

**IDENTIFIKASI SENYAWA INHIBITOR ALFA GLUKOSIDASE DARI
DAUN SUNGKAI (*Penorema canescens* Jack) DENGAN METABOLOMIK
BERBASIS LC-MS/MS**

(Skripsi)

Oleh

**DEVI LIANA
1917011022**



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

ABSTRAK

IDENTIFIKASI SENYAWA INHIBITOR ALFA GLUKOSIDASE DARI DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack) DENGAN METABOLOMIK BERBASIS LC-MS/MS

Oleh

DEVI LIANA

Tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) adalah tanaman obat dalam famili Verbenaceae diketahui memiliki aktivitas antidiabetes dan mengandung senyawa fenolik, tanin, alkaloid, steroid, flavonoid dan saponin. Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa inhibitor α -glukosidase ekstrak daun sungkai dengan pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS. Daun sungkai diekstraksi dengan variasi pelarut, yaitu *n*-heksana, etil asetat dan etanol. Ekstrak diuji aktivitas antidiabetes dengan metode uji inhibisi α -glukosidase dan diidentifikasi menggunakan LC-MS/MS. Hasil analisis PCA didapatkan ketiga ekstrak dapat berkelompok dengan baik dengan total PC 87,3%. Hasil analisis PLS-R menunjukkan ekstrak etil asetat merupakan ekstrak paling aktif terhadap aktivitas antidiabetes. Hasil analisis OPLS-DA terdapat metabolit penciri diduga berpotensi sebagai antidiabetes, yakni 592.26651 (Pheophorbide A); 462.11454 (Luteolin-7-O-glucuronide); 478.14619 (Calceolarioside); 344.16122 (Peronemin D1) dan 386.14823 (Coprostanone) . Kelima senyawa metabolit tersebut berada pada plot di daerah negatif , nilai Variable Influence on Projection (VIP) >1, pvalue < 0,05 dan FDR < 0,05 serta , log₂ fold change >1 yang menunjukkan bahwa senyawa metabolit tersebut berkontribusi major terhadap aktivitas antidiabetes.

Kata Kunci: *Peronema canescens*, antidiabetes, metabolomik, PCA, PLS-R, OPLS-DA

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF ALFA GLUCOSIDASE INHIBITORS FROM SUNGKAI LEAF (*Peronema canescens* Jack) USING METABOLOMICS BASED ON LC-MS/MS

By

DEVI LIANA

Sungkai (*Peronema canescens* Jack) is a medicinal plant in the Verbenaceae family known to have antidiabetic activity and contains phenolic compounds, tannins, alkaloids, steroids, flavonoids and saponins. The purpose of this study was to identify α -glucosidase inhibitor compounds from Sungkai leaf extract using a metabolomics approach based on LC-MS/MS. Sungkai leaves were extracted with a variety of solvents, namely *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol. The extract was tested for antidiabetic activity using the α -glucosidase inhibition test method and identified using LC-MS/MS. The results of PCA analysis showed that the three extracts could be grouped well with a total PC of 87.3%. The results of the PLS-R analysis showed that the ethyl acetate extract was the most active extract for antidiabetic activity. The results of the OPLS-DA analysis showed that the characteristic metabolites were suspected of having anti-diabetic potential, namely 592.26651 (Pheophorbide A); 462.11454 (Luteolin-7-O-glucuronide); 478.14619 (Calceolarioside); 344.16122 (Peronemin D1) and 386.14823 (Coprostanone). The five metabolites are in the plot in the negative area, Variable Influence on Projection (VIP) value > 1 , *p*value < 0.05 and FDR < 0.05 and log₂ fold change > 1 which indicates that these metabolites contribute majorly to activity. antidiabetic.

Keywords: *Peronema canescens*, antidiabetic, metabolomics, PCA, PLS-R, OPLS-DA

**IDENTIFIKASI SENYAWA INHIBITOR ALFA GLUKOSIDASE DARI
DAUN SUNGKAI (*Penorema canescens* Jack) DENGAN METABOLOMIK
BERBASIS LC-MS/MS**

Oleh

DEVI LIANA

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 : **IDENTIFIKASI SENYAWA INHIBITOR
ALFA GLUKOSIDASE DARI DAUN
SUNGKAI (*Penorema canescens* Jack)
DENGAN METABOLOMIK BERBASIS
LC-MS/MS**

Nama Mahasiswa : **Devi Liana**

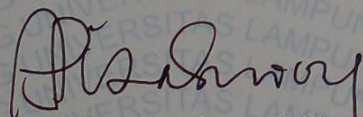
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011022

Program Studi : Kimia

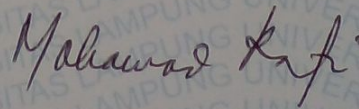
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

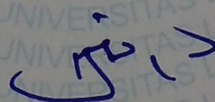


Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si
NIP 197311191998022001



Dr. Mohammad Rafi, M.Si
NIP 197703162006041010

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

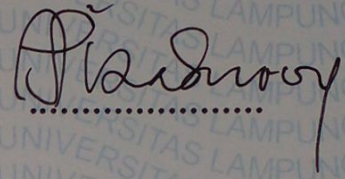


Mulyono, Ph.D.
NIP 197406112000031002

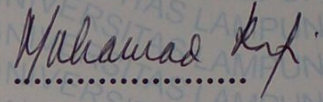
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

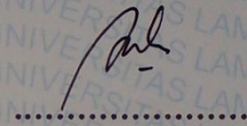
Ketua : **Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**


.....

Sekretaris : **Dr. Mohammad Rafi, M.Si.**


.....

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


.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.
NIP 19711001 200501 1002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **09 Juni 2023**

PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Devi Liana
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011022
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya yang berjudul : **"Identifikasi Senyawa Inhibitor Alfa Glukosidase Dari Daun Sungkai (*Penorema canescens* Jack) Dengan Metabolomik Berbasis LC-MS/MS"** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, Juni 2023

Yang menyatakan,



Devi Liana

NPM. 1917011022

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Devi Liana, dilahirkan di Gadingrejo, Pringsewu, Lampung pada tanggal 14 Juli 2001. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan bapak Legiyanto dan Ibu Sri Murni. Penulis memulai pendidikan formal di SD Negeri 3 Gadingrejo pada tahun 2007 dan tamat tahun 2013, pada tahun yang sama penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Gadingrejo dan tamat pada tahun 2016. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Gadingrejo. Pada tahun 2019 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) program Strata Satu (S1) di Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Sejak menempuh pendidikan di SMA, penulis aktif mengikuti olimpiade kimia. Di dunia kampus, penulis pernah mengikuti program Merdeka Belajar-Kampus Merdeka (MBKM) Riset di Institut Pertanian Bogor (IPB) selama 4 bulan.

MOTTO

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS Al-Insyirah: 5-6)

“Sesungguhnya Allah bebas melaksanakan kehendak-Nya, Dia telah menjadikan untuk setiap sesuatu menurut takarannya”

(QS At-Thalaq: 3)

“Karunia Allah yang paling lengkap adalah kehidupan yang didasarkan pada ilmu pengetahuan.”

(Ali bin Abi Thalib)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kepada Allah SWT atas rahmat dan hidayah-Nya

Penulis mempersembahkan karya ini teruntuk :

Kedua Orang Tua Tersayang

Yang telah membesarkan, mendidik, mendo'akan, memberikan kasih sayang dan dukungan kepada penulis.

Adik dan Keluarga Besar Penulis

Yang telah memberikan dukungan dan semangat

Rasa hormat kepada :

Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.

Dr. Mohamad Rafi, M.Si.

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

Yang telah sabar membimbing, memberikan ilmu, serta saran dan masukannya selama menempuh pendidikan dan penelitian di kampus

Seluruh Dosen, Staf Jurusan Kimia, dan Teman-teman yang telah memberikan ilmu, saran, dan semangat. Semoga Allah SWT. Membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis

Almamater Tercinta

Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah segala puji hanya milik Allah SWT. dzat yang Maha Sempurna , atas segala nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul " **Identifikasi Senyawa Inhibitor Alfa Glukosidase Dari Daun Sungkai (*Penorema canescens* Jack) Dengan Metabolomik Berbasis LC-MS/MS**" ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Shalawat beriring salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, beserta keluarga, sahabat, dan para pengikutnya hingga akhir zaman nanti.

Penulis sangat menyadari bahwa selama perjuangan dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih kepada:

1. Ayah Legiyanto dan Ibu Sri Murni yang telah mendidik dan merawatku dengan cinta yang begitu tulus, memberikan kasih sayang, pengorbanan yang tidak tenilai harganya. mendo'akan, memberikan kasih sayang, motivasi dan dukungannya kepada penulis.
2. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing I atas segala bimbingan, bantuan, nasihat, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Mohamad Rafi S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing II atas segala bimbingan, bantuan, nasihat, dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si. selaku dosen pembahas atas segala masukan positif kepada penulis. yang sangat berarti bagi perbaikan skripsi ini.

