

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI EKSTRAK DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES**

(Skripsi)

Oleh

JIHAN NAFISA SALSABILA



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI EKSTRAK DAUN SUNKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES

Oleh

Jihan Nafisa Salsabila

Tanaman *Peronema canescens* Jack. yang dikenal dengan nama Sungkai diketahui dapat menurunkan kadar gula darah. Tujuan penelitian ini yaitu mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dari ekstrak etil asetat daun sungkai dan menguji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* terhadap senyawa hasil isolasi.

Penelitian yang dilakukan meliputi persiapan sampel, ekstraksi sampel dengan metode maserasi, fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum dan kromatografi kolom, analisis kemurnian, identifikasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR, serta pengujian aktivitas antidiabetes menggunakan metode penghambatan enzim α -amilase melalui pengukuran serapan dengan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa NV34 berhasil membentuk kristal dari FE3 hasil kromatografi cair vakum dan FE4 berhasil diisolasi dua senyawa yang diberi kode NV35 dan NV36. Senyawa NV34, NV35, dan NV36 secara berturut-turut menunjukkan sifat fisik kristal jarum berwarna putih sebanyak 5,7 mg, padatan amorf berwarna hijau muda sebanyak 5 mg, dan kristal amorf berwarna kuning sebanyak 4 mg. Senyawa NV34 diidentifikasi sebagai senyawa β -sitosterol dari golongan steroid, senyawa NV35 dan NV36 memiliki kemiripan dengan senyawa golongan terpenoid, namun belum dapat dipastikan struktur senyawanya secara tepat. Pengujian aktivitas antidiabetes terhadap senyawa hasil isolasi yang teridentifikasi yaitu NV34 menunjukkan aktivitas sebagai penghambat enzim α -amilase pada variasi konsentrasi 500, 750, dan 1000 ppm dengan nilai rata-rata % inhibisi secara berturut-turut sebesar $24,34 \pm 3,10\%$; $28,68 \pm 1,09\%$; dan $34,13 \pm 3,83\%$, serta memiliki nilai IC_{50} sebesar 1818,11 ppm.

Kata Kunci : *P. canescens* Jack, β -sitosterol, terpenoid, inhibisi, α -amilase, antidiabetes.

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM EXTRACT OF SUNGKAI LEAVES (*Peronema canescens* Jack.) AND THE ANTIDIABETIC ACTIVITY TEST

By

Jihan Nafisa Salsabila

Peronema canescens Jack. plant. known as Sungkai is known to lower blood sugar levels. The purpose of this research is to identify secondary metabolite compounds isolated from ethyl acetate extract of sungkai leaves and test the in vitro antidiabetic activity of the isolated compounds.

The research carried out included sample preparation, sample extraction using the maceration method, fractionation using vacuum liquid chromatography and column chromatography, purity analysis, identification of isolated compounds using $^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$ spectrophotometers, and testing of antidiabetic activity using the α -amylase enzyme inhibition method by measuring absorption with a UV-Vis spectrophotometer.

The research results showed that compound NV34 succeeded in forming crystals from FE3 as a result of vacuum liquid chromatography and FE4 succeeded in isolating two compounds coded NV35 and NV36. Compounds NV34, NV35, and NV36 respectively showed the physical properties of white needle crystals amounting to 5.7 mg, light green amorphous solids amounting to 5 mg, and yellow amorphous crystals amounting to 4 mg. Compound NV34 was identified as a β -sitosterol compound from the steroid group, compound NV35 and NV36 has similarities to compounds from the terpenoid group, but the structure of the compound cannot yet be predicted. Antidiabetic activity testing of the isolated compound identified, namely NV34, showed activity as an inhibitor of the α -amylase enzyme at various concentrations of 500, 750, and 1000 ppm with an average % inhibition value respectively of $24.34 \pm 3.10\%$; $28.68 \pm 1.09\%$; and $34.13 \pm 3.83\%$ with the highest inhibitory potential at a concentration of 1000 ppm with an average % inhibition value of $34.13 \pm 3.83\%$, and has an IC_{50} value of 1818.11 ppm..

