

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA *IN SILICO* DAN *IN VIVO*
EKSTRAK METANOL DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack)
PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)**

(Skripsi)

Oleh

Qonita Putri Hafidhoh
NPM 1917011046



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

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA *IN SILICO* DAN *IN VIVO* EKSTRAK METANOL DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)

Oleh

QONITA PUTRI HAFIDHOH

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit yang banyak terjadi di Indonesia, yang ditandai dengan hiperglikemia. Berbagai upaya mengatasi penyakit ini terus dilakukan, salah satu cara untuk mengatasi diabetes melitus dengan tanaman obat atau herbal. Tanaman yang dipercaya masyarakat dapat mengobati penyakit diabetes adalah tanaman sungkai. Daun sungkai mengandung senyawa flavonoid yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan. Pada penelitian ini uji aktivitas antidiabetes dilakukan secara *in silico* dan *in vivo*. Metode yang dilakukan yaitu dengan menganalisis keberadaan senyawa flavonoid dengan skrining fitokimia, KLT, KLTP, dan dikarakterisasi dengan UV-*Vis* dan FTIR, kemudian dilakukan *docking* senyawa turunan flavonoid dengan protein IGFY serta diuji farmakokinetiknya. Pengujian secara *in vivo* dilakukan menggunakan mencit jantan sebanyak 18 ekor. Hasil karakterisasi dengan UV-*Vis* dan FTIR menunjukkan adanya senyawa flavonoid jenis kaempferol. Hasil uji secara *in silico* menunjukkan bahwa senyawa kaempferol merupakan senyawa dengan hasil *docking* terbaik dengan energi ikatan sebesar -9,67 serta memenuhi syarat sebagai kandidat obat antidiabetes secara *Lipinski Rule of Five*, *SwissADME*, dan *Prottox*. Hasil uji secara *in vivo* menunjukkan persentase penurunan kadar glukosa darah mencit terbaik yaitu 70,36% untuk dosis 400 mg/kg BB. Pengolahan data menggunakan *One-way ANOVA* dan dilanjutkan *BNT* pada taraf nyata 5% menghasilkan nilai yang signifikan yaitu $p \leq 0,05$. Berdasarkan hasil yang telah didapat diketahui bahwa ekstrak metanol daun sungkai mengandung senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai senyawa antidiabetes.

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

ABSTRACT

IN SILICO AND IN VIVO ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST OF METHANOL EXTRACT OF SUNGKAI (*Peronemacanesens* Jack) LEAVES IN MALE MICE (*Mus musculus* L.)

By

QONITA PUTRI HAFIDHOH

Diabetes mellitus is one of various disease that often occurs in Indonesia, is characterized by hyperglycemia. Various efforts to overcome this disease continue to be made, one of the ways to overcome diabetes mellitus is with medicinal plants or herbs. Plants that people believe can treat diabetes is sungkai plants. Sungkai leaves contain flavonoid compounds that can reduce blood glucose levels with their ability as antioxidants. In this study, the activity of atidiabetes was tested in silco and in vivo sera. The method used was to analyze the presence of flavonoid compounds by screening phytochemicals, TLC, TLC preparative, and characterization with UV-Vis and FTIR, then docking the flavonoid derivative compounds with IGFY protein and testing their pharmacokietics. In vivo testing was carried out with 18 male mice. The results of characterization with UV-Vis and FTIR showed the presence of kaempferol-type flavonoid compounds. The results of the in silico test showed that kaempferol was the compound with the best docking results with a bond energy of -9.67 and met the requirements as a candidate for anti-diabetic drugs according to the Lipinski Rule of Five, SwissADME, and Protox. The in vivo test results showed that the best proportion of mice blood glucose reduction was 70.36% for a dose of 400 mg/kg BW. Data processing using One-way ANOVA and continued BNT at 5% significance level resulted in a significant value, namely $p \leq 0.05$. Based on the results obtained, it is known that the methanol extract of Sungkai leaves contains flavonoid compounds which can be used as antidiabetic compounds.

Keywords: antidiabetic, sungkai leaves, flavonoids, molecular docking, mice.

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA *IN SILICO* DAN *IN VIVO*
EKSTRAK METANOL DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack)
PADA MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)**

Oleh

Qonita Putri Hafidhoh

Skripsi

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

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA
IN SILICO DAN IN VIVO EKSTRAK
METANOL DAUN SINGKAI (*Peronema
canescens* Jack) PADA MENCIT JANTAN
(*Mus musculus* L.)**

Nama Mahasiswa : **Qonita Putri Hafidhoh**

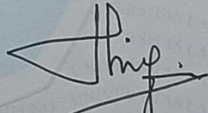
Nomor Pokok Mahasiswa : **1917011046**

Jurusan : **Kimia**

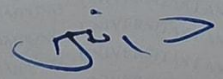
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.
NIP. 197407172008122003


Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
NIP. 197308252000031001

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

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

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Zipora Sembiring, M.Si.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 30 Mei 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Qonita Putri Hafidhoh
NPM : 1917011046
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya berjudul :

“Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Silico* dan *In Vivo* Ekstrak Metanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* L.)”

Adalah benar karya saya sendiri dan saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 30 Mei 2023
Yang Menyatakan



Qonita Putri Hafidhoh
NPM. 1917011046

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Qonita Putri Hafidhoh, lahir di Kotagajah Timur, Kecamatan Kotagajah, Kabupaten Lampung Tengah pada tanggal 25 Agustus 2001. Penulis merupakan anak ketiga dari empat bersaudara yang merupakan putri dari pasangan Bapak Ujang Ahidin dan Ibu Mustikah. Penulis mulai menempuh pendidikan di TK Syarif Hidayatullah pada tahun 2006–2007, kemudian melanjutkan pendidikan di SDN 2 Kotagajah (2007–2013). Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 2 Kotagajah (2013–2016) dan Sekolah Menengah Atas di SMAN 1 Kotagajah (2016–2019).

Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung (FMIPA Unila) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti kegiatan organisasi sebagai Anggota Biro Kesekretariatan Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) periode 2020 - 2021. Penulis juga pernah menjadi Staf Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Unila pada tahun 2020. Pada tahun 2020 penulis mendapat penghargaan sebagai Penerima Bantuan Modal Usaha Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) Universitas Lampung dengan judul "Natulizer".

Perjalanan dalam mengerjakan tugas akhir penulis pernah menjadi asisten praktikum kimia dasar pada tahun 2022. Pada awal tahun 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Sindang Panon selama 40 hari. Pada Januari 2022, penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul "Uji Aktivitas Antidibetes Ekstrak Metanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) dan Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Pada Mencit (*Mus musculus* L.)", setelah itu penulis mulai mengerjakan tugas akhir.

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillahirabbil' alamin, atas rahmat Allah SWT kupersembahkan karya ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada :

*Kedua orang tuaku,
Bapak Ujang Ahidin dan Ibu Mustikah yang telah menyayangi, merawat,
mendidik, mengajarkan kebaikan, senantiasa mendukung serta mendo'akan
keberhasilanku dalam setiap sujud.*

*Untuk kedua kakakku Ahmad Husairi dan Linda Fauziah, untuk adikku
Muhammad Fajar Shidiq, serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan
dan menjadi penyemangatku.*

*Pembimbing dan penguji penelitianku :
Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.
Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
Ibu Dr. Zipora Sembiring, M.Si.
Terimakasih atas bimbingan, ilmu, nasihat, dan kesabaran dalam
membimbing selama ini.*

Dosen jurusan kimia yang selalu membagi ilmunya untukku

Sahabat dan teman-temanku

*Almamaterku tercinta
Universitas Lampung*

MOTTO

"Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan"

(QS Al-Insyirah: 5-6)

"Hai orang-orang yang beriman, mintalah pertolongan kepada Allah dengan sabar dan salat. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar."

(QS Al-Baqarah: 153)

Dan barangsiapa yang bertakwa kepada Allah, niscaya Allah menjadikan baginya kemudahan dalam urusannya."

(QS At-Talaq: 4)

"Tidak ada kesuksesan tanpa kerja keras. Tidak ada keberhasilan tanpa kebersamaan. Tidak ada kemudhan tanpa doa"

(Ridwan Kamil)

"Keberhasilan adalah kemampuan untuk melewati dan mengatasi dari satu kegagalan ke kegagalan berikutnya tanpa kehilangan semangat."

(Winston Churchill)

SANWACANA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas berkat serta kasih karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Silico* dan *In Vivo* Ekstrak Metanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus* L.)”**.