5. Bapak Wasinton Simanjuntak selaku dosen pembimbing akademik atas kesediannya memberikan bimbingan, bantuan dan nasihat kepada penulis.
6. Bapak Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu dosen dan Kepala Laboratorium Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas semua ilmu yang telah diberikan selama perkuliahan.
9. Para Staf dan Laboran Jurusan Kimia FMIPA Unila, Pak Rudi, Bu Endang, Mba Yuni, Mba Wit dan Mba Della atas segala bantuan yang diberikan kepada penulis.
10. *My lil sis*, Dilla Dwi Cahyani, terimakasih atas bantuan dan supportnya.
11. Keluarga besar “*Kasmo Family*” yang selalu memberikan segala doa, arahan, support dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
12. Keluarga besar “*Harjo Family*” yang selalu memberikan segala doa, arahan, support dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
13. Rekan-rekan *Noviany’s Research Group* 2019 (Sayidah, Havier dan Jihan) atas semua kebersamaan, kasih sayang, motivasi, keceriaan, pengertian, bantuan, dan perhatian yang mungkin sering tak terbalas. Semoga Allah swt. memberikan balasan terbaik untuk ketulusan yang kalian berikan.
14. Kakak-kakak *Noviany’s Research Group*, yaitu mba wulan, mba ofri, mba rista, mba reni dan kak hanif. Terima kasih atas semangat yang kalian berikan.
15. Rekan- rekan peneliti di IPB yaitu ibu dewi, mba alfi, mba henny dan. Terimakasih atas bimbingan dan bantuan selama penelitian di Bogor.
16. Rekan- rekan peneliti di Lab. Kimia Organik : Jihan, Sayidah, Havier, Rizky, Kania, Akmal, Ara, Mba Rista, Mba Reni, Mba Ofri, Mba Antin, Mba Armi, Mba Rinda, Kak Andi, Mba Farah dan Kak Andika. Terimakasih atas bantuan, ilmu, semangat dan dukungannya kepada penulis.
17. Teman-Teman *Chemistry’19* atas kebersamaan dan kekompakan yang selalu kita ciptakan. Terimakasih atas kebersamaan, pengalaman, motivasi serta dukungan kepada penulis selama perkuliahan.

18. Pemilik kosan Bintang Fajar (Ibu Pudjo, Aryo dan Bintang) dan penghuni kosan Bintang Fajar (Lia, Kiki, Nazla, Leoni dan Sasa). Terima kasih atas pengalaman, perhatian dan kebersamaan selama di Bogor.
19. Teman-teman kosan Sabianova dan Asrama Anita. Terima kasih atas pengalaman selama ini.
20. Kakak-kakak Kimia angkatan 2015, 2016, 2017, 2018 atas bimbingannya dan adik-adik Kimia angkatan 2020, 2021, 2022 atas dukungan, do'a dan semangat yang diberikan kepada penulis.
21. Almamater tercinta Universitas Lampung
22. Semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.

Dalam penulisan skripsi ini masih adanya kekurangan sehingga kritik dan saran sangat diharapkan penulis untuk kesempurnaan skripsi ini dan untuk perbaikan dalam penelitian selanjutnya. Semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat pada semua pihak.

Bandar Lampung, Juni 2023

Penulis,

Devi Liana

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Verbenaceae	4
2.2. Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack).....	4
2.3. Efek Farmakologis Tanaman Sungkai	6
2.4. Kandungan Metabolit Sekunder Daun Sungkai	6
2.5. Ekstraksi.....	8
2.6. Diabetes Melitus	9
2.7. Enzim	10
2.8. Inhibitor Enzim.....	12
2.9. Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase	13
2.10. LC-MS/MS.....	14
2.11. Metabolomik.....	15
III. METODE PENELITIAN.....	18
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.2. Alat dan Bahan.....	18
3.3. Prosedur Penelitian.....	19
3.3.1. Persiapan Sampel	19
3.3.2. Ekstraksi	19
3.3.3. Uji Aktivitas Antidiabetes Alfa Glukosidase.....	19
3.3.4. Penentuan IC ₅₀	21
3.3.5. Analisis LC-MS/MS	22
3.3.6. Analisis Kemometrik.....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Persiapan Sampel	24
4.2. Ekstraksi Sampel	24
4.3. Uji Aktivitas Antidiabetes dengan Inhibisi α -glukosidase	26
4.4. Analisis LC-MS/MS.....	30
4.5. Analisis Multivariat PCA (<i>Principle Component Analysis</i>).....	32

4.6. Analisis Multivariat PLS-R (<i>Partial Least Square Regression</i>).....	33
4.7. Analisis Multivariat OPLS-DA (<i>Orthogonal Partial Least Squares Discriminant Analysis</i>)	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Batas nilai kadar gula darah (Sutanto, 2013).	10
2. Beberapa sumber enzim (Susanti dkk., 2017).	11
3. Nilai % rendemen ekstrak daun sungkai	26
4. Nilai % inhibisi dan IC ₅₀ ekstrak etanol.....	28
5. Nilai % inhibisi dan IC ₅₀ ekstrak etil asetat	28
6. Nilai % inhibisi dan IC ₅₀ ekstrak <i>n</i> -heksana	29
7. Nilai % inhibisi dan IC ₅₀ akarbosa	29

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack)	5
2. Senyawa hasil isolasi dari daun sungkai	7
3. Persamaan reaksi enzimatis	13
4. Serbuk Daun Sungkai	24
5. Maserasi sampel	25
6. Ekstrak pekat hasil ekstraksi	25
7. Reaksi kimia pada uji α -glukosidase	27
8. Kromatogram ekstrak <i>n</i> -heksana	30
9. Kromatogram ekstrak etil asetat	31
10. Kromatogram ekstrak etanol	31
11. <i>Score plot</i> PCA	32
12. <i>Score plot X-Y relation</i>	33
13. <i>Score plot</i> OPLS-DA	35
14. <i>S-plot</i> OPLS-DA	35
15. Senyawa <i>known</i> inhibitor enzim α -glukosidase	37
16. Interaksi senyawa pheophorbide A dengan enzim	38
17. Interaksi senyawa luteolin-7-O-glucuronide dengan enzim	38
18. Interaksi senyawa calceolarioside A dengan enzim	39

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes adalah penyakit yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula dalam darah (hiperglikemia) yang disebabkan oleh gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Saat ini diabetes menjadi salah satu masalah kesehatan di dunia karena lebih dari 400 juta orang telah terkena diabetes. Prevalensi diabetes diketahui telah meningkat lebih cepat di negara-negara miskin dan berkembang daripada negara maju (WHO, 2016). *International Diabetes Federation* (IDF) mengonfirmasi diabetes menjadi salah satu keadaan darurat kesehatan global yang tumbuh paling cepat di abad ke-21 dengan peningkatan sebesar 42%. Di Asia Tenggara diperkirakan tahun 2045 meningkat 68% atau sekitar 152 juta jiwa penderita diabetes dan Indonesia menjadi negara urutan ke-5 di dunia dengan 19,5 juta jiwa penderita diabetes tahun 2021 dan diperkirakan meningkat menjadi 28,6 juta jiwa di tahun 2045 (IDF, 2021).

Pengobatan penyakit diabetes menggunakan tanaman obat terbukti memberikan pengaruh terhadap penyembuhan dengan menurunkan gejala hiperglikemik (Susiarti, 2015). Penggunaan tanaman obat di dunia sudah banyak digunakan di negara maju maupun negara berkembang. Negara-negara di Asia Tenggara memiliki sekitar 281,492 sumber daya tanaman obat sebagai pengobatan tradisional dan 96,2% menggunakan tanaman obat asli Indonesia. Data menunjukkan 60-90% penduduk di beberapa negara berkembang bergantung pada obat herbal, contohnya 40% penduduk Indonesia menggunakan tanaman obat untuk pencegahan dan pengobatan suatu penyakit (WHO, 2009). Salah satu tanaman obat yang memiliki aktivitas antidiabetes adalah tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack).

Tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack) adalah tanaman yang aktif secara farmakologis, seperti anti-inflamasi, toksisitas, anti-hiperurisemia, antibakteri, antioksidan dan lainnya. Tanaman sungkai banyak ditemukan di Sumatera Selatan, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan dan Kalimantan Tengah (Dewi dkk., 2017). Tanaman sungkai dimanfaatkan oleh masyarakat Kalimantan sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan sakit gigi (Elsi dkk., 2020). Potensi antidiabetes daun sungkai sudah pernah dilaporkan oleh Latief dkk. (2021) bahwa ekstrak etanol daun sungkai memiliki potensi sebagai antidiabetes yang dibuktikan dengan adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Fraksi etil asetat daun sungkai dapat memberikan persentase penurunan kadar glukosa secara *invivo* (Anganti, 2022). Berdasarkan hal tersebut, perlu mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang berhubungan dengan aktivitas biologisnya yang dapat dilakukan dengan pendekatan metabolomik.

Metabolomik digunakan untuk standarisasi dan kontrol kualitas produk herbal karena memungkinkan analisis yang menyeluruh dan berkinerja tinggi dari obat-obatan herbal yang mengandung metabolit kompleks yang dikombinasikan dengan instrumen kimia (Warsito, 2018). Kemometrik merupakan teknik analisis dalam metabolomik berkaitan tentang ilmu statistika yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi suatu komponen kimia tanaman (Soleh dkk., 2008). Beberapa penelitian mengenai pendekatan metabolomik berbasis (LC-MS/MS) telah dilaporkan diantaranya temu ireng dengan variasi lokasi tumbuh dihasilkan potensi antioksidan dan toksisitas yang paling tinggi pada senyawa massa ion 312,28 dan 248,15 (Septaningsih *et al.*, 2018). Kemudian digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif antioksidan berdasarkan variasi tempat tumbuh yang menghasilkan sampel asal Pandeglang memiliki nilai antioksidan tertinggi dengan IC_{50} sebesar 43,35 ppm (Utomo, 2021). Penelitian yang telah dilaporkan oleh Rafi dkk. (2021) menggunakan asal geografis *A. paniculata* dilaporkan bahwa terdapat pengelompokan berdasarkan asal geografis mempengaruhi komposisi metabolit yang menyebabkan perbedaan aktivitas penghambatan α -glukosidase.