Keywords : *P. canescens* Jack, β -sitosterol, terpenoids, inhibition, α -amylase, antidiabetic

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI EKSTRAK DAUN SUNGKAI (*Peronema canescens* Jack.) SERTA
UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES**

Oleh

JIHAN NAFISA SALSABILA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi

: **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack.) Serta Uji Aktivitas Antidiabetes**

Nama Mahasiswa

: **Jihan Nafisa Salsabila**

NPM

: 1957011002

Jurusan

: **Kimia**

Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. Komisi Pembimbing

Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
NIP 19731119 199802 2 001

Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.
NIP 19540510 198803 2 001

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung

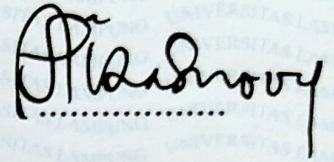
Dr. Mita Rilyanti, M.Si.
NIP 19720530 200003 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

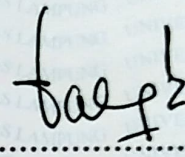
Ketua

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



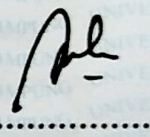
Sekretaris

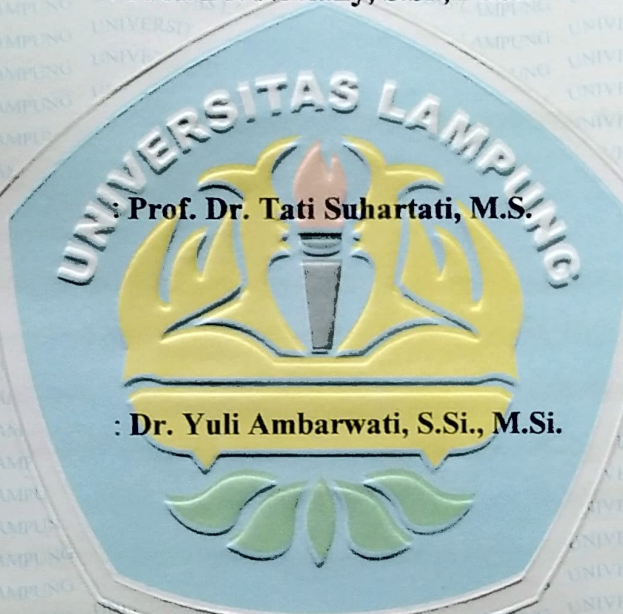
: Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.



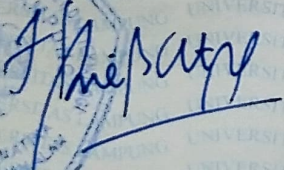
Anggota

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





2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 19 Juli 2024

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Jihan Nafisa Salsabila
NPM : 1957011002
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya berjudul **“Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack.) Serta Uji Aktivitas Antidiabetes”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 7 Agustus 2024
Yang menyatakan



Jihan Nafisa Salsabila
NPM 1957011002

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Jihan Nafisa Salsabila lahir di Jakarta pada 25 Juni 2001. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Ir. Teguh Widi Handono dan Ibu Meviani A.Md.

Penulis menyelesaikan jenjang pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Islam Gunung Jati tahun 2005-2007. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Islam Gunung Jati tahun 2007-2011 dan SD Negeri 6 Metro Pusat yang diselesaikan pada tahun 2013. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama diselesaikan pada tahun 2016 di SMP Negeri 3 Metro dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 2 Metro pada tahun 2019.