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

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

1. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan banyak ilmu pengetahuan, nasihat, arahan, dukungan, saran dan kritik yang sangat berarti bagi penulis selama penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing II atas semua kritik, saran, bimbingan serta motivasi dan nasihat yang selalu diberikan dengan kesabaran dan keikhlasan kepada penulis selama penelitian.
3. Ibu Dr. Zipora Sembiring, M.Si. selaku Pembahas atas segala arahan, koreksi, saran, dan kritik yang bermanfaat kepada penulis.
4. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.Si. selaku Pembimbing Akademik atas segala bimbingan, nasihat, serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.
6. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

7. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan motivasi selama penulis menjalankan pendidikan di kampus.
8. Kedua orang tua yang saya cintai, Bapak Ujang Ahidin dan Ibu Mustikah untuk kasih sayang yang telah diberikan selama ini serta segala perhatian, motivasi dan dukungan finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, serta penyusunan skripsi sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
10. Kedua kakakku, Ahmad Husairi dan Linda Fauziah, serta adikku Muhammad Fajar Shidiq yang selalu memberikan doa, semangat dan dukungan.
11. Arbizar Ilham Hermoko yang selalu memberi semangat dan motivasi serta memberikan segala bantuan dan dukungannya dalam berbagai bentuk selama penulisan skripsi ini berlangsung.
12. Tim penelitianku Dr. Yuli *Research*'19 yaitu Unggul Sulistio Satrio Utomo, Fitri Febriani, Maysya Dhiya R.A yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi, nasihat, dan saran untuk menyelesaikan penelitian. Terima kasih untuk segala kebersamaan, tawa, canda, dan air mata selama proses penelitian yang telah kita lakukan bersama.
13. Sahabatku Reza Fadhila, Diah Indah Pratiwi, dan Sri Riski Mulya Wulanda yang telah memberi dukungan dan semangat untuk mendapatkan gelas S.Si.
14. Sahabat SMA-ku Dara Abdillah Rahman dan Aang Juni Puspitasari yang memberikan semangat, motivasi, dan saran.
15. Kakak dan adik seperbimbingan yaitu Kak Rusydi Iskandar, S.Si., Kak Valennisa Qunifah, S.Si., Kak Naura Tadzkiiana Nadifa, S.Si., Kak Devi Rahmawati, S.Si., Kak Hendriko Marisep, S.Si., Kak Eni Asro Dzulhijjah, S.Si., Kak Dinara, Kak Tania, Rizky Aufa, Anggun, Cikal, dan Dian atas segala ilmu, semangat, motivasi, dan saran.

16. Seluruh mahasiswa Jurusan Kimia angkatan 2019, terima kasih atas kebersamaan yang telah dilalui dalam kehidupan perkuliahan. Semoga kita semua diberikan kemudahan dalam segala urusan dan selamat berkarir.
17. Semua pihak yang terlibat membantu dan mendoakan penulis secara tulus dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

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, 30 Mei 2023

Penulis

Qonita Putri Hafidhoh

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Diabetes Melitus	4
2.2 Tanaman Sungkai	5
2.3 Senyawa Flavonoid	6
2.4 Mencit.....	7
2.5 Aloksan.....	8
2.6 Glibenklamid.....	9
2.7 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder	10
2.8 Pemisahan Senyawa Daun Sungkai	10
2.8.1 Ekstraksi Cair-cair	10
2.8.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
2.9 Karakterisasi Senyawa	12
2.9.1 Spektrofotometri UV- <i>Vis</i>	12
2.9.2 Spektrofotometri IR.....	13
2.10 <i>Molecular Docking</i>	14
2.11 Penentuan Farmakokinetik Obat	14
2.11.1 <i>Lipinski Rule of Five</i>	14
2.11.2 SwissADME dan Pre-ADMET	15
2.11.3 Toksisitas.....	15

III. METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Waktu dan Tempat	16
3.2 Alat dan Bahan	16
3.3 Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1 Persiapan dan Pembuatan Ekstrak Sampel.....	17
3.3.2 Uji Flavonoid.....	17
3.3.3 Pemisahan Senyawa	18
3.3.4 Karakterisasi Senyawa	19
3.3.5 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara <i>In Silico</i>	19
3.3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara <i>In Vivo</i>	21
3.3.7 Diagram Alir	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Ekstrak Metanol Daun Sungkai.....	26
4.2 Hasil Uji Flavonoid	27
4.3 Hasil Ekstraksi Cair-cair	28
4.4 Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
4.5 Karakterisasi Senyawa	31
4.5.1 Spektrofotometer UV- <i>Vis</i>	31
4.5.2 Spektrofotometer IR.....	32
4.6 Uji Aktivitas Antidiabetes secara <i>In Silico</i>	33
4.6.1 <i>Molecular Docking</i>	34
4.6.2 Uji Farmakokinetik Senyawa Turunan Flavonoid	47
4.7 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara <i>In Vivo</i>	55
4.7.1 Berat Badan Mencit Jantan (<i>Mus musculus</i> L).....	55
4.7.2 Kadar Glukosa Darah Mencit (<i>Mus musculus</i> L).....	58
V. SIMPULAN DAN SARAN	65
5.1 Simpulan.....	65
5.2 Saran.....	65
DAFTAR PUSTAKA	66
LAMPIRAN.....	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Rancangan Acak Lengkap (RAL)	21
2. Hasil Pengukuran UV- <i>Vis</i> Filtrat Hasil KLTP	31
3. Hasil spektrum IR filtrat hasil KLTP	33
4. Ukuran <i>grid center</i> , energi ikatan, dan nilai RMSD hasil validasi <i>software</i> <i>AutoDock</i>	35
5. Ikatan Asam Amino Ligan <i>native</i> dan Ligan Hasil <i>Redocking</i>	37
6. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Flavon.....	38
7. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Isorhamnetin.....	40
8. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Apigenin	41
9. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Genistein	42
10. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Kaempferol.....	43
11. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Kuersetin	44
12. Data Hasil <i>Docking</i> Senyawa Glibenklamid.....	46
13. Hasil <i>Docking</i> Keseluruhan Senyawa	46
14. Hasil <i>Lipinski Rule of Five</i> Keseluruhan Senyawa <i>Docking</i>	48
15. Hasil Prediksi absorpsi dan distribusi	49
16. Hasil Uji Toksisitas Flavon Menggunakan Protok	50
17. Hasil Uji Toksisitas isorhametin Menggunakan Protok.....	51
18. Hasil Uji Toksisitas Apigenin Menggunakan Protok	51
19. Hasil Uji Toksisitas Genistein Menggunakan Protok	51
20. Hasil Uji Toksisitas Kaempferol Menggunakan Protok	52
21. Hasil Uji Toksisitas Kuersetin Menggunakan Protok.....	52
22. Hasil Uji Toksisitas Glibenklamid Menggunakan Protok	53
23. Hasil Uji Toksisitas Keseluruhan Senyawa Turunan Flavonoid	53

24. Rerata persentase kadar gula darah mencit jantan menggunakan ekstrak metanol daun sungkai	61
25. Hasil uji statistik BNT taraf 5% kadar glukosa darah mencit jantan setelah pemberian ekstrak metanol daun sungkai	63
26. Berat Badan Mencit Selama Perlakuan.....	74
27. Kadar Glukosa Darah Mencit Selama Masa Perlakuan	75
28. Hasil Uji ANOVA Kadar Glukosa Darah Selama Perlakuan	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sungkai.....	5
2. Daun Sungkai.....	6
3. Struktur Flavonoid	7
4. Mencit	8
5. Struktur Aloksan	9
6. Struktur Glibenklamid.....	10
7. Kurva Panjang Gelombang Kaempferol	13
8. Spektrum IR Seyawa kaempferol.....	14
9. Diagram Alir Penelitian	25
10. Ekstrak Metanol Daun Sungkai	26
11. Reaksi flavonoid dengan logam Mg dan HCl.....	27
12. Hasil Uji Flavonoid.....	27
13. Ekstraksi cair-cair menggunakan pelarut metanol dan n-heksan.....	28
14. (a) Fraksi n-heksan (b) Fraksi metanol	28
15. Hasil KLT analitik.....	29
16. Hasil KLT preparatif (a) UV 254 (b) UV 366	30
17. Spektrum UV- <i>Vis</i> Filtrat Hasil KLTP.....	31
18. Spektrum IR Filtrat Hasil KLTP	32
19. Protein 1GFY	34
20. Hasil preparasi (a) Reseptor (b) Ligan	34
21. Hasil validasi <i>redocking</i> 1GFY (a) Himpitan Ligan (b) Bentuk <i>surface</i>	36
22. Ikatan Asam Amino Hasil <i>Redocking</i>	36
23. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> flavon	38
24. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> isorhamnetin	39

25. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> apigenin	40
26. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> genistein.....	41
27. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> kaempferol.....	43
28. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> kuersetin	44
29. Visualisasi Hasil <i>Docking</i> glibenklamid	45
30. Rerata berat badan mencit jantan menggunakan ekstrak metanol daun sungkai	56
31. Rerata kadar gula darah mencit jantan menggunakan ekstrak metanol daun sungkai	59
32. (a) Proses pengeringan daun sungkai (b) Maserasi (c) Maserat (d) Proses evaporasi	86
33. (a) Penginduksian aloksan (b) Pemberian ekstrak secara oral (c) Proses pemotongan ekor mencit untuk diambil darahnya (d) Pengecekan KGD	86

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit yang ditandai dengan hiperglikemia, penurunan berat badan, dan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein (Fatimah, 2015). Penyakit DM disebabkan oleh gangguan metabolisme yang terjadi pada organ pankreas yang ditandai dengan peningkatan gula darah dan menurunnya jumlah insulin dari pankreas (Lestari dkk., 2021). *International Diabetes Federation* (IDF) mengatakan bahwa penderita DM di dunia pada tahun 2021 sebanyak 537 juta yang menyebabkan 6,7 juta kematian. Jumlah penderita DM di Indonesia sebanyak 19,47 juta dan berada di posisi kelima dunia (IDF, 2021).

Pengobatan DM selama ini dilakukan dengan menggunakan obat-obat antidiabetikum. Pengobatan antidiabetes oral cenderung menurunkan kadar gula darah dalam jangka panjang ketika resistensi berkembang, menyebabkan hipoglikemia, mual, pusing, dan kehilangan nafsu makan (Aini, 2019), sehingga pengobatan alternatif telah berkembang dengan menggunakan tanaman obat tradisional.