Saat ini pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS menggunakan variasi pelarut pengestraksi untuk mengidentifikasi senyawa inhibitor alfa glukosidase pada daun sungkai belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian melalui pendekatan metabolomik dengan menggunakan analisis kemometrik dengan metode PCA, PLSR dan OPLSDA.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menentukan nilai aktivitas inhibisi α -glukosidase ekstrak daun sungkai dengan variasi kepolaran pelarut pengestraksi menggunakan pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS.
2. Mengidentifikasi senyawa inhibitor α -glukosidase ekstrak daun sungkai menggunakan pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ekstrak daun sungkai yang paling berpotensi sebagai antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase berdasarkan perbedaan kepolaran pelarut pengestraksi dan mengidentifikasi senyawa inhibitor α -glukosidase pada daun sungkai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Verbenaceae

Verbenaceae atau disebut sebagai famili Verbena atau Vervain merupakan anggota dari ordo Laminales salah satu famili tumbuhan berbunga dikotil. Verbenaceae mencakup 35 genus dan 1200 spesies yang tumbuh di daerah tropis, subtropis dan iklim sedang. Tumbuhan Verbenaceae ini biasanya berupa pohon yang tidak atau jarang merambat. Daunnya bercirikan berseberangan sederhana, dan majemuk menjari. Bunganya biseksual, zigomorfik, atau aktinomorfik. (Xu *et al.*, 2017). Verbenaceae Tumbuh di daerah tropis dengan ciri dapat tumbuh pada habitat yang beragam atau liar (Mathew *et al.*, 1987). Jenis genus Verbena dapat ditemukan di belahan bumi barat sekitar 200 sampai 250 spesies. Contoh spesies Verbenaceae adalah *Peronema canescens* (Heywood *et al.*, 2007).

2.2. Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Pohon sungkai atau dikenal dengan sebutan sekai, sungkai, sungkih (Sumatera), lurus, longkai, jati sabrang, dan sungke (Jawa) adalah anggota dari famili Verbenaceae (Martawijaya, 2005). Pohon sungkai tersebar di daerah Sumatera Selatan, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan dan Kalimantan Tengah. Pohon sungkai dapat tumbuh di hutan sekunder yang berair maupun kering (Dewi dkk., 2017). Kayu sungkai digunakan untuk berbagai keperluan seperti bahan bangunan, *furniture*, dan kerajinan tangan (Panjaitan dkk., 2014). Selain itu, sungkai dapat digunakan sebagai tanaman obat tradisional (Elsi dkk., 2020). Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack) dapat dilihat **Gambar 1**.

Adapun klasifikasi tanaman sungkai menurut (Plantamor, 2022) sebagai berikut :

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Superdivisi: Spermatophyta

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

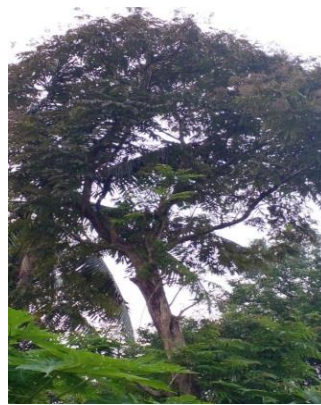
Subkelas: Asteridae

Ordo: Lamiales

Famili: Verbenaceae

Genus: *Peronema*

Spesies: *Peronema canescens* Jack



Gambar 1. Tumbuhan Sungkai (*Peronema canescens* Jack)

Adapun ciri-ciri dari tanaman sungkai, yaitu tinggi pohon sekitar 20-30 meter, batang bebas cabang mencapai 15 m dengan diameter lebih dari 60 cm. Batang berbentuk lurus dan sedikit berlekuk dangkal, serta ranting pohon terdapat bulu halus. Kulit pohon berwarna coklat kelabu dan sedikit mengelupas. Kayu teras pohon memiliki warna kuning muda. Daun sungkai majemuk menyirip ganjil, poros bersayap dan letaknya berpasangan. Bunganya berbentuk tombak, bercabang banyak dan berpasangan sepanjang 20-40 cm. Daun mahkota bunga berbulu di bagian luar, berbentuk mangkok pada pangkalnya, berukuran 1-2 mm (Departemen Kehutanan, 2006).

2.3. Efek Farmakologis Tanaman Sungkai

Tanaman sungkai memiliki beberapa efek farmakologis, yaitu kulit batang tanaman sungkai digunakan untuk menyembuhkan sakit gigi (Elsi dkk., 2020). Daunnya digunakan sebagai obat menurunkan demam (Panjaitan dkk., 2014). Ekstrak etanol daun sungkai memiliki senyawa aktif saponin, flavonoid, alkaloid, terpenoid-steroid, fenolik dan tanin yang bersifat antibakteri dan antioksidan (Pradito dkk., 2022 ; Kasumawati dkk., 2022). Ekstrak etanol daun sungkai memiliki aktivitas anti-inflamasi, toksisitas dan anti-hiperurisemia terhadap mencit (Melisa dkk., 2022). Ekstrak air daun sungkai sebagai antiplasmodial tinggi dibandingkan ekstrak etanol dan aseton (Suwandi dkk., 2018). Fraksi metanol daun sungkai terhadap *S. aureus* dan *E. coli* memiliki aktivitas antibakteri dengan KHM dan KBM sebesar 512 ug/mL (Kusriani dkk., 2017). Pada penelitian oleh Hidayati (2020) dilaporkan ekstrak etil asetat daun sungkai bersifat toksik terhadap *Artemia salina* Leach dengan nilai IC_{50} 278.631 ug/mL.

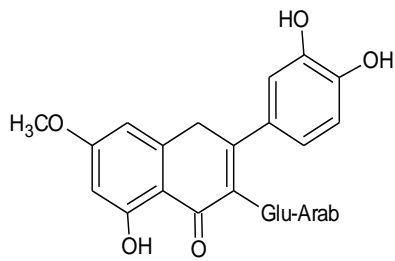
Menurut Muharni dkk. (2022) daun sungkai dapat menurunkan kadar kolesterol yang dapat berpotensi sebagai bahan obat tradisional. Daun sungkai dapat meningkatkan daya tahan tubuh (Rahman dkk., 2021). Sungkai memiliki aktivitas tabir surya yang dapat menjadi *natural skincare* (Fadlilaturrahma dkk., 2021). Ekstrak daun sungkai juga memiliki aktivitas antipiretik yang dapat menurunkan panas (Hardiansyah, 2021). Penelitian yang dilakukan oleh Latief dkk. (2021) dan Anganti (2022) dilaporkan daun sungkai memiliki aktivitas antidiabetes secara *in vivo*. pada ekstrak etanol dan etil asetat. Kandungan metabolit sekunder pada setiap ekstrak daun sungkai berbeda ini yang menyebabkan ada yang memiliki aktivitas lemah dan kuat terhadap bioindikator, sehingga bioaktivitas pada daun sungkai pada setiap fraksi berbeda-beda (Ahmad dkk., 2015).

2.4. Kandungan Metabolit Sekunder Daun Sungkai

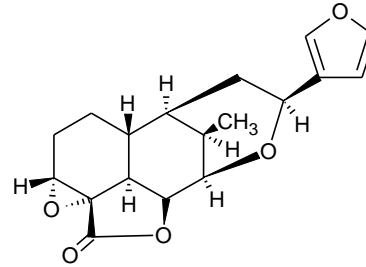
Penelitian yang telah dilakukan pada daun sungkai dilaporkan adanya metabolit sekunder, diantaranya senyawa flavonoid glikosida dari ekstrak metanol daun

sungkai (Simanjuntak, 1996). Daun sungkai dilaporkan adanya senyawa diterpen yaitu Peronemin A2 , A3 , B1 , B2 , B3 , C1 dan D1 (Kitagawa *et al.*, 1994).

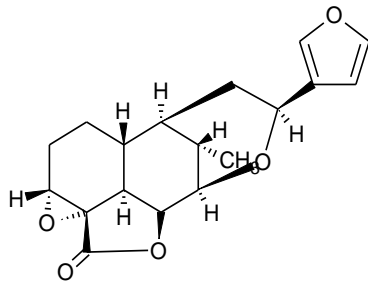
Struktur dapat dilihat pada **Gambar 2**.



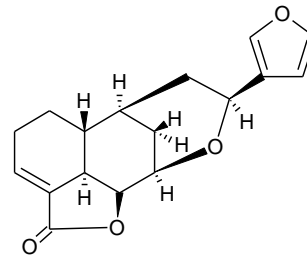
(flavonoid glikosida)



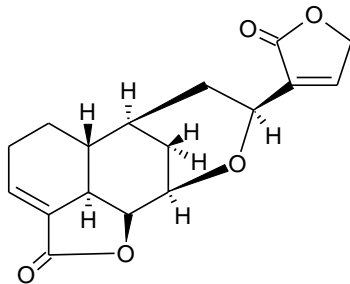
(Peronemin A2)



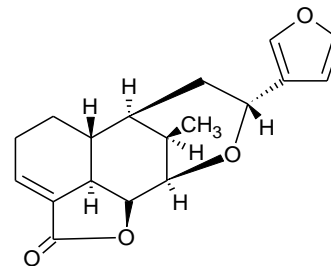
(Peronemin A3)



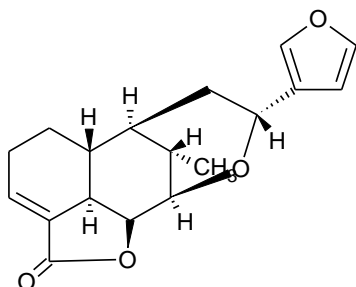
(Peronemin B1)



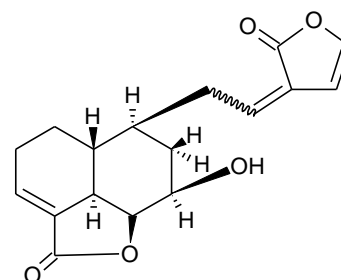
(Peronemin B2)



(Peronemin B3)



(Peronemin C1)



(Peronemin D1)

Gambar 2. Senyawa hasil isolasi dari daun sungkai

2.5. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan dari campuran menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi sering digunakan untuk penemuan obat tradisional (Mukhriani, 2014). Ada beberapa metode ekstraksi tergantung pada prinsip kerja dan bahan yang digunakan. Pemilihan metode didasarkan pada karakteristik bahan baku dan metabolit yang akan diekstraksi, rendemen ekstrak yang diperoleh, laju ekstraksi serta biaya. Beberapa metode ekstraksi, yaitu ekstraksi maserasi, perkolasi aliran, ekstraksi refluks, sokletasi, ekstraksi ultrasonik, ekstraksi tekanan dan ekstraksi gelombang mikro (Nugroho, 2017). Salah satu metode ekstraksi yang sering digunakan, yaitu maserasi.

