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro*. Bandung: ITB.
- Stenis, V. (2008). *Flora Van Java*. Jakarta: PT. Pradnya Paramita.
- Stohs, Sidney, J., Kaats, G., and Preuss, H. (2016). Safety and Efficacy of Banaba- Moringa Oleifera -Green Coffee Bean Extracts and Vitamin D3 in a Sustained Release Weight Management Supplement: Safety of a Herbal Sustained Release Weight Management Supplement. *Phytotherapy*, 30(4), 681–688.
- Suherman, M., Prasetiawati, R., and Ramdani, D. (2020). Virtual Screening of Tamarind Active Compounds (*Tamarindus indica* L.) on Selective Inhibitors Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 125-136.
- Suherman, S. K. (2007). *Insulin dan antidiabetik oral*. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI.
- Sumayyah, S. dan Salsabila, N. (2017). Obat Tradisional: Antara Khasita dan Efek Sampingnya. *Majalah Farmasetika*, 2(5), 1-4.
- Tahir. (2008). *Arti Penting Kalibrasi pada Proses Pengukuran Analitik: Aplikasi pada Penggunaan pH Meter dan Spektrofotometer UV-Vis*. Yogyakarta: UGM.
- Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., dan Widodo, A. (2020). Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Sains*, 6(12).
- Thuan, N., Pandey, R., Thuy, T., Park, J., and Sohng, J. (2013). Improvement of Regio-Specific Production of Myricetin-3-O- $\alpha$ -Rhamnoside in Engineered *Escherichia coli*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171(8).

- Toby, T., Amat, A., dan Artawan, I. (2020). Uji Efek Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera*) Terhadap Tikus Putih Sprague Dawley Yang Diinduksi Aloksan. *Cendana Medical Journal*, 19(1), 24-36.
- Tolistiawaty, I., Widjaja, J., dan Sumolang, P. (2014). Gambaran Kesehatan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Di Instalasi Hewan Coba. *Jurnal Vektor Penyakit*, 8(1), 27-32.
- Tsukada, T., Takahashi, M., Takemoto, T., Kanno, O., Yamane, T., Kawamura, S., et al. (2010). Structure-based drug design of tricyclic 8H-indeno[1,2-d][1,3]thiazoles as potent FBPase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 1004–1007.
- World Health Organization (WHO). (2016). *Global Report on Diabetes*. Diakses pada 10 Oktober 2020, pukul 12.59: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565257>.
- Zirconia, A., Kurniasih, N., dan Amalia, V. (2015). Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) dengan Metode Pereaksi Geser. *al-Kimmiya*, 2(1), 9-16.