Saat ini masyarakat cenderung beralih dari obat sintetik ke obat tradisional, karena obat sintetik dapat menimbulkan berbagai efek samping. Penyakit DM dapat diobati dengan tanaman obat atau herbal, salah satu tanaman yang dipercaya masyarakat dapat mengobati penyakit diabetes ialah tanaman sungkai. Tanaman sungkai mengandung senyawa flavonoid yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuannya sebagai zat antioksidan. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat

mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel dan bahkan meningkatkan sensitivitas insulin (Winarsi dkk.,2013).

Berdasarkan penelitian Latief *et al* (2021), ekstrak etanol daun sungkai (*P. canescens* Jack) mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, fenol, flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin. Uji aktivitas antidiabetes dilakukan dengan mengukur kadar gula darah mencit diabetes yang diinduksi aloksan kemudian diberi ekstrak etanol daun sungkai. Penelitian ini diketahui bahwa dosis 350 mg/kg berat badan memberikan aktivitas paling efektif sebagai antidiabetik.

Pengujian secara *in silico* dilakukan secara komputasi dengan *molecular docking* dan uji farmakokinetik untuk mengetahui senyawa turunan flavonoid yang berpotensi sebagai obat antidiabetes.

Berdasarkan uraian diatas, maka telah dilakukan penelitian dengan mengekstraksi daun sungkai menggunakan pelarut metanol dan mengisolasi serta mengkarakterisasi senyawa flavonoid pada daun sungkai (*Peronema canescens* Jack), kemudian dilakukan uji secara *in silico* dengan metode komputasi *molecular docking* untuk mensimulasikan suatu molekul ligan turunan flavonoid dengan protein reseptor IGFY, lalu melakukan uji aktivitas antidiabetes menggunakan ekstrak metanol daun sungkai terhadap mencit yang diinduksi aloksan dan glibenklamid sebagai obat pembanding dengan menggunakan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mendapatkan ekstrak dari daun sungkai (*Peronema canescens* Jack).
2. Mendapatkan karakter senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak metanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack).
3. Menentukan jenis turunan senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antidiabetes dengan *docking molecular* dan farmakokinetik secara *in silico*.

4. Menguji aktivitas antidiabetes menggunakan ekstrak metanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) pada hewan uji mencit (*Mus musculus* L.).
5. Menentukan dosis efektif dari pemberian ekstrak metanol daun sungkai (*Peronema canescens* Jack) pada penurunan kadar glukosa darah hewan mencit (*Mus musculus* L.).

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan informasi pemanfaatan ekstrak metanol daun sungkai dalam menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh.
2. Menjadikan alternatif pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat antidiabetes.
3. Mengetahui jenis flavonoid yang memiliki potensi sebagai antidiabetes.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah (gula darah) melebihi normal yaitu kadar gula darah sewaktu sama atau lebih dari 200 mg/dl, dan kadar gula darah puasa di atas atau sama dengan 126 mg/dl (Hestiana, 2017), kondisi yang mengakibatkan kadar glukosa di dalam darah meningkat atau suatu keadaan dimana terjadi gangguan kronis yang bercirikan hiperglikemi (glukosa darah meningkat) dan khususnya menyangkut metabolisme hidrat arang (glukosa) di dalam tubuh. Diabetes merupakan penyakit dimana tubuh penderita sudah tidak mampu mengendalikan kadar gula dalam darah. Penderita mengalami gangguan metabolisme pada proses penyerapan gula oleh tubuh, karena tubuh tidak dapat melepaskan atau menggunakan insulin secara normal. Insulin adalah hormon yang dilepaskan oleh pankreas, merupakan zat utama yang bertanggung jawab dalam mempertahankan kadar gula darah (Radiansah dan Rahman, 2013).

DM diklasifikasikan menjadi 2 kategori yakni *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) atau DM tipe 1 dan *non-insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM) atau DM tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 terjadi karena adanya gangguan produksi insulin karena kerusakan sel β pankreas. Patofisiologinya yaitu adanya reaksi autoimun akibat peradangan pada sel β yang menyebabkan timbulnya antibodi terhadap sel β yang disebut *Islet Cell Antibody* (ICA). Reaksi antigen (sel β) dengan antibodi ICA yang ditimbulkannya menyebabkan hancurnya sel β , selain karena autoimun, diabetes tipe 1 juga bisa disebabkan virus *cocksakie*, rubela, *citomegalo virus* (CMV), herpes dan lain-lain. Penderita diabetes tipe 1 umumnya terdiagnosa pada usia muda. Diabetes tipe 2 disebabkan karena rusaknya molekul

insulin atau gangguan reseptor insulin yang mengakibatkan kegagalan fungsi insulin untuk mengubah glukosa menjadi energi. Jumlah insulin pada diabetes tipe 2 dalam tubuh adalah normal bahkan jumlahnya bisa meningkat, tetapi karena jumlah reseptor insulin pada permukaan sel berkurang menyebabkan glukosa yang masuk kedalam sel lebih sedikit dan akan terjadi kekurangan jumlah glukosa dan kadar glukosa menjadi tinggi didalam pembuluh darah (Ermawati, 2012).

2.2 Tanaman Sungkai

Sungkai (*Peronema canescens* Jack) termasuk ke dalam *family Verbenaceae*, di Jawa Barat disebut jati sabrang dan di Kalimantan Selatan populer dengan nama longkai. Daerah penyebarannya di Indonesia mencakup wilayah Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu, Sumatera Selatan, Lampung, Jawa Barat, dan seluruh Kalimantan (Khaerudin, 1994). Tanaman sungkai ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Sungkai

Daun *P. canescens* yang ditunjukkan pada Gambar 2 berbentuk menyirip berhadapan, bentuk lanset dengan panjang 8- 12 cm, lebar 2-3,5 cm, ujung runcing, tepi rata, daun muda berwarna ungu, bagian bawah berbulu putih. Letak bunga berpasangan, kedudukan malai, warna putih kehijauan (Ogata, 1995).

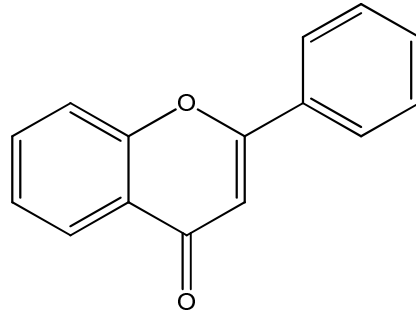


Gambar 2. Daun Sungkai

Hasil identifikasi golongan metabolit sekunder ekstrak metanol daun sungkai pada penelitian Ibrahim dan Kuncoro (2012) teridentifikasi golongan metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, terpenoid-steroid, dan golongan tanin. Daun sungkai mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, fenol, dan saponin. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang diharapkan dapat melindungi tubuh dari kerusakan yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam mencegah DM. Flavonoid dan saponin berperan penting dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel pankreas yang rusak, sehingga menghambat defisiensi insulin (Latief *et al.*, 2021).

2.3 Senyawa Flavonoid

Flavonoid adalah salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk ke dalam golongan senyawa phenolik yang memiliki struktur kimia C₆-C₃-C₆. Kerangka flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya. Sistem penomoran digunakan untuk membedakan posisi karbon di sekitar molekulnya.



Gambar 3. Struktur Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga flavonoid akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dimetilformamida, aseton, dan lain lain. Flavonoid terikat dalam bentuk glikosida maka campuran pelarut tersebut dengan akuades (H_2O) merupakan pelarut yang baik untuk flavonoid glikosida, sedangkan dalam bentuk aglikon seperti flavon, flavonol, flavanon lebih mudah larut dalam pelarut kloroform dan eter (Arifin dan Ibrahim, 2018).

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

2.4 Mencit

Hewan percobaan yang umum dan sering digunakan dalam penelitian bidang adalah mencit putih (*Mus musculus* L.). Mencit digunakan sebagai hewan percobaan karena memiliki keunggulan dibandingkan dengan hewan percobaan lainnya. Mencit (*Mus musculus* L.) adalah salah satu anggota kelompok *kingdom* hewan animalia yang memiliki ciri-ciri diantaranya yaitu jinak, takut cahaya, aktif pada malam hari, mudah berkembangbiak, siklus hidup yang pendek, dan tergolong poliestrus, serta merupakan hewan yang paling umum digunakan pada

penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80% dan memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan (khususnya digunakan dalam penelitian biologi), yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, serta variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Hasanah dkk., 2015).



Gambar 4. Mencit

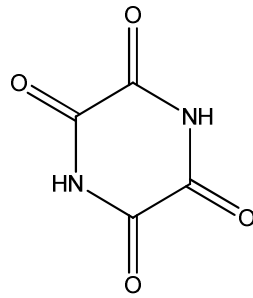
Mencit memiliki bulu pendek halus berwarna putih serta ekor berwarna kemerahan dengan ukuran lebih panjang dari pada badan dan kepala, bentuk hidung kerucut terpotong, mata merah dan bentuk badan silindris agak membesar ke belakang. Berat mencit jantan dewasa sekitar 20-40 gram dan betina dewasa 18-35 gram. Mencit merupakan hewan yang termasuk dalam *family* Muridae, mencit liar atau mencit rumah adalah hewan satu spesies dengan mencit laboratorium. Semua galur mencit laboratorium sekarang ini merupakan keturunan dari mencit liar sesudah melalui peternakan selektif (Abdullah, 2022).

Menurut Ariyati dkk (2007), mencit jantan digunakan pada penelitian didasarkan bahwa mencit jantan tidak memiliki hormon estrogen, serta kondisi hormonal mencit jantan yang lebih stabil dibandingkan mencit betina, karena mencit betina mengalami kondisi hormonal pada masa estrus, kehamilan, dan menyusui yang mempengaruhi kondisi psikologisnya.