Maserasi merupakan prosedur sederhana dengan merendam tanaman yang dihancurkan dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup pada suhu kamar. Pengadukan yang terus-menerus dapat meningkatkan laju ekstraksi. Ekstraksi berhenti ketika keseimbangan tercapai antara konsentrasi metabolit dalam ekstrak dan bahan tanaman. Kemudian residu simplisia dipisahkan dari pelarutnya dengan penuangan dan dilakukan filtrasi. Kerugian utama maserasi adalah prosesnya bisa memakan waktu cukup lama dari beberapa jam hingga beberapa minggu. Maserasi yang berlebihan juga dapat mengkonsumsi pelarut dalam jumlah besar dan dapat menyebabkan potensi hilangnya metabolit bahan tanaman (Sarker *et al.*, 2006).

Tujuan ekstraksi adalah untuk mendapatkan bahan aktif belum ataupun yang sudah diketahui, memperoleh kelompok senyawa yang strukturnya mirip, dan mengidentifikasi semua metabolit sekunder dari suatu fraksi tumbuhan dengan spesies tertentu sebagai kajian metabolisme (Endarini, 2016). Metode ekstraksi bergantung pada polaritas senyawa yang diekstraksi, yaitu setiap senyawa akan memiliki kelarutan yang berbeda karena senyawa kimia larut pada pelarut dengan kepolaran yang sama (Mangurana dkk., 2019). Prinsip tersebut yang biasa dikenal dengan istilah *like dissolve like* artinya senyawa polar akan larut dalam pelarut polar dan sebaliknya (Khopkar, 2003).

2.6. Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) adalah suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Dipiro *et al.*, 2015). Secara umum gejala dan tanda penyakit DM dibagi dalam dua kelompok, yaitu gejala akut dan kronis.

a. Gejala akut dan tanda dini, meliputi :

- Penurunan berat badan, rasa lemas dan cepat lelah
- Sering kencing (poliuri) pada malam hari dengan jumlah air seni banyak
- Banyak minum (polidipsi)
- Banyak makan (polifagi)

b. Gejala kronis meliputi :

- Gangguan penglihatan
- Gangguan saraf tepi berupa rasa kesemutan, terutama pada malam hari sering terasa sakit dan rasa kesemutan di kaki
- Gatal-gatal dan bisul.
- Rasa tebal pada kulit
- Gangguan fungsi seksual
- Keputihan

Faktor risiko diabetes dikelompokkan menjadi 2 secara garis besar, yaitu :

- a. Faktor risiko yang tidak dapat diubah, yaitu umur dan keturunan
- b. Faktor risiko yang dapat dimodifikasi / diubah, yaitu pola makan yang salah, aktivitas fisik kurang gerak, obesitas, stress, dan pemakaian obat-obatan (Suiraoaka, 2012).

Diabetes diklasifikasikan menjadi 3 tipe, yaitu:

1. Diabetes Tipe 1

Diabetes Tipe 1 adalah penyakit diabetes yang diakibatkan oleh pankreas tidak mampu memproduksi insulin secara optimal. Pankreas berperan dalam keseimbangan kadar gula darah. Pada tipe ini kadar insulin yang dihasilkan

oleh pankreas terlalu sedikit yang menyebabkan kebutuhan untuk mengatur kadar gula tidak tercukupi, sehingga penderita tipe ini memerlukan injeksi insulin dari luar. Produksi insulin yang kurang oleh pankreas mengakibatkan terganggunya penyerapan glukosa dalam pembuluh darah sebagai bahan bakar, sehingga adanya penumpukan glukosa dalam aliran darah.

2. Diabetes Tipe 2

Diabetes Tipe 2 adalah penyakit diabetes yang disebabkan oleh tidak digunakannya insulin sebagai sumber energi dan insulin yang dilepaskan oleh pankreas tidak direspon oleh sel-sel tubuh atau yang disebut resistensi insulin. Penyakit ini dapat disebabkan oleh dua faktor utama, yaitu faktor genetik (keturunan) dan faktor hiperglikemia (tingginya kadar gula darah). Diabetes tipe 2 ini merupakan diabetes yang paling banyak diderita dari segala umur.

3. Diabetes Gestasional

Diabetes Gestasional merupakan penyakit diabetes yang diakibatkan karena produksi insulin yang dihasilkan oleh pankreas tidak dapat untuk mengatur gula darah pada kondisi kehamilan. Penyakit diabetes tipe ini, dapat menyebabkan gangguan pada bayi, seperti tubuh bayi yang gemuk, penyakit kuning dan gangguan pernapasan pada bayi, bahkan adanya kematian pada bayi yang akan lahir.

Tabel 1. Batas nilai kadar gula darah (Sutanto, 2013).

Metode Pengukuran	Gula Darah Normal	Pradiabetes	Diabetes
Gula Darah Puasa	< 110 mg/dL	110-126 mg/dL	> 126 mg/dL
Gula Darah 2 Jam Setelah Makan	< 140 mg/dL	140-200 mg/dL	> 200 mg/dL

2.7. Enzim

Pada tahun 1926 merupakan tahun awal ditemukannya enzim dimana James Summer mengisolasi dan mengkristalisasi urease. Kristal urease termasuk protein dan mempostulatkan bahwa semua enzim adalah protein. Pada tahun 1930-an,

penemuan Summer diterima secara luas setelah John Northrop dan Moses Kunitz mengkristalkan pepsin, tripsin dan enzim pencernaan lainnya dan menemukan bahwa enzim tersebut juga protein. Pada abad ke-20 beratus-ratus enzim telah dimurnikan, strukturnya dielusidasi dan mekanismenya dijelaskan. Pada akhir abad ke-20 informasi struktur enzim, sekuens gen yang mengkode enzim serta sekuens urutan residu asam amino suatu enzim telah tersedia pada basis data dunia seperti pada GenBank, *Protein Data Bank* (PDB) (Azhar, 2016).

Enzim adalah protein alami yang diproduksi oleh sel hidup. Protein tersusun sekitar 2000 jenis molekul enzim di dalam sel. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator, yaitu mempercepat laju suatu reaksi kimia tanpa ikut bereaksi dan tidak mengubah struktur pada enzim tersebut saat reaksi berlangsung. Enzim diketahui sangat sensitive terhadap perubahan kondisi lingkungan dan berfungsi pada rentang suhu tertentu dan pH.

Tabel 2. Beberapa sumber enzim (Susanti dkk., 2017).

Enzim	Sumber
α -amilase	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>
β -glukonase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Glucoamilase	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Rhizopus sp</i>
Glukosa isomerase	<i>Arthobacter sp</i> , <i>Bacillus sp</i>
Lactase	<i>Kluyveromyces sp</i>
Lipase	<i>Candida lipolytica</i>
Pectinase	<i>Aspergillus sp</i>
Penicilin acylase	<i>Eschericia coli</i>
Protease, asam	<i>Aspergillus sp</i>
Protease, alkali	<i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Bacillus sp</i>
Protease, netral	<i>Bacillus amyloliquefacien</i> , <i>Bacillus</i> <i>Thermoproteolyticus</i>
Pullulanase	<i>Klebsiela aerogenes</i>

Ada 2 cara kerja enzim, yaitu:

- a. Teori Gembok dan Kunci, yaitu hanya substrat yang punya bentuk yang cocok secara spesifik yang dapat berhubungan dengan enzim. Namun di satu sisi, teori ini tidak mampu menjelaskan kestabilan enzim pada saat peralihan titik reaksi (keadaan transisi)

- b. Teori Ketepatan Induksi, yaitu sisi aktif enzim mempunyai titik pengikat yang sama/spesifik, sehingga hanya substrat yang mempunyai titik pengikat yang spesifik yang akan menginduksi sisi aktif dari enzim untuk diubah menjadi substrat (Agustina dkk., 2019).

Kerja enzim dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu, pH, aktivator dan inhibitor, konsentrasi enzim dan substrat, logam, dan faktor internal lainnya. Adapun beberapa sifat yang dimiliki enzim, yaitu:

1. Enzim merupakan protein, sehingga bersifat termolabil dan membutuhkan pH dan suhu yang tepat.
2. Enzim bekerja secara spesifik, artinya satu enzim bekerja pada satu substrat.
3. Enzim bekerja secara bolak-balik, artinya enzim dapat menguraikan substrat menjadi senyawa sederhana dan sebaliknya.
4. Kerja enzim dapat dipengaruhi oleh lingkungan, seperti suhu, pH, konsentrasi, dan sebagainya.
5. Enzim dapat menurunkan energi aktivasi.
6. Enzim berfungsi sebagai biokatalisator, yaitu mengatur kecepatan dan kekhususan ribuan reaksi kimia di dalam sel (Hidayat, 2021).