Pada tahun 2019, penulis diterima di Jurusan S1 Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri-Barat (SMMPTN-Barat). Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah mengikuti Karya Wisata Ilmiah yang diselenggarakan oleh BEM FMIPA Unila tahun 2019. Penulis pernah menjabat sebagai Anggota Biro Usaha Mandiri Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Universitas Lampung pada periode 2020/2021. Pada tahun 2020, penulis mendapatkan dana hibah Program Mahasiswa Wirausaha (PMW). Penulis telah mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Karangrejo, Kecamatan Metro Utara, Kota Metro pada periode I Tahun 2022.

Pada bulan September 2022, penulis telah melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) yang berjudul “**Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antidiabetes Terhadap Ekstrak Aseton Pada Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack.) Secara *In Vitro* Melalui Penghambatan Enzim α -Amilase**” di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.

Selama menempuh perkuliahan penulis aktif menjadi asisten praktikum di Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Kimia Dasar FMIPA Universitas Lampung. Penulis pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Organik Jurusan Biologi pada semester ganjil 2022/2023, Praktikum Kimia Organik I-Kimia Analitik I Jurusan Kimia pada semester genap 2022/2023, Praktikum Kimia Organik II-Kimia Fisik I Jurusan Kimia dan Praktikum Kimia Dasar Jurusan Kimia pada semester ganjil 2023/2024. Demikian riwayat hidup dari penulis semoga memberi manfaat bagi pembaca.



“Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang”

Alhamdulillah Puji Syukur kepada Allah SWT yang senantiasa memberikan nikmat, Kesehatan dan Kesempatan, serta Sholawat serta salam selalu Tercurahkan kepada Suri Tauladan Nabi Muhammad SAW.

Kupersembahkan karya ini sebagai wujud Cinta, Bakti dan Tanggung jawabku Kepada:

Kedua Orang tuaku Tercinta

*Papaku, **Ir. Teguh Widi Handono** dan Mamaku, **Meviani A.Md.** yang selalu memberikan Cinta dan Kasih Sayangnya, sehingga ku dapat menyelesaikan karya ini dengan baik.*

Adikku tersayang

***Rafli Safaditya Ramadhan** yang selalu memberikan Semangat, Do'a, dan dukungan untuk keberhasilan ini*

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

Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S.

Pembimbing penelitianku yang selalu membimbingku, memberikan nasihat, tak lupa dengan penuh perhatian dan kesabaran dalam membimbing selama ini.

*Semua **Bapak dan Ibu dosen** Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmu, pengalaman, dan membimbing kepada penulis selama menempuh pendidikan.*

Serta

Almamaterku Tercinta

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(QS. Al-Baqarah 2:286)

“Everything becomes a bad thing when you think negative. When you think positive, it becomes better. That’s what I believe”

(Kim Seokjin)

“Live with positive vibes! I always try to think positive and I want to be someone who delivers positive energy to others”

(JAKE)

“Instead of thinking, although things are hard I still gotta do it. I think it’ll be better if you think I want to do it”

(Lee Know)

“Orang-orang besar tumbuh bersama keputusan-keputusan besar yang diambarnya. Bukan oleh kemudahan-kemudahan hidup yang didapatnya”

(Lenang Manggala)

“Allah’s plans have the perfect timings; never too early, never too late, bringing the right things in right amount”

(QS. Al-Fil 105:1-5)

“Sometimes we have to lose something to gain something.

The Best is Yet To Come”

(Jihanns)

SANWACANA

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah rabbil'alam, puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, nikmat, dan karunia-Nya yang telah memberikan kesehatan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **“Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Daun Sungkai (*Peronema Canescens* Jack.) Serta Uji Aktivitas Antidiabetes”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwasannya selama penulisan skripsi ini tak terhitung berapa banyak kesulitan yang menghadang, namun semua itu dapat dilalui berkat pertolongan dari Allah SWT dan tentunya berkat do'a, bimbingan, dorongan, nasihat serta bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orangtuaku tercinta, bapak Ir. Teguh Widi Handono dan ibu Meviani A.Md., atas seluruh do'a, kasih sayang, dukungan dan motivasi yang tiada henti kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Terima kasih pula atas semua pengorbanan mama dan papa yang sudah diberikan kepada penulis hingga saat ini, semoga Allah SWT selalu memberikan kesehatan, rezeki, kemudahan, kelancaran, dan perlindungan disetiap langkahnya, serta semoga penulis diberikan kesuksesan sehingga diizinkan oleh Allah SWT untuk menaikkan derajat keluarga, Aamiin Yarobbal Alaamiin.
2. Adikku tersayang Rafli Safaditya Ramadhan yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, do'a, dan dukungan kepada penulis.

3. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku pembimbing I yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas kebaikan beliau dengan kebaikan pula, diberikan kesehatan, kelancaran dan keberkahan disetiap langkahnya.
4. Ibu Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S., selaku pembimbing II yang telah membimbing dengan penuh kesabaran, keikhlasan, dan motivasi sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas kebaikan beliau dengan kebaikan pula, diberikan kesehatan, kelancaran dan keberkahan disetiap langkahnya.
5. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasihat, kritik, saran dan telah membimbing dengan kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Semoga Allah SWT membalasnya dengan kebaikan.
6. Keluarga besar Sragen, Kakung Warno dan Uti Widji atas seluruh do'a, kasih sayang, dukungan dan motivasi yang tiada henti kepada penulis serta semua pengorbanan yang sudah diberikan kepada penulis.
7. Keluarga besar Yogyakarta dan Metro yang telah memberikannya kepada penulis.
8. Ibu Dr. Zipora Sembiring, M.Si., dan Bapak Radho Al Kausar, S.Si., M.Si., selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan, semangat, masukan, motivasi dan saran selama perkuliahan.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh ilmu, motivasi, dan pengalamannya yang telah diberikan kepada penulis selama menjalankan pendidikan di kampus. Semoga ilmu yang diberikan bermanfaat dan Allah SWT membalas semua kebaikan bapak dan ibu dengan pahala yang berlimpah.
10. Seluruh staff 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.

11. *Noviany's Research Group* (NRG), kak Arif, kak Hanif, mba Aulia Gadis, mba Azizah, mba Age, mba Rista, mba Ofri, mba Reni, Vio, Muti, Angel, dan Dilla terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya selama ini.
12. Tim NRG'19 Havier, Devi, dan Sayidah terima kasih atas bantuan, dukungan dan kerjasamanya selama ini.
13. Rekan-rekan peneliti di Laboratorium Organik, mba Rinda, mba Kartika, mba Armi, mba Farah, mba Nia, kak Andika, Kania, Rizky Hadiwijaya, Ara, Akmal, Niko, Bayu, Mella, Yuwan, Sisil dan Al, terima kasih telah menjadi rekan semoga Allah SWT selalu memudahkan segala urusannya.
14. Sahabat-sahabatku "Calon Saintis" dan "PURBALINGGA", Datun, Opi, Sinur, Silvi, Aidha, Nita, dan Leha, yang telah mengisi drama kehidupan dengan keceriaan dan canda tawanya sebagai hiburan bagi penulis. Semoga Allah SWT melindungi dan memberi kelancaran dalam segala hal baik dunia maupun akhirat.
15. Teman-teman seperjuangan kelas C "*Caring For Each Other*" dan "*Chemistry'19*", terimakasih atas kebersamaannya selama menjalani masa perkuliahan dengan berbagai hal seru, membagi ilmu, dan saling mengerti satu sama lain.
16. Almamater tercinta Universitas Lampung.
17. BTS, ENHYPEN, dan BOYNEXTDOOR yang telah menjadi *mood booster* penulis melalui lagu-lagu, penampilan panggung, *live streaming* dan *variety show*nya dikala penulis merasa *down* serta menemani penulis menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan baik.
18. Kim Seokjin, Jake, Taesan, Lee Know, Soobin, dan Sunwoo yang selalu menghibur, memotivasi, menguatkan, dan mengingatkan untuk menjaga kesehatan penggemarnya, serta membantu penulis untuk selalu berfikir positif dan optimis sehingga penulis menyelesaikan skripsi ini hingga akhir.
19. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai.
20. *Last but not least, I wanna thank me for believing Allah's timing is always perfect, for believing in me, for just being me at all times, for having no days off, for never quitting, for doing all this hard work, and finally I did it.*