2.5 Aloksan

Aloksan adalah senyawa diabetogenik yang bersifat sitotoksik. Paparan senyawa aloksan dapat menurunkan kadar insulin dan juga dapat mengganggu homeostasis glukosa darah. Induksi aloksan pada hewan coba dapat merusak jaringan

pankreas sehingga terjadi penurunan produksi insulin oleh sel islet pankreas. 30 menit setelah induksi aloksan, organ limpa mengalami stres oksidatif pada sel islet pankreas sehingga memacu reaksi radang. Aloksan mengakibatkan kerusakan spesifik secara cepat pada sel β Langerhans pada jaringan pankreas sehingga menyebabkan penurunan yang sangat drastis pada sekresi insulin (Susanti dkk., 2021).

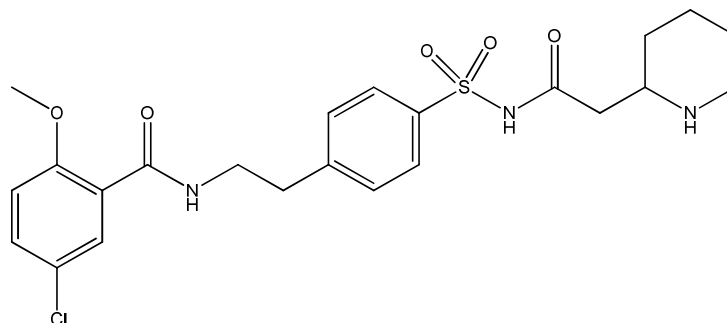


Gambar 5. Struktur Aloksan

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

2.6 Glibenklamid

Glibenklamid adalah salah satu obat antidiabetik yang sering digunakan yang diberikan secara oral dan bekerja merangsang sel β pankreas untuk mengeluarkan insulin. Obat antidiabetik memberikan manfaat yang besar bagi penderita DM, tetapi terkadang tidak optimal dalam menurunkan glukosa darah. Kondisi ini seringkali membuat pasien berinisiatif mengkombinasikan obat antidiabetik oral yang diresepkan dokter dengan obat herbal (Muliawan, 2019).



Gambar 6. Struktur Glibenklamid

2.7 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut, kaidah yang berlaku dalam ekstraksi yaitu *“like dissolve like”* yaitu senyawa polar akan larut pada fase polar dan senyawa non polar akan larut pada fase non polar (Ketaren, 1988). Ekstraksi bertujuan untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi laju ekstraksi adalah tipe persiapan sampel, waktu ekstraksi, kuantitas pelarut, suhu pelarut, dan tipe pelarut (Hambali dkk., 2015).

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan yang dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar (Ibrahim dkk., 2016). Keuntungan metode maserasi yaitu caranya yang mudah dan tidak memerlukan pemanasan. Prinsip kerja maserasi yaitu proses tercapainya kesetimbangan konsentrasi antara senyawa aktif tanaman dengan yang telah berpindah ke pelarut (Putri, 2010).

2.8 Pemisahan Senyawa Daun Sungkai

2.8.1 Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi cair-cair adalah proses pemindahan fase cair berdasarkan perbedaan kelarutan zat antara larutan asal dan pelarut pengestrak (*solvent*). Prinsip dasar ekstraksi cair-cair melibatkan pengontakan suatu larutan dengan pelarut lain yang

tidak saling melarut dengan pelarut asal yang mempunyai densitas yang berbeda sehingga akan terbentuk dua fase beberapa saat setelah penambahan *solvent* (Ariono dkk., 2008).

2.8.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa flavonoid daun sungkai dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan suatu metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fase yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan ialah plat silika gel yang bersifat polar, sedangkan eluen yang digunakan sebagai fase gerak bersifat sangat polar karena mengandung air. Kepolaran fase diam dan fase gerak hampir sama, tetapi masih lebih polar fase gerak sehingga senyawa flavonoid yang dipisahkan terangkat mengikuti aliran eluen, karena senyawa flavonoid bersifat polar. KLT yang digunakan terbuat dari silika gel dengan ukuran 20 cm x 20 cm GF254 (*Merck*). Penggunaan bahan silika karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid (Koirewoa dkk., 2012).

Pendeteksian bercak hasil pemisahan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu dengan pereaksi kimia dan sinar lampu ultraviolet pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Octavia, 2009). Parameter dalam kromatografi lapis tipis adalah faktor retensi (R_f), merupakan perbandingan jarak yang ditempuh.

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}}$$

Harga R_f komponen murni dapat dibandingkan dengan harga R_f senyawa standar, karena pada kondisi tertentu suatu senyawa akan memiliki harga R_f yang sama. Faktor-faktor yang mempengaruhi harga R_f antara lain: tebal lapisan penyerap, kadar air, jenis eluen, suhu, tingkat kejenuhan bejana oleh uap eluen dan ukuran partikel (Octavia, 2009).

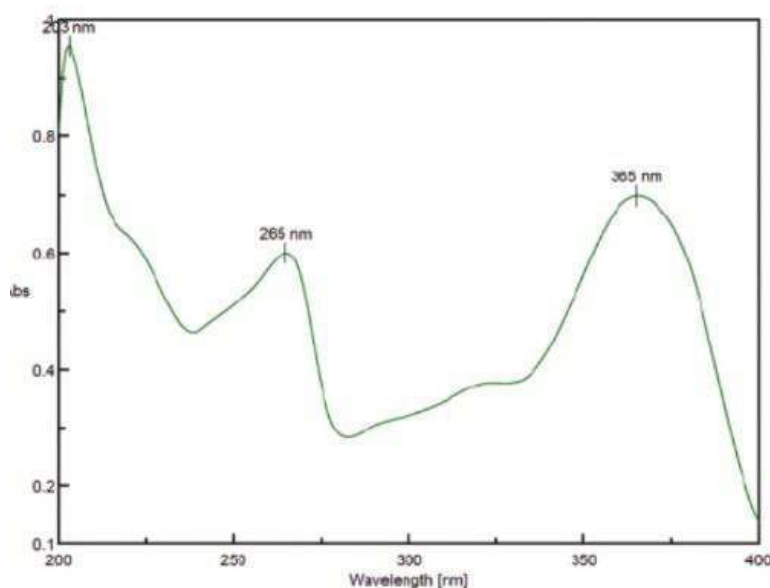
2.9 Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi senyawa bioaktif dianalisis dengan menggunakan metode spektroskopi yang dikenal dengan ilmu yang mempelajari mengenai interaksi antara energi cahaya dan materi. Keuntungan dari penggunaan metode ini adalah jumlah zat yang diperlukan untuk analisis relatif kecil dan waktu pengerjaannya cepat (Silverstein *et al.*, 2014). Metode spektroskopi yang dipakai pada penelitian ini yaitu *Ultraviolet-Visible Spectrophotometry* (UV-Vis) dan *Infra Red* (IR).

2.9.1 Spektrofotometri UV-Vis

Metode Spektrofotometri Ultraviolet *Visible* (UV-Vis) memanfaatkan cahaya di daerah ultraviolet dan terlihat dalam bentuk spektrum elektromagnetik yang digunakan untuk menganalisa sampel secara kualitatif dalam bentuk senyawa molekul dan ion kompleks. Untuk analisis kuantitatif dilakukan dengan menggunakan hukum Beer. Spektrum cahaya di daerah sinar *Visible* (tampak bagi mata manusia) berada pada gelombang cahaya $400-800 \times 10^{-9}$ m. Spektrum cahaya di daerah ultraviolet mempunyai panjang gelombang yang lebih pendek, yaitu $200-400 \times 10^{-9}$ m (Hammado dan Illing, 2013).

Penelitian yang dilakukan oleh Telange *et al* (2014) pada pengukuran UV-Vis senyawa kaempferol yang dilarutkan dalam metanol menghasilkan kurva penyerapan menunjukkan karakterisasi serapan maksimal pada 365 nm dan 265 nm, oleh karena itu digunakan sebagai standar kaempferol. Kurva panjang gelombang kaempferol dapat dilihat pada Gambar 7.

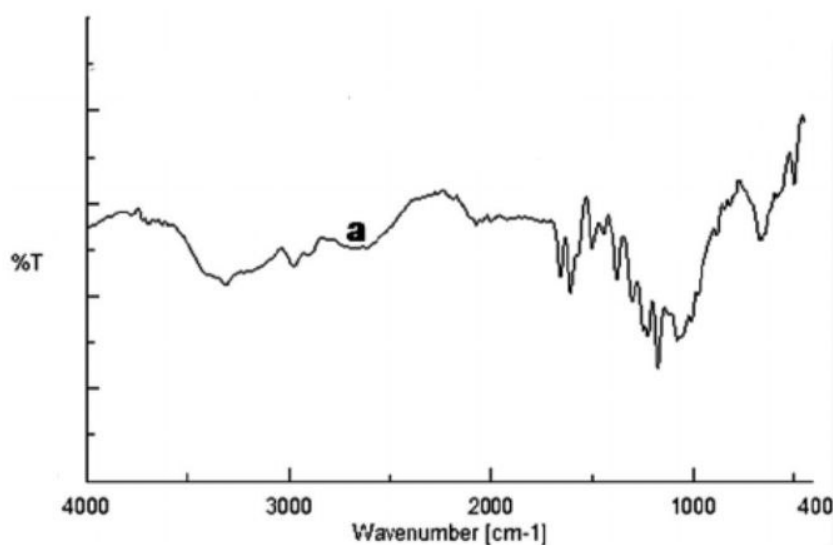


Gambar 7. Kurva Panjang Gelombang Kaempferol (Telange *et al.*, 2014)

2.9.2 Spektrofotometri IR

Spektrofotometri *Infra Red* atau Infra Merah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75–1.000 μm atau pada Bilangan Gelombang 13.000–10 cm^{-1} (Giwangkara, 2007). Dibandingkan dengan panjang gelombang sinar ultraviolet dan tampak, panjang gelombang infra merah lebih panjang dan dengan demikian energinya lebih rendah. Energi sinar inframerah berkaitan dengan energi vibrasi molekul.