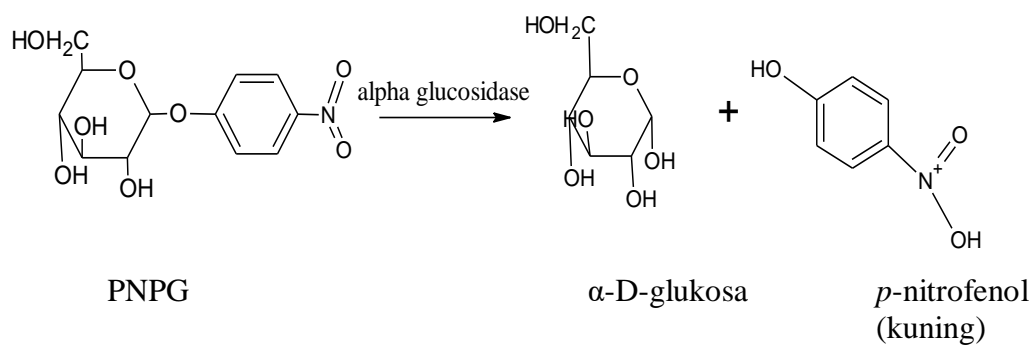
2.8. Inhibitor Enzim

Enzim memiliki aktivitas yang dapat dihambat melalui pengikatan molekul atau ion spesifik. Inhibitor merupakan bekerjanya suatu molekul pada enzim secara langsung untuk menurunkan kecepatan katalitik. Inhibisi kerja enzim dibagi menjadi 2, yaitu inhibitor irreversibel dan inhibitor reversibel. Inhibitor irreversibel merupakan inhibitor yang terpisah sangat lambat dari enzim targetnya dikarenakan adanya ikatan kovalen maupun nonkovalen dengan residu asam amino pada sisi aktif enzim, sedangkan inhibitor reversibel merupakan inhibitor yang berdisosiasi atau terpisah cepat dari kompleks enzim substrat dan tidak menyebabkan perubahan permanen enzim (Wahyuni, 2017).

Inhibisi reversibel terbagi menjadi 2, yaitu kompetitif dan nonkompetitif. Inhibitor kompetitif adalah inhibitor yang bersaing keras dengan substrat untuk mendapatkan sisi aktif enzim, sedangkan inhibitor nonkompetitif adalah inhibitor yang melekat pada sisi selain sisi aktif yang menyebabkan perubahan enzim sehingga substrat tidak dapat melekat pada enzim (Hidayat, 2021). Tidak semua molekul yang berikatan pada enzim adalah inhibitor, enzim aktivator berikatan pada enzim dan dapat meningkatkan aktivitas enzimatis, ketika substrat berikatan dan dikonversi menjadi produk dalam siklus katalitik normal pada enzim. Ikatan inhibitor dapat menghentikan substrat dalam memasuki sisi aktif enzim dan atau menghalangi enzim dari mengkatalisis suatu reaksi (Al-Baarri dkk., 2016).

2.9. Uji Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Enzim α -glukosidase adalah enzim karbohidrase dapat ditemukan pada usus halus. Penghambatan enzim α -glukosidase oleh suatu inhibitor yang menghambat pembentukan glukosa di dalam darah sehingga dapat menekan hiperglikemia. Pada uji antidiabetes, enzim α -glukosidase menghidrolisis suatu substrat *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) menjadi α -D-glukosa dan *p*-nitrofenol. Pembentukan produk dapat diketahui dengan terbentuknya warna kuning dari *p*-nitrofenol. Semakin besar kemampuan inhibitor untuk menghambat, maka warna kuning yang dihasilkan akan semakin cerah jika dibandingkan dengan larutan tanpa inhibitor. Persamaan reaksi antara substrat PNPG dengan enzim α -glukosidase dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Persamaan reaksi enzimatik

Inhibisi enzim α -glukosidase oleh ekstrak dinyatakan dalam persen inhibisi dan atau dalam IC_{50} . Persen inhibisi menunjukkan jumlah persentase enzim yang terhambat oleh sejumlah dosis atau konsentrasi sampel, sehingga makin besar nilai persen menunjukkan makin besar inhibisinya terhadap enzim, dan sebaliknya. IC_{50} menunjukkan kemampuan dari sampel dalam menghambat aktivitas enzim sebesar 50 persen, sehingga makin kecil nilai IC_{50} menunjukkan aktivitas inhibisi makin tinggi, dan sebaliknya (Hardoko dkk., 2015).

Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan persamaan eksponensial dengan konsentrasi sampel pada sumbu x dan % penghambatan pada sumbu y. Nilai IC_{50} dihitung dengan regresi eksponensial : $y = a \ln(x) + b$

Keterangan : a= intersep

b= *slope*

y = % inhibisi

x = konsentrasi sampel

2.10. LC-MS/MS

Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) adalah kombinasi kromatografi cair (LC) dengan spektrometri tandem massa (MS/MS) yang kuat, andal, dan ekonomis untuk menganalisis secara kuantitatif metabolit tunggal dan pembuatan profil kelas metabolit dengan lengkap (Becker *et al.*, 2012). LC membedakan senyawa dengan sifat fisika-kimianya dan MS membedakan senyawa berdasarkan massa (khususnya rasio massa terhadap muatannya). Selektivitas ganda inilah yang membuat LC-MS/MS menjadi alat analisis yang kuat (Sargent, 2013).

LC-MS/MS menggunakan dua penganalisis massa yang disusun secara berurutan dengan sel kolision (*collision cell*) di antara keduanya. Penganalisis massa digunakan untuk memilih rasio massa terhadap muatan (m/z) tertentu. Penganalisis massa pertama menganalisa rasio m/z dari ion induk, kemudian pada sel kolision ion induk bertabrakan dengan molekul gas dan terfragmentasi menjadi

ion yang lebih kecil dan diperoleh rasio m/z pada penganalisa masa kedua sebagai ion produk (Harmita dkk., 2019).

Sistem LC-MS/MS dapat memecah ion induk menjadi pola fragmentasi yang khas dan dapat memisahkan ion anak untuk identifikasi dan kuantisasi. Pola fragmentasi karakteristik dari setiap ion induk dapat diidentifikasi dengan membandingkan pola fragmentasi yang dihasilkan oleh database komputerasi standar (McMaster, 2005). Keuntungan dari LC-MS yaitu dapat menganalisis lebih luas berbagai komponen, seperti senyawa termal labil, polaritas tinggi atau bermassa molekul tinggi, bahkan juga protein. LC-MS/MS sangat sensitive dan selektif yang memungkinkan deteksi metabolit yang ekstensif dalam sampel dan menghasilkan karakterisasi pola metabolit yang komprehensif tanpa ketergantungan pada senyawa standar (Sawada and Yokura, 2013).

2.11. Metabolomik

Metabolomik adalah analisis *high throughput* yang berkaitan dengan kuantifikasi dan identifikasi metabolit molekul kecil (100-1.000 nm) dalam sel, jaringan, atau cairan (Lee dkk., 2007). Metabolomik merupakan suatu analisis kuantitatif metabolit dalam sistem biologis yang berperan penting dalam berbagai bidang ilmu pengetahuan di era pasca-genomik. Kekuatan metabolomik terletak pada perolehan data analitis di mana metabolit dalam sistem seluler dikuantifikasi, dan ekstraksi elemen data dengan menggunakan berbagai alat analisis data (Putri dkk., 2013).

Teknik metabolomik telah banyak digunakan untuk standarisasi dan kontrol kualitas produk herbal di seluruh dunia. Teknik ini memungkinkan analisis yang menyeluruh, tidak bias, dan berkinerja tinggi dari obat-obatan herbal yang mengandung metabolit kompleks. Metode analisis yang umum digunakan untuk metabolit adalah MS, NMR, FTIR yang dikombinasikan dengan instrumen untuk analisis senyawa seperti GC atau LC (Warsito, 2018). Penerapan pendekatan metabolomik berbasis LC-MS/MS dalam aplikasi klinis bertujuan untuk

meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnostik dengan membuat profil kelas metabolit untuk analisis metabolit tunggal dan identifikasi biomarker spesifik penyakit, seperti kanker, diabetes dan jantung koroner.

Adapun pendekatan utama yang digunakan dalam metabolomik:

- a. *Target compound analysis*, yaitu kuantifikasi metabolit spesifik
- b. *Metabolite profiling*, yaitu identifikasi kuantitatif atau kualitatif dari sekelompok senyawa terkait atau jalur metabolisme tertentu
- c. *Metabolic fingerprinting*, yaitu evaluasi cepat total sidik jari biokimia untuk membedakan kelompok yang berbeda di mana identifikasi metabolit tidak diperlukan (Fukusaki and Yobayashi, 2005).

Salah satu *tools* analisis metabolomik yaitu dengan analisis multivariat data kemometrik. Kemometrik telah menjadi alat utama di antara ilmuwan untuk mendapatkan hasil analisis yang lebih cepat dengan waktu pengembangan produk yang lebih pendek (Shafirany dkk., 2019). Kemometrik adalah penerapan metode matematika secara statistika untuk menangani sejumlah besar data yang dihasilkan dari pengukuran kimia (Miller, 2000). Metode kemometrik dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengidentifikasi suatu komponen kimia tanaman (Soleh dkk., 2008). Klasifikasi kualitas sampel dilakukan dengan menentukan karakteristik metabolit dalam sampel menggunakan metode PCA dan PLS kemudian dianalisis secara statistik untuk melihat pengaruh senyawa karakteristik yang diprediksi terhadap bioaktivitas (Septaningsih *et al.*, 2018).

Metode PCA adalah salah satu metode yang dapat digunakan untuk menganalisis informasi data yang diperoleh dan dapat melakukan pengenalan pola untuk pengelompokan berdasarkan komponen kimia. Semakin dekat sampel dalam plot skor, semakin tinggi kesamaan antar sampel. (Amin, 2016). PCA dapat mengetahui perbedaan pola *fingerprint* antarsampel dengan menganalisis data adsorbansi sampel dengan hasil spektroskopi, lalu mereduksi data dan mengekstrak informasi yang diolah dengan *software The Unscrambler X* (Putpitasari dkk., 2021). PCA merupakan metode multivariat yang paling luas dan dianggap sebagai teknik yang paling signifikan mengubah pandangan ahli

kimia tentang analisis data. Dalam beberapa dekade terakhir ini Ilmuwan alam dari semua disiplin ilmu, mulai dari ahli biologi, ahli geologi, dan ahli kimia, telah memahami pendekatan ini (Brereton, 2018).