Semoga segala kebaikan dan pertolongan yang diberikan kepada penulis dapat dibalas oleh Allah SWT dengan limpahan nikmat dan pahala. Penulis sangat menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat baik bagi penulis secara pribadi maupun bagi pembaca. Aamiin Ya Rabbal 'Aalamiin.

Bandar Lampung, 7 Agustus 2024

Jihan Nafisa Salsabila

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. <i>Verbenaceae</i>	4
2.2. Tanaman Sungkai (<i>Peronema canescens</i> Jack.)	4
2.3. Senyawa Metabolit Sekunder	6
2.4. Kandungan Fitokimia dan Efek Farmakologi <i>P. canescens</i> Jack.	7
2.5. Ekstraksi	11
2.6. Kromatografi	11
2.6.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	12
2.6.2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	13
2.6.3. Kromatografi Kolom (KK)	13
2.7. Analisis Secara Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR)	14
2.8. Diabetes Melitus	15
2.8.1. Diabetes Melitus Tipe I	15
2.8.2. Diabetes Melitus Tipe II	16
2.8.3. Diabetes Melitus Tipe Gestasional	16
2.9. Enzim Alfa Amilase	16
2.10. Inhibisi Alfa Amilase	17
III. METODE PENELITIAN	19
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	19
3.2. Alat dan Bahan	19
3.2.1. Alat-alat yang digunakan	19
3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan	19
3.3. Prosedur Penelitian	20
3.3.1. Persiapan Sampel	20
3.3.2. Ekstraksi dengan Pelarut	20
3.3.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	20