Penelitian yang dilakukan oleh Halder *et al* (2017) bahwa kaempferol menunjukkan pita lebar yang khas pada 3309 cm^{-1} sesuai dengan gugus -OH fenolik, pada 1659 cm^{-1} , dengan spektrum IR dapat dilihat pada Gambar 10 :



Gambar 8. Spektrum IR Seyawa Kaempferol

2.10 *Molecular Docking*

In silico merupakan suatu metode berbasis komputasi yang digunakan untuk menganalisis suatu senyawa kimia dan interaksinya. Metode *in silico* digunakan untuk menganalisis senyawa kimia dan interaksi yang dihasilkan (Hardjono, 2013). *Molecular docking* merupakan metode komputasi *in silico* yang digunakan dalam penelitian obat-obatan yang dapat memperkirakan konformasi suatu protein dengan ligan atau molekul (Nogrady and Weaver, 2005). *Docking* dilakukan dengan menginteraksikan molekul obat kandidat senyawa obat dengan reseptor yang dipilih. Ligan merupakan molekul kecil sedangkan reseptor merupakan molekul protein yang besar (Jensen, 2007).

2.11 Penentuan Farmakokinetik Obat

2.11.1 *Lipinski Rule of Five*

Lipinski Rule of Five merupakan sebuah parameter yang digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang bersifat farmakologis untuk digunakan sebagai kandidat obat secara oral pada manusia. Lipinski *et al* (2001) menyimpulkan bahwa suatu senyawa obat akan memiliki absorpsi yang baik jika :

1. Berat molekul kurang dari 500 Da
2. Nilai log P kurang dari 5
3. Jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10
4. Jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5

2.11.2 SwissADME dan Pre-ADMET

SwissADME merupakan aplikasi berbasis *online* yang dapat diakses melalui web yang digunakan untuk meramalkan aktivitas senyawa berdasarkan strukturnya. Kegunaannya adalah untuk mengetahui sifat farmakokinetik dalam obat (Daina *et al.*, 2017).

Pre-ADMET merupakan perangkat lunak berbasis *online* yang digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa untuk mengabsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan mengenai sifat ketoksikan senyawa kimia. Pre-ADMET dapat menganalisis *Human Intestinal Absorption* (HIA) yang merupakan uji yang digunakan untuk memprediksi potensi absorpsi suatu senyawa kimia oleh usus. Uji ini digunakan dalam farmakologi untuk mengoptimalkan kemampuan senyawa sebagai kandidat obat (Kang, 2005).

2.11.3 Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan aplikasi berbasis *online* yang dapat diakses melalui web protox untuk mengetahui tingkat ketoksitasan suatu senyawa dengan melihat beberapa parameter, seperti *hepatotoxicity*, *carcinogenicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity*, dan *cytotoxicity*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Agustus 2022–Februari 2023. Ekstraksi daun sungkai dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Lampung, karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-*Vis* dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, karakterisasi menggunakan FTIR dilaksanakan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi FMIPA Universitas Lampung, dan pengujian aktivitas antidiabetes dilaksanakan di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, dan simulasi *docking* dilakukan di Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spuit 1 cc, glukometer, jarum sonde, strip glukosa, *rotary evaporator*, timbangan, gelas beaker, pengaduk, *hot plate*, timbangan analitik, tabung reaksi, pipet tetes, kapas, kandang mencit, alat suntik, wadah penyimpanan, penggiling, plat KLT, *chamber*, dan aluminium foil.

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*, *AutodockTools 1.5.7*, dan Avogadro.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sungkai, glibenklamid, akuades, metanol, NaCMC 1%, NaCl 0.9%, *alcohol swabs*, aloksan, HCl pekat, serbuk Mg, n-heksan, etil asetat, butanol, mencit, air, dan pakan.

Bahan-bahan yang digunakan untuk simulasi *docking* yaitu protein IGFY yang didapatkan dari *website* RCSB PDB, ligan senyawa uji, serta situs farmakokinetik diantaranya yaitu *Lipinski Rule of Five*, SwissADME, dan Prottox.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan dan Pembuatan Ekstrak Sampel

Tahap pertama yaitu persiapan, mula-mula sampel daun sungkai dikumpulkan yang didapatkan dari daerah Gunung Sugih, Lampung Tengah, kemudian sampel dibersihkan dengan air untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Daun yang sudah bersih kemudian dikeringkan dengan cara angin-angin. Sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan *blender* hingga berbentuk serbuk simplisia. Simplisia yang sudah halus disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Tahap kedua yaitu ekstraksi, metode yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah maserasi dengan cara merendam simplisia menggunakan pelarut metanol. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, sambil diaduk setiap 12 jam sekali. Maserat yang didapat setelah 24 jam pertama dipisahkan hasil, lalu lakukan pengulangan sebanyak 3 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat yang dikumpulkan, lalu diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak kental.

3.3.2 Uji Flavonoid

Ekstrak kental sebanyak 0,5 mL dipipet ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 0,5 g serbuk Mg dan 5 mL HCl. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya larutan berwarna merah kekuningan (jingga) dan terdapat busa (Tasmin dkk., 2014).

3.3.3 Pemisahan Senyawa

3.3.3.1 Ekstraksi Cair-cair

Ekstraksi cair-cair dilakukan dengan menggunakan corong pisah dan pelarut yang digunakan yaitu metanol yang bersifat polar dan n-heksana yang bersifat non polar. Ekstrak sebanyak 20 gram dilarutkan dengan 50 mL metanol dan ditambahkan 50 mL n-heksan ke dalam corong pisah, kemudian di kocok dan dibuang gasnya. Tujuan ekstraksi cair-cair ini berdasarkan prinsip “*like dissolve like*”.

3.3.3.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Analitik

Plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah kemudian diberikan jarak antara sampel 1 cm dan pada jarak atas 0,5 cm. sampel fraksi metanol dan fraksi n-heksan daun *P. canescens* Jack. ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukkan dalam chamber yang telah berisi eluen yakni butanol : etil asetat : n-heksan (1 : 2 : 7) dan telah dijenuhkan. Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai tanda batas plat yang telah ditandai sebelumnya, plat KLT dikeluarkan dari chamber dan diamati dibawah lampu UV 366 dan 254 nm kemudian plat KLT disemprotkan dengan larutan DPPH 0,01 %. Bercak pada plat KLT yang memiliki aktivitas antioksidan berubah menjadi warna putih kekuningan dengan latar belakang warna ungu (Fadlilaturrahmah dkk., 2021).

3.3.3.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Preparatif

Ekstrak metanol daun sungkai dipartisi menggunakan pelarut n-heksan, kemudian dipartisi kembali dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan dan diuapkan dengan *Vacuum Rotary Evaporator*. Pada pemisahan KLT preparatif digunakan plat kaca silika dengan ukuran 20 cm x 20 cm. Ekstrak pekat hasil ekstraksi dilarutkan dengan pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan sepanjang plat pada jarak 1 cm dari garis bawah dan 1 cm dari garis tepi, selanjutnya dielusi dengan menggunakan butanol : etil asetat : n-

heksan (1 : 2 : 7) untuk identifikasi senyawa flavonoid. Noda yang terbentuk masing-masing diukur harga Rf nya.

3.3.4 Karakterisasi Senyawa

Sampel yang kira-kira sudah memberikan noda tidak berekor selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen *Ultraviolet-Visible Spectrometry* (UV-Vis) dan *Infrared Spectrometry* (IR).

3.3.4.1 UV-Vis Spectrophotometry (UV-Vis)

Analisis Kuantitatif Kandungan Flavonoid dilakukan dengan cara dipipet sebanyak 1 mL dari seri konsentrasi kuersetin 60 ppm, Tambahkan 3 mL etanol p.a, 0,2 mL AlCl₃, 0,2 mL natrium asetat 1 M, dan 5,6 mL aquabides. Dibaca absorbansinya pada interval 200-400 nm, dicatat panjang gelombang maksimumnya (Winahyu dkk., 2019).

3.3.4.2 Infrared Spectrophotometry (IR)

Fraksi yang memiliki sedikit senyawa metabolit sekunder dan mengandung flavonoid dan tanin berintensitas kuat akan digunakan pada tahap selanjutnya. Kemudian fraksi fraksi yang mengandung flavonoid dan tanin diuapkan pada suhu ruangan untuk menguapkan pelarut, selanjutnya isolat fraksi 7 diidentifikasi menggunakan spektroskopi inframerah (Mambruroh dkk., 2019).

3.3.5 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Silico*

Uji aktivitas antidiabetes secara *in silico* dilakukan dengan *molecular docking* menggunakan protein IGFY dengan ligan turunan flavonoid. Simulasi *molecular docking* menggunakan *software Discovery studio Visualization 2021* dan *AutodockTools 1.5.7*. Penentuan farmakokinetik obat menggunakan situs *website Lipinski Rule of Five*, *SwissADME*, dan *Prottox*.