Metode PLS adalah metode analisis data berbasis regresi linier. Dalam analisis data regresi linier digunakan untuk mencari prediktor linier terbaik dari beberapa variabel Y berdasarkan variabel dependen X (pembacaan sampel). PLS berbeda dari regresi linier biasa di mana PLS tidak hanya memprediksi variabel independen Y berdasarkan variabel dependen X. Sebaliknya, PLS mencoba untuk menemukan subruang dimensi kecil, sehingga proyeksi ke dalam subruang ini tidak mengubah variabel dependen X sangat banyak, dan pada saat yang sama, koordinat subruang baru ini adalah prediktor Y yang baik. PLS terkait dengan komponen utama X dari PCA digunakan untuk memprediksi variabel Y yang memungkinkan PLS untuk menangani kumpulan data dengan variabel yang sangat berkorelasi yang sering terjadi dalam metabolomik. Model regresi digunakan dalam memprediksi kelas sampel yang tidak diketahui. Keuntungan menggunakan PLS, yaitu metode di bidang metabolomik yang diterapkan dalam bioinformatika, ilmu sosial dan bidang lainnya. PLS tidak memiliki kecenderungan yang sama untuk tertarik pada variabel varian tinggi seperti yang dilakukan PCA (Blekherman *et al.*, 2011). Metode PLS menghubungkan dua matriks data X dan Y (Wold *et al.*, 2001). Metode *Partial Least Square Regression* (PLS) secara otomatis akan menginformasikan spektrum yang khusus dan relevan dengan suatu sifat kimia dari model kalibrasi pada bilangan gelombang tertentu (Fangohoy, 2019). Metode PLS digunakan untuk mengidentifikasi metabolit dalam ekstrak yang secara signifikan berkontribusi tinggi terhadap aktivitas biologisnya (Rafi dkk., 2021).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Mei 2022 – Desember 2022 di Universitas Lampung dan Institut Pertanian Bogor (IPB). Determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bogoriense Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi BRIN Cibinong, Jawa Barat. Analisis LC-MS/MS dilakukan di Unit Laboratorium Riset Unggulan IPB. Uji antidiabetes dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika IPB. Analisis kemometrik menggunakan software *The Unscramble X* dan *Metaboanalyst 5.0*.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat-alat gelas, inkubator, *microplate 96 well*, mikropipet, mikrotip, oven, *Elisa Reader*, *Vanquish Flex UHPLC-Q Exactive Plus Orbitrap-High Resolution Mass Spectrometer*, filter syringe Polytetrafluoroethylene (PTFE) 0.22 μm , kolom Accure C18, seperangkat alat destilasi, evaporator, komputer, perangkat lunak *The Unscramble X* versi 10.4 dan *website metaboanalyst*.

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sungkai yang diambil dari Desa Kebagusan, Gedongtataan, Kabupaten Pesawaran pada bulan April 2022. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol, etil asetat, *n*-heksana, enzim α -glukosidase, *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG), natrium karbonat (Na_2CO_3), dimetil sulfoksida (DMSO), akuabides, metanol PA, kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), dikalium hidrogen fosfat trihidrate ($\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), asam format dan asetonitril.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan Sampel

Tumbuhan sungkai dideterminasi di Herbarium Bogoriense Pusat Riset Biosistemika dan Evolusi BRIN Cibinong, Jawa Barat. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**. Daun sungkai dicuci bersih dari pengotor dan dikeringkan tanpa terkena matahari secara langsung. Daun sungkai yang telah kering dihaluskan menjadi serbuk halus.

3.3.2. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk daun sungkai ditimbang sebanyak 100 gram dengan 6 kali pengulangan. Kemudian masing-masing dimaserasi dengan variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat, *n*-heksan dengan perbandingan 1:10 selama 1x24 jam. Maserat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian ditimbang .

3.3.3. Uji Aktivitas Antidiabetes α -Glukosidase (Rynjah *et al.*, 2018)

a. Pembuatan larutan ekstrak berbagai konsentrasi

Ekstrak daun sungkai ditimbang sebanyak 5 mg dan dilarutkan dengan 500 μ L DMSO (larutan stok 10.000 ppm), kemudian dilakukan pengenceran untuk variasi konsentrasi 5000, 2500, 1250 dan 625 ppm.

b. Pembuatan larutan dapar fosfat pH 7 (0,1 M)

KH_2PO_4 ditimbang sebanyak 1,3608 g dan $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ sebanyak 1,4150 g lalu dilarutkan dengan akuabides dalam labu ukur 100 mL hingga tanda tera.

c. Pembuatan larutan *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) 0,5mM

PNPG ditimbang sebanyak 75,3 mg dan dilarutkan dengan larutan buffer fosfat pH 7 dalam labu ukur 25 mL sampai tanda tera.

d. Pembuatan larutan Na_2CO_3 0,2 M

Na_2CO_3 ditimbang sebanyak 1,0599 g dan dilarutkan dengan akuabides pada labu ukur 50 mL sampai tanda tera.

e. Pembuatan larutan enzim α -glukosidase 0,14 U/mL

Larutan stok 5,046 U/mL dipipet sebanyak 138,72 μL kemudian ditambahkan 4861,28 μL larutan buffer fosfat pH 7

f. Uji Antidiabetes dengan Inhibisi α -glukosidase (Rynjah et al., 2018)

a. Uji larutan sampel (inhibitor) dengan enzim (A)

Sebanyak 10 μL ekstrak (inhibitor) berbagai konsentrasi ditambahkan 50 μL larutan dapar fosfat pH 7,0 pada *plate 96 well*. Setelah itu ditambahkan 25 μL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) dan 25 μL larutan enzim α -glukosidase 0,14 U/mL. Kemudian diinkubasi selama selama 30 menit pada suhu 37°C. Penghentian reaksi enzimatis ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 0,2 M. Lalu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm dengan *elisa reader*.

b. Uji larutan sampel (inhibitor) tanpa enzim (B)

Sebanyak 10 μL ekstrak (inhibitor) berbagai konsentrasi ditambahkan 75 μL larutan dapar fosfat pH 7,0 pada *plate 96 well*. Setelah itu ditambahkan 25 μL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG). Kemudian diinkubasi selama selama 30 menit pada suhu 37°C. Penghentian reaksi enzimatis ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 0,2 M. Lalu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm dengan *elisa reader*.

c. Uji larutan blanko dengan enzim (C)

Sebanyak 10 μL DMSO ditambahkan 50 μL larutan dapar fosfat pH 7,0 pada *plate 96 well*. Setelah itu ditambahkan 25 μL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG) dan 25 μL larutan enzim α -glukosidase 0,14 U/mL. Kemudian diinkubasi selama selama 30 menit pada suhu 37°C. Penghentian reaksi enzimatis ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 0,2 M. Lalu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm dengan *elisa reader*.

d. Uji larutan blanko tanpa enzim (D)

Sebanyak 10 μL DMSO ditambahkan 75 μL larutan dapar fosfat pH 7,0 pada *plate 96 well*. Setelah itu ditambahkan 25 μL *p*-nitrofenil- α -D-glukopiranosida (PNPG). Kemudian diinkubasi selama selama 30 menit pada suhu 37°C. Penghentian reaksi enzimatis ditambahkan 100 μL Na_2CO_3 0,2 M. Lalu, diukur absorbansinya pada panjang gelombang 410 nm dengan *elisa reader*.

3.3.4. Penentuan IC_{50}

Analisis data antidiabetes sampel ditentukan melalui persentase inhibisi serapan dengan menggunakan perhitungan :

$$\text{Inhibisi (\%)} = \left(\frac{(C-D)-(A-B)}{(C-D)} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

A = Absorbansi larutan sampel (inhibitor) dengan enzim

B = Absorbansi larutan sampel (inhibitor) tanpa enzim

C = Absorbansi larutan blanko dengan enzim

D = Absorbansi larutan blanko tanpa enzim

Nilai IC_{50} yang merupakan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim. Nilai IC_{50} menunjukkan bahwa semakin rendah nilainya maka potensinya semakin tinggi (Septiana dkk., 2020). Nilai IC_{50} dapat dihitung menggunakan regresi eksponensial dengan konsentrasi sampel pada sumbu x dan % penghambatan pada sumbu y. Nilai IC_{50} dihitung dengan persamaan eksponensial : $y = a \ln(x) + b$

Keterangan : a= intersep

b= *slope*

y = % inhibisi

x = konsentrasi sampel

3.3.5. Analisis LC-MS/MS

Ekstrak kasar daun sungkai dari variasi pelarut pengekstrak sebanyak 5 mg dilarutkan dengan pelarut metanol PA sebanyak 1 mL dan disonifikasi. Kemudian difilter dengan Polytetrafluoroethylene (PTFE) 0.22 μm dan filtrat dimasukkan ke dalam vial. Sebanyak 1 mL filtrat diinjeksikan menggunakan LC-MS/MS yaitu dengan Vanquish Flex UHPLC-Q Exactive Plus Orbitrap-High Resolution Mass Spectrometer. Kolom yang digunakan yaitu Accure C18 (100 x 2,1 mm, 1,5 μm) dan dilakukan pada kondisi *spray voltage* 3.8 kV, suhu kapiler 320°C, laju alir *sheath gas* dan *auxiliary gas* 15 and 3 mL/min. Energi tumbukan (*collision energy*) yang digunakan sebesar 18, 35, dan 53 eV. Elusi gradien linier dengan fase gerak yang terdiri dari asam format 0,1% dalam air (pelarut A) dan asam format 0,1% dalam asetonitril (pelarut B) mulai dari 0-1,5 menit (10% B), 1,5-1,7 menit (10%-20% B), 1,7-10 menit (20%-30% B), 10-30,5 menit (30%-100% B) dan 30,5-35 menit (10% B). Fasa gerak disuplai pada laju alir 0,2 ml/menit dengan menjaga kolom pada suhu kamar (*Mari et al.*, 2012).