3.3.4. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	21
3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)	22
3.3.6. Analisis Kemurnian	22
3.3.7. Analisis Secara Spektroskopi	22
3.3.8. Uji Antidiabetes	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. Ekstraksi Daun Sungkai	25
4.2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)	26
4.3. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes fraksi KCV	28
4.4. Kromatografi Kolom	29
4.5. Analisis Kemurnian	34
4.6. Karakterisasi dengan Spektroskopi Nuclear Magnetic Resonance (NMR)	36
4.6.1. Senyawa NV34	36
4.6.2. Senyawa NV35	40
4.6.3. Senyawa NV36	43
4.7. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Hasil Isolasi	46
V. SIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Simpulan	49
5.2. Saran	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan Kepolaran Eluen (Gritter et al., 1991).....	12
2. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^1H -NMR (Sudjadi, 1983).....	14
3. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^{13}C -NMR (Sudjadi, 1983).....	15
4. Massa fraksi gabungan hasil KCV	27
5. Nilai persen inhibisi fraksi KCV pada konsentasi 500 ppm	28
6. Massa fraksi gabungan FE4	30
7. Massa fraksi gabungan FE4a	31
8. Massa fraksi gabungan FE4bc	32
9. Massa fraksi gabungan FE4bc9	33
10. Perbandingan geseran kimia ^1H -NMR senyawa NV34 dengan literatur β -sitosterol (Cayme and Ragasa, 2004) (Kurniawan et al., 2021).....	37
11. Perbandingan geseran kimia ^{13}C -NMR senyawa NV34 dengan literatur β -sitosterol (Cayme and Ragasa, 2004) (Kurniawan et al., 2021).....	39
12. Perbandingan data geseran kimia ^1H -NMR antara senyawa NV35 dengan peronemin B1 (Kitagawa et al., 1994).....	41
13. Perbandingan data geseran kimia ^{13}C -NMR antara senyawa NV35 dengan peronemin B1 (Kitagawa et al., 1994).....	42
14. Data geseran kimia ^1H -NMR senyawa NV36	44
15. Data geseran kimia ^{13}C -NMR senyawa NV36	45
16. Nilai persen inhibisi aktivitas enzim α -amilase oleh senyawa NV34 dan kontrol positif akarbosa	46
17. Perhitungan % Inhibisi Uji Aktivitas Antidiabetes Fraksi KCV	65
18. Perhitungan % Inhibisi Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa NV34	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman Sungkai	5
2. Struktur Senyawa 5,7-dihidroksi,3'-metoksi flavon (Januarti <i>et al.</i> , 2019)	6
3. Struktur-Struktur Senyawa Hasil Isolasi <i>S. grandiflora</i> (L.) Pers. (Noviany <i>et al.</i> , 2012) (Noviany, 2021) (Noviany <i>et al.</i> , 2020)	7
4. Struktur Senyawa Hasil Isolasi Dari Beberapa Ekstrak Daun Sungkai (Pakpahan, 2021) (Dasrinal, 2022) (Safitri, 2022)	9
5. Struktur Senyawa Hasil Isolasi Dari Ekstrak Aseton Daun Sungkai (Kitagawa <i>et al.</i> , 1994)	10
6. Mekanisme penghambatan enzim α -amilase (Sani <i>et al.</i> , 2021)	18
7. Proses ekstraksi (a) maserasi daun sungkai, (b) penyaringan filtrat ekstrak etil asetat, (c) pemekatan filtrat	26
8. Proses fraksinasi dengan KCV	26
9. Kromatogram fraksi KCV (a) pada lampu UV 254 nm dan (b) pada lampu UV 365 nm	27
10. Senyawa NV34 (a) Kristal berwarna kehijauan masih terdapat pengotor, (b) Kristal jarum berwarna putih	27
11. Uji aktivitas antidiabetes pada fraksi KCV	28
12. Kromatografi kolom FE4	29
13. Kromatogram fraksi FE4 (a) pada lampu UV 254 nm dan (b) pada lampu UV 365 nm	30
14. Kromatogram fraksi FE4a (a) pada lampu UV 254 nm dan (b) pada lampu UV 365 nm	31
15. Kromatogram fraksi FE4bc (a) pada lampu UV 254 nm dan (b) pada lampu UV 365 nm	31

16. Kromatogram FE4bc8 dengan variasi fase gerak (a) DCM : aseton (9 : 1); (b) DCM : etil asetat (9 : 1); dan (c) kloroform : etil asetat (8 : 2) pada lampu UV 254 nm	32
17. Senyawa NV35	33
18. Kromatogram fraksi FE4bc9 pada lampu UV 254 nm	33
19. Senyawa NV36	34
20. KLT perbandingan antara senyawa NV34 dan β -sitosterol setelah disemprot dengan $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ menggunakandengan variasi fase gerak (a) <i>n</i> -heksana : DCM (9 : 1); (b) <i>n</i> -heksana : etil asetat (8 : 2); dan (c) <i>n</i> -heksana : aseton (7 : 3)	34
21. Kromatogram senyawa NV35 di bawah lampu UV 254 nm dengan variasi fase gerak (a) IPA : aseton (9 : 1); (b) <i>n</i> -heksana : IPA (3,5 : 6,5); dan (c) <i>n</i> -heksana : IPA (8 : 2)	35
22. Kromatogram senyawa NV36 di bawah lampu UV 254 nm dengan variasi fase gerak (a) DCM : IPA (2 : 8); (b) kloroform : etil asetat (6 : 4); dan (c) DCM : etil asetat (8 : 2)	35
23. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV34	36
24. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV34	38
25. Struktur senyawa β -sitosterol (Cayme, J-M. C. and Ragasa, C. Y., 2004) ...	40
26. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV35	40
27. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV35	42
28. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV36	43
29. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV36	45
30. Grafik perbandingan konsentrasi (ppm) dan inhibisi (%) senyawa NV34 dan Akarbosa	47
31. Interaksi ikatan hidrogen antara senyawa β -sitosterol dengan situs aktif enzim (a) senyawa β -sitosterol (b) situs aktif enzim (Rathinavelusamy <i>et al.</i> , 2014)	48
32. Diagram alir hasil ekstraksi pada sampel serbuk daun sungkai	59
33. Diagram alir hasil fraksinasi KCV pada ekstrak pekat etil asetat	60
34. Diagram alir hasil fraksinasi pada FE4	61
35. Diagram alir hasil fraksinasi pada FE4bc9	62
36. Diagram alir uji aktivitas antidiabetes	63
37. Hasil determinasi tumbuhan sungkai (<i>P. canescens</i> Jack.)	64
38. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV34 pada 5 ppm	67
39. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV34 pada 3 ppm	68

40. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV34 pada 2,3-1,4 ppm	69
41. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV34 pada 1,2-0,6 ppm	70
42. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV34 pada 141-121 ppm	71
43. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV34 pada 58-31 ppm	72
44. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV34 pada 29-12 ppm	73
45. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV35 pada 6,2-3,3 ppm	74
46. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV35 pada 2,6-0,8 ppm	75
47. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV35 pada 75-33 ppm	76
48. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV35 pada 25-12 ppm	77
49. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV36 pada 7-6 ppm	78
50. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV36 pada 4,7-3,3 ppm	79
51. Perbesaran pergeseran kimia ^1H -NMR NV36 pada 1,8-0,8 ppm	80
52. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV36 pada 174-85 ppm	81
53. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV36 pada 78-39 ppm	82
54. Perbesaran pergeseran kimia ^{13}C -NMR NV36 pada 36-14 ppm	83
55. Grafik persamaan persamaan linier IC_{50} senyawa NV34	87
56. Grafik persamaan persamaan linier IC_{50} akarbosa	87

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Diagram Alir Ekstraksi	59
2. Tahapan Isolasi	60
3. Diagram Alir Uji Aktivitas Antidiabetes	63
4. Hasil Determinasi Tanaman Sungkai	64
5. Perhitungan % inhibisi uji aktivitas antidiabetes fraksi KCV	65
6. Perhitungan % inhibisi uji aktivitas antidiabetes senyawa NV34 dan Akarbosa	66
7. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV34	67
8. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV34	71
9. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV35	74
10. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV35	76
11. Spektrum ^1H -NMR senyawa NV36	78
12. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa NV36	81
13. Perhitungan tetapan kopling ^1H -NMR	84
14. Pembuatan larutan kontrol Akarbosa	85
15. Perhitungan IC_{50} pada uji aktivitas antidiabetes	87

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme kronis yang ditandai adanya hiperglikemia akibat ketidakmampuan tubuh merespons kerja insulin, hormon insulin dalam tubuh tidak dapat berfungsi atau kelainan sekresi insulin (El-Barky *et al.*, 2017). Penyakit ini merupakan salah satu penyakit paling umum di dunia. Organisasi *International Diabetes Federation* (IDF) mencatat 537 juta orang dewasa (umur 20-79 tahun) menderita diabetes, setara dengan tingkat prevalensi 10,5% diantara total populasi dalam rentang usia yang sama di seluruh dunia. Jumlah ini diprediksikan meningkat menjadi 643 juta pada tahun 2030 dan 783 juta pada tahun 2045. (*International Diabetes Federation*, 2021).

Indonesia menempati peringkat kelima di dunia dengan populasi penderita diabetes sebanyak 19,47 juta. IDF mencatat 81% penderita diabetes tinggal di negara berpendapatan rendah hingga menengah. IDF memperkirakan 44% orang dewasa penderita diabetes masih belum terdiagnosis (*International Diabetes Federation*, 2021). DM diketahui menjadi penyebab utama kebutaan, penyakit jantung, dan gagal ginjal. Hiperglikemia kronis dan gangguan metabolisme pada DM dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan organ di seluruh tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah sehingga mengakibatkan komplikasi cukup parah (Gan *et al.*, 2020).