3.3.5.1 Preparasi *Software AutodockTools*

Preparasi *AutodockTools* dilakukan dengan memisahkan reseptor dan ligan asli (ligan *native*) menggunakan *software Discovery Studio*. Reseptor dan ligan *native* yang telah dipisahkan masing-masing dioptimasi dengan menggunakan *software AutodockTools*.

3.3.5.2 Validasi Parameter *Docking*

Validasi metode *docking* dilakukan dengan metode *redocking* (*docking* ulang) ligan alami tirosin fosfatase 1B (PDB ID: 1GFY) menggunakan *AutodockTools*. Hasil dari proses ini berupa parameter *grid box* dan nilai RMSD.

3.3.5.3 *Molecular Docking*

Molecular docking dilakukan dengan menggunakan *software AutodockTools*. Pengaturan parameter *grid box* menggunakan koordinat *grid box* yang ditentukan pada saat *redocking*. *Docking* ligan uji dilakukan untuk menghasilkan nilai *binding energy*. Nilai *binding energy* yang digunakan adalah yang memperoleh nilai semakin minus, nilai minus 12 maka kekuatan ikatan dapat dipastikan terjadi.

3.3.5.4 Visualisasi Hasil *Docking*

Proses Visualisasi dilakukan untuk mengetahui interaksi yang terjadi berdasarkan pada hasil *docking* antara reseptor dan ligan. Visualisasi ditampilkan dalam bentuk 2D dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio 2021*.

3.3.5.5 Analisis Farmakokinetik dan Toksisitas

Penentuan farmakokinetik obat menggunakan situs *website Lipinski Rule of Five*, SwissADME, dan Prottox.

3.3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes Secara *In Vivo*

3.3.6.1 Rancangan Penelitian

Mencit yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 18 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok dengan 3 ekor mencit di setiap kelompoknya. Berikut adalah bentuk Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang akan dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Kelompok	Perlakuan Mencit			Total Kelompok
	P1	P2	P3	
DS ₁	DS _{1.1}	DS _{1.2}	DS _{1.3}	3
DS ₂	DS _{2.1}	DS _{2.2}	DS _{2.3}	3
DS ₃	DS _{3.2}	DS _{3.2}	DS _{3.3}	3
K (n)	K (n) ₁	K (n) ₂	K (n) ₃	3
K (+)	K (+) ₁	K (+) ₂	K (+) ₃	3
K (-)	K (-) ₁	K (-) ₂	K (-) ₃	3
Total Perlakuan Mencit	6	6	6	18

Keterangan:

DS₁ = Daun Sungkai Dosis 1

K (n) = Kelompok Normal

DS₂ = Daun Sungkai Dosis 2

K (+) = Kelompok Positif

DS₃ = Daun Sungkai Dosis 3

K (-) = Kelompok Negatif

3.3.6.2 Persiapan Hewan Uji

Mencit jantan yang memiliki aktivitas normal disiapkan sebanyak 18 ekor dengan umur 2-3 bulan dan memiliki berat badan 27-30 gram. Mencit dipelihara di dalam bak plastik, masing-masing wadah diisi ampas serbuk padi yang dilengkapi dengan tempat minum, tempat makan, dan tutup yang terbuat dari kawat. Masing-masing mencit diletakkan di kandang yang terpisah.

Mencit terlebih dahulu diaklimatisasi dalam lingkungan laboratorium selama 1 minggu dengan tujuan agar mencit tidak stress dan dapat beradaptasi dengan lingkungan baru. Selama proses aklimatisasi, mencit diberi pakan standar berupa pellet dan air minum *adlibitum* (sampai kenyang atau secukupnya).

3.3.6.3 Induksi Aloksan

Keadaan diabetes pada hewan uji dilakukan dengan penginduksian aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari. Semua kelompok perlakuan (kecuali kontrol normal) diinduksi aloksan secara subkutan. Sebelum dilakukan penginduksian, hewan uji dipuasakan terlebih dahulu selama 6-8 jam dengan tetap diberi minum, kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah hewan uji sebelum diinduksi aloksan. Pemeriksaan kadar glukosa awal terhitung pada pekan 0, setelah 24 jam penyuntikan aloksan dilakukan pengecekan kadar glukosa darah puasa (GDP1) atau KGD setelah induksi aloksan dan jika kadar glukosa darah mencit sudah diatas 126 mg/dL maka mencit akan dikatakan diabetes.

3.3.6.4 Pemberian Ekstrak Sampel pada Hewan Uji

Mencit yang mengalami hiperglikemia, selanjutnya masing-masing kelompok diberikan perlakuan secara oral. Ekstrak kental dilarutkan dalam akuades dengan tambahan NaCMC 1%. Sebanyak 18 ekor mencit yang digunakan pada penelitian ini yang kemudian terbagi ke dalam 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok 3 kali pengulangan. Setiap kelompok diberikan perlakuan yang berbeda, diantaranya sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol normal (N): hanya diberi makan berupa pellet dan air minum secukupnya.
- b. Kelompok kontrol positif (K+): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi glibenklamid.
- c. Kelompok kontrol negatif (K-): hanya diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari.

- d. Kelompok perlakuan 1: diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak metanol daun sungkai sebanyak 100 mg/berat badan/hari (dosis I).
- e. Kelompok perlakuan 2: diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak metanol daun sungkai sebanyak 200 mg/berat badan/hari (dosis II).
- f. Kelompok perlakuan 3: diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi ekstrak metanol daun sungkai sebanyak 400 mg/berat badan/hari (dosis III).

3.3.6.5 Parameter Uji

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada mencit. Pemeriksaan kadar glukosa darah pada mencit ini dilakukan sebanyak 4 kali. Tahap pertama dilakukan sebelum mencit diinduksi aloksan, tahap kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan, tahap ketiga dilakukan pengukuran pada pekan 3 setelah mencit diberi perlakuan dengan ekstrak metanol daun sungkai, dan tahap keempat dilakukan pengukuran pada pekan 4 setelah mencit diberi perlakuan dengan ekstrak metanol daun sungkai. Pemeriksaan kadar glukosa darah ini dilakukan menggunakan glukometer strips. Ujung ekor mencit disterilkan menggunakan *alcohol swabs* yang bertujuan agar tidak terjadi iritasi, setelah itu ekor dilukai sedikit hingga darah yang keluar diteteskan pada strip glukometer yang sebelumnya telah dimasukkan ke alat glukometer, kemudian ditunggu 10 detik hingga didapat hasil kadar glukosa darah pada layar glukometer.

3.3.6.6 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan cara *One-way Analysis of Variance* (ANOVA). Data yang diperoleh dari hasil uji antidiabetes akan dianalisis menggunakan metode statistik *One-way* ANOVA dan BNT taraf nyata 5% untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan rata-rata kadar glukosa darah diantara 6 kelompok perlakuan. Uji *One-way* ANOVA menghasilkan nilai $p < 0,05$ (terdapat

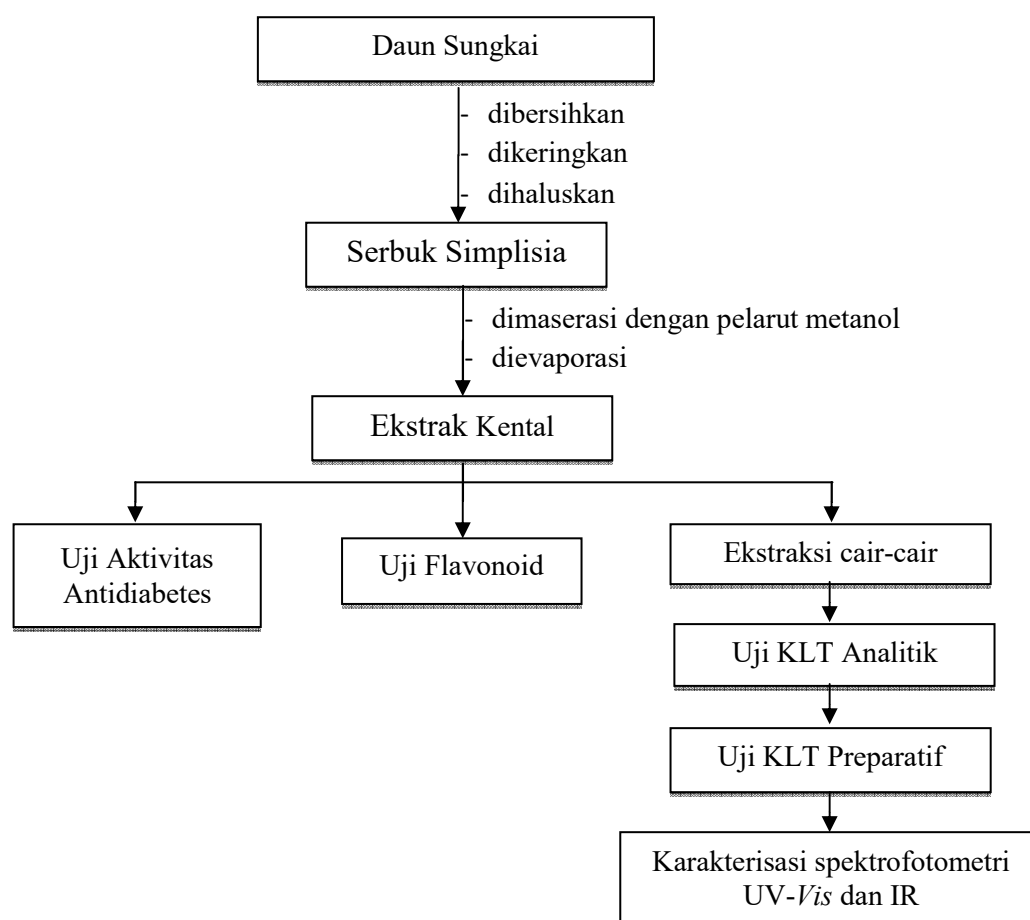
perbedaan), maka dilanjutkan analisis dengan menggunakan uji *Post Hoc* LSD untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan (Dahlan, 2008). Penilaian keseluruhan aktivitas antidiabetes dinyatakan sebagai penurunan glukosa (%GL) yaitu (Budiasih dan Pertiwi, 2015):