3.3.6. Analisis Kemometrik

Hasil analisis LC-MS/MS berupa *raw data* diproses dengan *software Compound Discoverer versi 2.2*. Dalam *software* tersebut dilakukan pemilihan spektrum, menyetarakan waktu retensi, mendeteksi senyawa *unknown*, memprediksi pola fragmentasi senyawa *unknown*, mencari *mass list*, *fill gaps*, *normalized areas*, dan latar belakang senyawa untuk identifikasi diduga metabolit *penorema canescens*. Kemudian menggunakan database internal (*inhouse*) yang dikumpulkan dari berbagai artikel ilmiah yang terkait dengan *penorema canescens* untuk mengidentifikasi metabolitnya.

Data analisis LC-MS/MS yang diperoleh berupa *peak area* yang kemudian dilakukan analisis multivariate dengan teknik PCA dengan *software The Unscramble X* dan *Metaboanalyst 5.0*. Teknik PCA digunakan untuk mengetahui pengelompokan metabolit daun sungkai berdasarkan perbedaan variasi pelarut

pengekstrak. Identifikasi senyawa bioaktif yang berkontribusi terhadap aktivitas inhibitor α -glukosidase dilakukan dengan analisis PLSR (*Partial Least Square Regression*) dan OPLS-DA (*Orthogonal Partial Least Squares-Discriminant Analysis*) yang dilakukan dengan dua set data, yaitu *peak area* sebagai variabel bebas (X) dan nilai IC₅₀ sebagai variabel respon (Y) dengan menggunakan *software The Unscramble X* dan *Metaboanalyst 5.0*.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan sebagai berikut.

1. Pada analisis PCA didapatkan ketiga ekstrak dapat berkelompok dengan baik dengan total PC sebesar 87,3%.
2. Pada analisis PLS-R pada plot *X-Y relation* didapatkan ekstrak etil asetat paling aktif terhadap aktivitas antidiabetes melalui inhibisi α -glukosidase
3. Pada analisis OPLS-DA dapat diidentifikasi senyawa penciri antidiabetes ditunjukkan senyawa *known* dengan kode senyawa V12, V97, V156, V185 dan V383 yang memiliki massa ion (m/z) berturut-turut 592.26651 (Pheophorbide A); 462.11454 (Luteolin-7-O-glucuronide); 478.14619 (Calceolarioside); 344.16122 (Peronemin D1) dan 386.14823 (Coprostanone).

5.2. Saran

Saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji antidiabetes pada daun sungkai dengan metode *in vitro* lainnya yaitu menggunakan enzim α -amilase.
2. Perlu adanya variasi lokasi tumbuh sampel dengan analisis kemometrik.
3. Perlu dilakukan identifikasi senyawa dengan instrument lain, seperti FTIR.
4. Perlu dilakukan isolasi atau pemurnian lebih lanjut pada sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D. K, Sulitiana, D. dan Anggraini, D. P. 2019. *Bioteknologi Mikroba Tinjauan Umum dan Aplikasi*. CV.AA.Rizky. Banten.
- Ahmad, I. dan Ibrahim, A. 2015. Bioaktivitas Ekstrak Metanol dan Fraksi n-Heksana Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach). *J. Sains. Kes.* 1(3):114–119.
- Al-Baarri, A. 2016. *Teknik Pengambilan Enzim dari Berbagai Sumber*. Penerbit Indonesian Food Technologists. Semarang.
- Amin, A. 2016. Determinasi dan Analisis Finger Print Daun Miana (*Coleus scutellarioides* Linn.) Sebagai Bahan Baku Obat Tradisional Dengan Metode Spektrofotometri FT-IR dan Kemometri. *J. Pharm UINAM.* 4(2):58–64.
- Anganti, S. A. N. 2022. Efek Antihiperglikemia Fraksi Etil Asetat Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Mencit Putih Jantan (*Mus musculus* L.) Hiperglikemia Yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Universitas Andalas.
- Ariani, N., Kartika, I., dan Kurniadewi, F. 2017. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α -Glukosidase secara In Vitro dari Ekstrak Metanol Daun *Cryptocarya densiflora* Blume dan Fraksi-Fraksinya. *JRSKT.* 7(1):14–20.
- Asghari, B., Salehi, P., Sonboli, A., and Ebrahimi, S. N. 2015. Flavonoids from *Salvia chloroleuca* with α -amylase and α -glucosidase inhibitory effect. *Iranian J. Pharm. Res.* 14(2):609–615.
- Azhar, M. 2016. *Biomolekul Sel Karbohidrat, Protein dan Enzim*. UNP Press. Padang.
- Bartram, H. P., Scheppach, W., Heid, C., Fabian, C., and Kasper, H. 1991. Effect of Starch Malabsorption on Fecal Bile Acids and Neutral Sterols in Humans: Possible Implications for Colonic Carcinogenesis. *J. Cancer. Res.* 51(16):4238–4242.
- Becker, S., Kortz, L., Helmschrodt, C., Thiery, J., and Ceglarek, U. 2012. LC-MS-based metabolomics in the clinical laboratory. *J. Chromatogr. B.* 68–75.

- Blekherman, G., Laubenbacher, R., Cortes, D. F., Mendes, P., Torti, F. M., Akman, S., Torti, S. V. and Shulaev, V. 2011. Bioinformatics tools for cancer metabolomics. *Metabolomics*. 7(3): 329–343.
- Brereton, R. G. 2018. *Chemometrics Data Driven Extraction For Science*. John Wiley & Sons Inc. USA.
- Departemen Kehutanan. 2006. *Seleksi Pohon Plus*. Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura. Sumedang
- Dewi, B. S., Safe'i, R., Harianto, S., Bintoro, A., Winarno, G. D., Iswandaru, D. dan Santoso, T. 2017. *Biodiversitas Flora dan Fauna Universitas Lampung*. Plantaxia. Yogyakarta.
- Duris, V., Bartková, R., dan Tirpáková, A. 2021. Principal Component Analysis and Factor Analysis for an Atanassov IF Data Set. *Mathematics*. 9 (17):2067.
- Elsi, Y., Satriadi, T., dan Istikowati, T. 2020. Etnobotani Obat-Obatan yang Dimanfaatkan Masyarakat Adat Dayak Meratus Desa Ulang Kabupaten Hulu Sungai Selatan Kalimantan Selatan. *Jurnal Sylva Scientiae (JSS)*. 03(1): 193–201.
- Endarini, L. H. 2016. *Farmakognisi dan Fitokimia*. Pusdik SDM Kesehatan. Jakarta.
- Fadlilaturrahmah, F., Khairunnisa, A., MP Putra, A., dan Sinta, I. 2021. Uji Aktivitas Tabir Surya Dan Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS)*. 6(2): 322–330.
- Fangohoy, J., Sudewi, S., Yudistira, A. 2019. Prediksi Model Penetapan Kadar Flavonoid Total Pada Ekstrak *Abelmoschus manihot* L. Menggunakan Spektroskopi IR Yang Dikombinasikan Dengan Kemometrik. *Pharmacon*, 8(2): 480–487.
- Fukusaki, E., and Kobayashi, A. 2005. Plant metabolomics: Potential for practical operation. *J. Biosci. Bioeng.* 100(4): 347–354.
- Hardani, S. 2020. Diagnosa Penyakit Diabetes Dengan Metode Forward Chaining. *J. Comp. Sci. Tech.* 5(2): 231–236.
- Friscic, M., Petlevski, R., Kosalec, I., Madunić, J., Matulić, M., Bucar, F., Pilepić, K. H., and Maleš, Ž. 2022. Globularia alypum L. and Related Species: LC-MS Profiles and Antidiabetic, Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antibacterial and Anticancer Potential. *Pharmaceuticals*. 15(5).
- Hardiansyah, S. C. dan Pheby, O. 2021. Uji Aktivitas Antipiretik Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Tikus Putih Jantan Yang Diinduksi Dengan Vaksin DPT-HB. *Jurnal Ilmiah Multi Sciences*. 11(2): 130–135.

- Harmita, K., Harahap, Y., dan Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penerbitan. Jakarta.
- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A. and Seberg, O. 2007. *Flowering Plant Families of the World*. Royal Botanic Gardens. Kew.
- Hidayat, S. 2021. *The Secret Of Enzymes : Hidup Sehat Dengan Terapi Enzim*. New Vita Pustaka. Yogyakarta.
- IDF. 2021. *IDF Diabetes Atlas* (10th ed.). International Diabetes Federation.
- Kasumawati, F. dan Hasnah, S. 2022. The Effect of Drying Method on Potential Antioxidants in Ethanol Extract of Sungkai Leaf (*Peronema Canescens* Jack.) Simplicia from Kalimantan. *Jurnal Ilmiah Berkala*. 16(1): 1–8.
- Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. UI Press. Jakarta.
- Kim, M. J., Kim, H. J., & Han, J. S. 2019. Pheophorbide A from *Gelidium amansii* improves postprandial hyperglycemia in diabetic mice through α -glucosidase inhibition. *Phytotherapy Research*. 33(3):702–707.
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H. 1994. Indonesia Medical Plant VII. Seven New Cleodane-type Diterpenoids, Peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1 From the Leaves of *Peronema canescens* (Verbenaceae). *Chem. Pharm. Bull.* 42 (5):1050.
- Kusriani, R. H., Nawawi, A. dan Turahman, T. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Kulit Batang dan Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Terhadap *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923 dan *Escherichia Coli* ATCC 25922. *J. Pharm. Galenika*. 2(1): 8–14.
- Latief, M., Anggun, T. F., Putri, M. S., Indra, L. T. 2021. Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack) Pada Mencit Terinduksi Karagenan. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis (JFSP)*. 7(2): 144–153.
- 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): 64–74.
- Latief, M., Tarigan, I. L., Sari, P. M., Aurora, F. E. 2021. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Pada Mencit Putih Jantan. *Pharmacol.* 18(1): 23.
- Lee, K. M., Jeon, J. Y., Lee, B. J., Lee, H. and Choi, H. K. 2017. Application of Metabolomics to Quality Control of Natural Product Derived Medicines. *Biomol Ther.* 25(6): 559–568.

- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y. dan Sahidin, S. 2019. Analisis LC-MS/MS (*Liquid Chromatograph Mass Spectrometry*) dan Metabolit Sekunder Serta Potensi Antibakteri Ekstrak n-Heksana Spons *Callyspongia aerizusa* Yang Diambil Pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang Yang Berbeda di Perairan Teluk Staring. *J. Biol. Tropis*. 19(2): 131–141.
- Mari, A., Montoro, P., Pizza, C., & Piacente, S. 2012. Liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of chemical markers and principal component analysis of *Vitex agnus-castus* L. fruits (Verbenaceae) and derived food supplements. *J. Pharm and Biomed. Anal.* 70:224–230.
- Martawijaya, A., Kartasujana, I., Mandang, Y.I., Prawira, S. A. dan Kadir, K. 2005. *Atlas Kayu Indonesia Jilid 1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan*. Departemen Kehutanan.
- Mathew, L. and Shah, G. L. 1987. Anatomical contributions to the taxonomy of some Verbenaceae: Petiole. *Plant. Sci.* 97(3): 235–246.
- McMaster, M. C. 2005. *LC / MS A Practical User ' s Guide*. John Wiley & Sons Inc. USA.
- Melisa, E., Muhaimin, Yuliawati dan K, F. S. 2022. Uji Toksistas Akut Ekstrak Etanol Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Fungsi Ginjal Mencit Putih Betina. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. 26(1): 32–37.
- Miller, J. N. and Miller, J. C. 2014. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Pearson Education Limited. New York.
- Miller, J. N. and Miller, J. C. 2005. *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry Fifth Edition*. Pearson Education Limited. New York.
- Muharni, Yohandini, H., Ferlinahayati, dan Julinar. 2022. Edukasi Penggunaan Tumbuhan Sungkai (*Paronema canescens*) untuk Menurunkan Kolesterol. *Jurnal Pepadu*. 3(1): 21–29.
- Mukriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361–367.
- Nugroho, A. 2017. *Teknologi Bahan Alam*. Lambung Mangkurat University Press. Kalimantan Selatan.
- Panjaitan, S. dan Yeni, N. 2014. Prospek dan Teknik Budidaya Sungkai (*Peronema canescens* Jack.) di Kalimantan Selatan. *Jurnal Galam*. 7(1): 25–30.
- Phan, M.A.T., Jin, W., Jingyi, T., Yan, Z.L. and Ken, N. 2013. Evaluation of Alpha glucosidase Inhibition Potential of Some Flavanoids from *Epimedium brevicornu*. *Foodscitech Journal*. 53:492-498.

- Plantamor. 2022. Plantamor Situs Dunia Tumbuhan.
<http://plantamor.com/species/info/peronema/canescens#gsc.tab=0>. Diakses pada Februari 2022.
- Pradito, S. A., Muthmainah, N., Biworo, A. 2022. Perbandingan Aktivitas Antibakteri Sediaan Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema canescens* Jack) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Homeostatis*. 5(1): 135–144.
- Prieto, G. B., Eriksson, L., and Trygg, J. 2014. Variable influence on projection (VIP) for orthogonal projections to latent structures (OPLS). *J. of Chemometrics*. 28(8):623–632.
- Puspitasari, L., Mareta, S., Thalib, A. 2021. Karakterisasi Senyawa Kimia Daun Mint (*Mentha* sp.) dengan Metode FTIR dan Kemometrik. *Sainstech Farma*. 14(1): 5–11.
- Putri, S. P., Yamamoto, S., Tsugawa, H. and Fukusaki, E. 2013. Current metabolomics: Technological advances. *J. Biosci. Bioeng*. 116(1): 9–16.
- Rafi, M., Rismayani, W., Sugiarti, R. M., Syafitri, U. D., Wahyuni, W. T. and Rohaeti, E. 2021. FTIR-based Fingerprinting Combined With Chemometrics For Discrimination of *Sonchus arvensis* Leaves Extracts of Various Extracting Solvents and The Correlation With Its Antioxidant Activity. *Indonesian J. Pharm*. 32(2): 132–140.
- Rahman, A., Rengganis, G. P., Prayuni, S., Novriyanti, I., Sari, T. N., Pratiwi, P. D., Pratama, S. 2021. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Sungkai (*Peronema canescens*) Terhadap Jumlah Leukosit Pada Mencit. *J. Healthcare Tech and Med*. 7(2): 614–620.
- Rynjah, C.V., Devi, N.N., Khongthaw, N., Syiem, D. and Majaw, S. 2018. Evaluation of the Antidiabetic Property of Aqueous Leaves Extract of *Zanthoxylum armatum* DC. Using In Vivo and In Vitro Approaches. *J. Trad. Complemen. Med*. 8(1) : 134 – 140.
- Sargent, M. 2013. *Guide to achieving reliable quantitative LC-MS measurements. In Analytical Methods Committee (First)*. RSC Analytical Methods Committee.
- Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I. 2008. *Natural Product Isolation*. Humana Press. Amerika.
- Sawada, Y. and Yokota Hirai, M. 2013. Integrated LC-MS/MS System for Plant Metabolomics. *Computational and Structural Biotech Journal*. 4(5).
- Septaningsih, D. A., Darusman, L. K., Afendi, F. M. and Heryanto, R. 2018. Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS) Fingerprint Combined

With Chemometrics for Identification of Metabolites Content and Biological Activities of *Curcuma Aeruginosa*. *Indonesian J. of Chem.* 18(1): 43–52.

- Septiana, E. dan Simanjuntak, P. 2020. Aktivitas Antidiabetes Secara *In Vitro* Ekstrak Etanol Daun dan Kulit Batang Bintangur (*Calophyllum rigidum* Miq.). *J. Med Plant Indonesia.* 13(2):85–92.
- Shafirany, M. Z., Susilawati, Y. dan Musfiroh, I. 2019. Aplikasi Kemometrik dalam Penentuan Mutu Tumbuhan Obat. *J. Sains. Kes.* 4(2).
- Simanjuntak, P. 1996. Studi Kimia Senyawa Glikosida Tumbuhan Sungkei *Peronema canescens* (Verbenaceae). *JKTI.* 6:8–12.
- Soleh, A. M. dan Darusman, L. K. 2008. Model Otentikasi Komposisi Obat Bahan Alam Berdasarkan Spektra Inframerah Dan Komponen Utama Studi Kasus : Obat Bahan Alam/Fitofarmaka Penurun Tekanan Darah. *Forum Statistika Dan Komputasi.* 13(1): 1–6.
- Sugiwati, S., Siswati, S dan Efy, A. 2009. Antihyperglycemic Activity of the Mahkota Dewa (*Phalerria macrocarpa* (Scheff.) Boerl) Leaf Extracts as an Alpha Glucosidase Inhibitors. *Makara J. Health. Res.* 3(2):74-78.
- Suiraoaka, IP. 2012. *Penyakit Degeneratif dari Perspektif Preventif*. Nuha Medika. Yogyakarta.
- Sukandar, D., Sumarlin, L. O., Zahroh, H. Dan Amelia, E. R. 2012. Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi Etil Asetat Daun Pandan Wangi Dengan Metode Alfa Glukosidase. *J. Valensi.* 2(1):124–129.
- Susanti, R. dan Fibriana, F. 2017. *Teknologi Enzim*. Penerbit Andi. Yogyakarta.
- Susiarti, S. 2015. Pengetahuan dan Pemahaman Tumbuhan Obat Masyarakat Lokal di Pulau Seram, Maluku. *Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia.* 1(5):1083–1087.
- Sutanto, T. 2013. *Diabetes Deteksi, Pencegahan, Pengobatan*. Penerbit Buku Pintar. Yogyakarta.
- Suwandi, J.F. and Mahardika, A.W. 2018. Original Article In Vitro Antiplasmodial and Cytotoxic Activities Of a Sungkai (*Penorema canescens*) Leaf Extract. *Int J Pharm Pharm Sci.* 10:10.
- Thévenot, E. A., Roux, A., Xu, Y., Ezan, E., and Junot, C. 2015. Analysis of the Human Adult Urinary Metabolome Variations with Age, Body Mass Index, and Gender by Implementing a Comprehensive Workflow for Univariate and OPLS Statistical Analyses. *J. of Proteome.* 14(8):3322–3335.

- Utomo, N.P. 2021. Identifikasi Senyawa Antioksidan Dari Tanaman Kemangi Daerah Bogor dan Pandeglang Dengan Pendekatan Metabolomik. *Skripsi*. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Wahyuni, S. 2017. *Biokimia Enzim dan Karbohidrat*. Unimal Press. Aceh.
- Warsito, M. F. 2018. Analisis Metabolomik : Metode Modern Dalam Pengujian Kualitas Produk Herbal. *Biotrends*. 9(2).
- WHO. 2016. Global Report on Diabetes. *WHO*. 978: 6–86.
- WHO. 2009. The Use of Herbal Medicines In Primary Health Care. *WHO*.
- Wold, S., Sjostrom, M. and Eriksson, L. 2001. PLS-Regression: a Basic Tool of Chemometrics. *Journal Elsevier*. 109-130.
- Wulandari, L., Nugraha, A. S. dan Himmah, U. A. 2021. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) secara In Vitro. *Ind Pharm Journal*. 11(2): 132–141.
- Xu, Z. and Chang, L. 2017. Identification and Control of Common Weeds: Volume 3. *Identification and Control of Common Weeds*. 3(3):163–179.