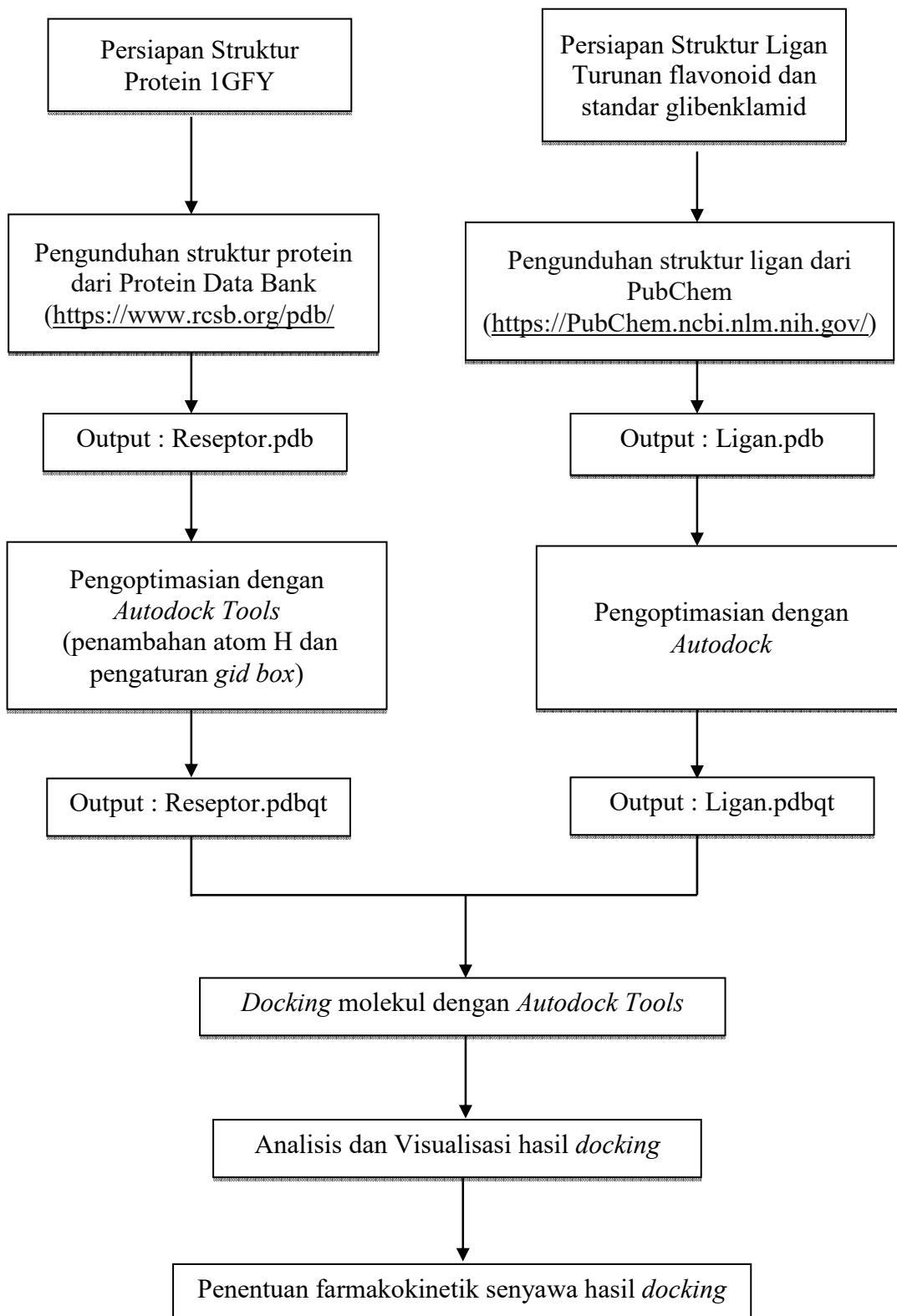
$$\%GL = \frac{\text{Kadar Glukosa}_{\text{sebelum perlakuan}} - \text{Kadar Glukosa}_{\text{setelah perlakuan}}}{\text{Kadar Glukosa}_{\text{sebelum perlakuan}}} \times 100\%$$

3.3.7 Diagram Alir

Berdasarkan seluruh proses prosedur diatas, maka dapat dirangkum ke dalam bentuk diagram alir sebagai berikut :

1. Diagram Alir Uji *In Vivo*



2. Diagram alir uji *in silico* senyawa turunan flavonoid dengan protein 1GFY

Gambar 9. Diagram Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan didapatkan simpulan sebagai berikut

1. Ekstrak metanol daun sungkai yang didapatkan sebanyak 68 gram yang berbentuk cairan yang sangat kental dan berwarna hijau pekat.
2. Hasil karakterisasi UV-*Vis* filtrat hasil KLTP menunjukkan serapan panjang gelombang 256 nm dan 373 nm dan hasil karakterisasi spektrometer IR menunjukkan daerah serapan gugus fungsi -C-O, -C=C aromatik, -O-H, dan -C=O yang menunjukkan bahwa sampel merupakan flavonoid.
3. Senyawa kaempferol merupakan senyawa kandidat obat antidiabetes karena memenuhi kriteria analisis farmakokinetik dan tidak menunjukkan adanya toksisitas.
4. Ekstrak metanol daun sungkai dapat menurunkan kadar gula darah mencit dengan %GL sebesar 70,03%.
5. Dosis ekstrak metanol daun sungkai yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah mencit yaitu dosis 400 mg/kgBB.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah didapatkan adapun saran untuk pengembangan penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut dan karakterisasi senyawa flavonoid ekstrak metanol daun sungkai menggunakan LC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, D. 2022. *Penyembuhan Luka Sayat Pada Mencit Melalui Pemberian Gel Kefir*. Adab. Indramayu.
- Aini, Q. 2019. Penentuan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dalam Menurunkan Glukosa Darah Pada Tikus Hiperglikemik Di Laboratorium. *Prosiding SEMDI-UNAYA (Seminar Nasional Multi*. 6(3): 226–233.
- Ajie, R.B. 2015. *White Dragon Fruit (Hyloceleus undalus) Potential As Diabetes Mellitus Treatment Artikel Review Faculty Of Medicine: Lampung University*. 4(1).
- 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.
- Ames, B.N., Durston, W.E., Yamasaki, E. and Lee, F.D. 1973. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70, 2281–2285.
- Arifin, B., dan Ibrahim, S. 2018. Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21–29.
- Ariono, D., Mirwan, A. 2008. Dinamika Tetes dan Koefisien Pindah Massa Pada Ekstraksi Cair-cair dalam Kolom Isian. *Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia & Proses*. Semarang.
- Ariyanti, R., Nurcahyanti, W., dan Arifah, S.W. 2007. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Mencit Putrij Jantan Yang Diinduksi dengan Potaskum Oksonat. *Pharmakon*. 8(2):56-63.
- Bhowmik, A, Liakot, A.K. Masfida, Begum, R. 2009. Studies on the Antidiabetic Effects of *Mangifera Indica* stem barks and Leaves on non Diabetic, Type 1 and Type 2 Diabetic Modal Rats, Bangkok Sh . *J Pharmacol* 4:110 – 114.

- Chandramohan, G., Khalid S. Al-Numair, Mohammed A. Alsaif, Chinnadurai Veeramani. 2015. Antidiabetic effect of kaempferol a flavonoid compound, on streptozotocin-induced diabetic rats with special reference to glycoprotein components. *Progress in Nutrition*. Vol. 17. 1: 50-57
- Cowin, E. J. 2008. *Handbook of pathophysiology 3 edition*. Lippincott Williams . USA.
- Daina, A., Olivier, M., Vincent. 2017. SwissADME: a Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics , Druglikeness, and Medical Chemistry Friendliness of Small Molecul. *Scientific Report*. 7.
- Dewi, Y. F., Anthara, M. S., dan Dharmayudha, A. A. G. O. 2014. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Peningkatan Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan Kondisi Diabetes Yang Di Induksi Aloksan. *Buletin Veteriner Udayana*. 6(2): 73–79.
- Ermawati, T. 2012. Periodontitis dan Diabetes Melitus. *Stomatognatic (J. K. G Unej)*. 9(3): 152–154.
- Fadlilaturrahmah, Maulana, A. P., dan Nor, T. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan dan Antitirozinase Fraksi n -Butanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack .) Secara Kualitatif Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Pharmascience*. 8(2): 90–101.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2 [Artikel Review] Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Majority*. 2(5): 93–101.
- Ferdinan, A., dan Fitri, S.R. 2021. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Pandan Hutan Jenis Baru *Freycinetia Sessiliflora* Rizki. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*. 4(1):1-6.
- Giwangkara, E.G. 2007. *Spektrofotometri Inframerah*. *Situs Kimia Indonesia*. Chem-is-try.org
- Halder, A., Suvadra, D., Tanmoy, B., and Arup, M. 2017. Rapid synthesis for monodispersed gold nanoparticles in kaempferol and anti-leishmanial efficacy against wild and drug resistant strains. *View Article Online The Royal Society of Chemistry*. 7:14159-1467.
- Hambali, M., Mayasari, F., dan Noermansyah, F. 2015. Ekstraksi Antosianin Dari Ubi Jalar Dengan Variasi Konsentrasi Solven, Dan Lama Waktu Ekstraksi. *Jurnal Teknik Kimia*. 20(2): 25–35.
- Hammado, N., dan Illing, I. 2013. Identifikasi senyawa bahan aktif alkaloid pada tanaman lahuna (*eupatorium odoratum*). *Jurnal Dinamika*. 04(2): 1–18.

- Hardjono, S. 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-klorobenzoiloksi) Urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi) Urea 6.
- Hasanah, U., Rusny, dan Masri, M. 2015. Analisis Pertumbuhan Mencit (*Mus musculus* L.) ICR Dari Hasil Perkawinan Inbreeding Dengan Pemberian Pakan AD1 dan AD2. *Prosiding Seminar Nasional Mikrobiologi Kesehatan Dan Lingkungan*. 140–145.
- Hestiana, D. 2017. Faktor-Faktor Yang Berhubungan Dengan Kepatuhan Dalam Pengelolaan Diet Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Kota Semarang Dita. *Jurnal of Health Education*. 2(2): 138–145.
- 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 For Virtual Screening Against Dihydropteroate Synthase. *Journal Of Chemical Information And Modeling*. 49(2): 444-460.
- Ibrahim, A., dan Kuncoro, H. 2012. Identifikasi Metabolit Sekunder Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) Terhadap Beberapa Bakteri Patogen. *Journal Of Tropical Pharmacy And Chemistry*. 2(1): 8–18.
- Ibrahim, W., Mutia, R., Nurhayati, N., Nelwida, N., dan Berliana, B. 2016. Penggunaan Kulit Nanas Fermentasi dalam Ransum yang Mengandung Gulma Berkhasiat Obat Terhadap Konsumsi Nutrient Ayam Broiler. *Jurnal Agripet*. 16(2): 76.
- Internasional Diabetes Federation. 2021. Akses 25 Juni 2022.
- Ketaren, S. 1988. *Penentuan Komponen Utama Minyak Atsiri Temulawak (Cuecuma Xanthorrhiza Rozburg)*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Khaeruddin. 1994. *Pembibitan Tanaman HTI*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan Wiyono, W. I. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Dalam Daun Beluntas (*Pluchea indica* L.). *Pharmacon*. 1(1): 47–52.
- Kroes, R., Renwick, A. G., Cheeseman, M., Kleiner, J., Mangelsdorf, I., Piersma, A., Schilter, B., Schlatter, J., van Schothorst, F., Vos, J. G. et al. 2004. Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chem. Toxicol.* 42: 65–83.
- Kusuma, G. P. O. R. 2021. Uji Antihiperqlikemia 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.
- Latief, M., Sari, P. M., Fatwa, L. T., Tarigan, I. L., and Rupasinghe, H. P. V.

2021. Antidiabetic Activity of Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Leaves Ethanol Extract on the Male Mice Induced Alloxan Monohydrate. *Pharmacology and Clinical Pharmacy Research*. 6(2): 64.
- Lenzen, S. 2008. Review: The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia* 51: 216–226.
- Lestari., Zulkarnain, S.T., Aisyah, S. 2021. Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan. *Prosiding Biologi Achieving the Sustainable Development Goals with Biodiversity in Confronting Climate Change*.
- Lipinski, C.A., Franco, L., Beryl, W.D., and Paul, J.F. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 46 : 3-26
- Marlinda, M. 2012. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.)| *Jurnal MIPA unsrat online*. 24-28.
- Muliawan, I. K. D. I. 2019. Efek pemberian kombinasi jus aloe vera dan glibenklamid terhadap penurunan kadar glukosa darah pada model tikus diabetes yang diinduksi dengan streptozotosin dan nikotinamid. *Intisari Sains Medis*. 10(2): 527–531..
- Mustapa, M.A., Taupik, M., dan Lalapa, A.R. 2019. Analisa Kadar Flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-VIS dalam Kulit Buah salak. *journal Syifa Sciences and clinical research*.
- Ngibad, K. 2019. Phytochemical Screening Of Sunflower Leaf (*Helianthus Annuus*) And Anting-Anting (*Acalypha Indica* Linn) Plant Ethanol Extract. *Borneo Journal Of Pharmacy*. 2(1):24-30.
- Nogrady, T., and Weaver, D.F. 2005. *Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach*. Oxford University Press. USA.
- Ogata, Nobuchi, T., Y. and S. Siripatanadilok. 1995. Seasonal characteristics of wood formation in *Hopea odorata* and *Shorea henryana*. *Iawa* 1. 16: 361-369.
- Octavia, D.R. 2009. *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steen) Dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)*. Skripsi Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

- Puspati, N.K.S., Made, S.A., Anak, A.G.O.D. 2013. Penambahan Bobot Badan Tikus Diabetes Mellitus dengan Pemberian Ekstrak Etanol Buah Naga Daging Putih. *Indonesia Medicus Veterinus*. 2(2): 225-234.
- Putri, Z.F. 2010. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piprt betle L.) Terhadap Propionibacterium aureusm*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Putu, G., dan Reza, O. 2021. Uji Antihiperqlikemia Ekstrak Etanol Daun Sirsak(*Annona muricata L.*) Terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Glukosa. *Jurnal Natur Indonesia*. 19 (April): 1–5.
- Radiansah, R., dan Rahman, N. 2013. Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleivera*) Sebagai Alternatif Untuk Menurunkan Kadar Gula Darah Pada Mencit. *J. Akademika Kim*. 2(2): 54–61.
- Rohilla, A., and Ali, S. 2012. Alloxan Induced Diabetes : Mecanism and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science*. 3(2) : 819-820
- Ruswanto., Mardianingrum, R., and Yanuar, A. 2022. Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1). *Journal of Scientific and Applied Chemistry* 25(3): 87–96.
- Sagitasa, S., Karya, E., Luthfi, I.S., Annisa, R., Desra, W.S., Abednego, K., dan Muchariadi, M. 2021. Studi In Silico Senyawa Aktif Daun Singawalang (*Petiveria alliacea*) Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah Untuk Pengobatan Penyakit Diabetes Melitus Tipe-2. *Chimica et Natura Acta*. 9(2):58-66.
- Saputra, T.R., Agustinus, N., dan Yunus, T.S. 2018. Penggunaan metode ekstraksi maserasi dan partisi pada tumbuhan cocor bebek (*kalanchoe pinnata*) dengan kepolaran berbeda. *Fullerene Journ. Of Chem*. 3(1):5-8.
- Sari, I.W., Junaidin., dan Dina, P. 2020. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* a-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 7(2):54-60.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2007. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta
- Schrey,A.K., Nickel-Seeber,J., Drwal,M.N., Zwicker,P., Schultze,N., Haertel,B. and Preissner,R. 2017. Computational prediction of immune cell cytotoxicity. *Food Chem. Toxicol*. 107: 150–166.

- Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J. and Bryce, D.L. 2014. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley & Sons. New York.
- Siramshetty, V.B., Nickel, J., Omieczynski, C., Gohlke, B.-O., Drwal, M.N. and Preissner, R. 2016. WITHDRAWN—a resource for withdrawn and discontinued drugs. *Nucleic Acids Res.* 44, D1080–D1086.
- Susanti, M.A., Ka'bah., Ayusti, D. 2021. *Ekstrak Daun Pare (Momordica charantia L) sebagai Antidiabetic*. NEM.
- Tanu, I. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Fakultas Kedokteran UI. Jakarta.
- Tasmin, N., Erwin., Irawan, W.K. 2014. Identifikasi dan Uji Toksisitas Senyawa Flavonoid Fraksi Kloroform dari Daun Terap (*A. Odoratissimus* Blanco). *Jurnal Isolasi*.
- Telange, D.R., Arun, T.P., Amol, T., and Bhusan, B. 2014. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for the Estimation of Kaempferol in Kaempferol: Hydrogenated Soy PhosphatidylCholine (HSPC) Complex. *Pharmaceutical Methods*. 5(1):34-38
- Tu, X., Ma, S., Gao, Z., Wang, J., Huang, S., Chen, W. 2017. One-Step Extraction and Hydrolysis of Flavonoid Glycosides in Rape Bee Pollen Based on Soxhlet-Assisted Matrix Solid Phase Dispersion. *Phytochemical Analysis*. 28(6):505-511.
- Winahyu, D.A., Agustina, R., dan Marisa, A. 2019. Penetapan Kadar Flavonoid Pada Kulit Batang Kayu Raru (*Cotylelobiummelanoxylon* P) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS. *Jurnal Analis Farmasi*. 4(1). 29-36.
- Winarsi, H., Sasongko, N. D., Purwanto, A. and Nuraeni, I. 2013. Ekstrak Daun Kapulaga Menurunkan Indeks Atherogenik dan Kadar Gula Darah Tikus Diabetes Induksi Alloxan. *Agritech*. 33(3) :273-280.
- Zhang, L., Mchale, C.M., Greene, N., Snyder, R.D., Rich, I.N., Aardema, M.J., Roy, S. and Pfuhler, S. 2014. Commentary emerging approaches in predictive toxicology. 5: 679–688.