Penyakit DM dapat diobati dengan bermacam-macam jenis obat yang tersedia di pasaran antara lain glibenklamid, glimepirid, glikuidon, dan metformin.

Masyarakat mengetahui dan menyadari bahwa penggunaan obat-obatan kimia

dapat menimbulkan dampak buruk, sehingga mendorong banyak orang untuk memilih pengobatan herbal yang diyakini lebih aman (Pujiastuti dkk., 2018). Salah satu pendekatan terapeutik untuk mengobati DM melibatkan pemanfaatan senyawa kimia bioaktif yang berasal dari tumbuhan alami karena tingkat toksisitasnya yang rendah (Kesuma dkk., 2018). Obat herbal tradisional telah banyak digunakan sebagai sumber utama pengembangan farmasi. Secara farmakologis, tanaman herbal memiliki berbagai fungsi antara lain sifat antioksidan, antihipertensi, antiinflamasi, dan antidiabetes (Kanu *et al.*, 2018). Akibatnya, sekitar 80% populasi dunia sudah menggunakan obat tradisional untuk perawatan kesehatan (Ekor, 2014). Diduga salah satu tanaman yang diklaim oleh masyarakat untuk mengobati DM adalah tanaman sungkai (*Peronema canescens* Jack.).

Tanaman *Peronema canescens* Jack., telah lama dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pengobatan tradisional di berbagai wilayah di Indonesia. Daun sungkai telah digunakan oleh masyarakat di Sumatera Selatan, Lampung, dan Kepulauan Riau untuk berbagai tujuan pengobatan, mencakup penurunan demam (Yani, 2013), pengobatan luka ringan dan pengobatan kurap (Thomas, 1989), serta pengobatan malaria (Suwandi *et al.*, 2018). Penelitian terbaru Latief *et al.* (2021) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *P. canescens* Jack. dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, dan fenol yang mungkin berpotensi menurunkan kadar gula darah.

Berdasarkan kerja praktik yang sudah dilakukan sebelumnya, telah dilakukan uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* terhadap beberapa ekstrak dari daun sungkai, termasuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat, etanol, dan aseton. Potensi yang besar terhadap aktivitas antidiabetes ialah ekstrak etil asetat. Ekstrak tersebut memiliki persentase hambatan tertinggi pada konsentrasi 1000 ppm sebesar 88% menandakan bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan yang lebih baik dalam menghambat enzim α -amilase dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Oleh karena itu, pada penelitian ini telah dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder daun sungkai (*P. canescens* Jack.) dengan menggunakan pelarut etil asetat, dan

identifikasi senyawa dengan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) berupa analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR, serta diuji potensi metabolit sekundernya sebagai antidiabetes.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder hasil isolasi dari ekstrak etil asetat daun sungkai (*P. canescens* Jack.), secara spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).
2. Menguji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* terhadap senyawa hasil isolasi.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dilakukan penelitian ini adalah mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder pada daun sungkai (*P. canescens* Jack.) yang memiliki aktivitas antidiabetes sehingga dapat dijadikan sebagai langkah penting untuk penelitian selanjutnya guna penemuan obat antidiabetes.

III. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Verbenaceae*

Verbenaceae biasa dikenal dengan famili *Verbena* atau *Vervain*. Tumbuhan famili ini terdiri dari pohon, semak belukar, dan herba, serta tumbuhan berbunga yang ditemukan di daerah tropis dunia (Heywood *et al.*, 2007). Famili *Verbenaceae* memiliki kemiripan dengan *Lamiaceae*. Hal ini ditunjukkan melalui studi filogenetik bahwasanya banyak genus dalam *Verbenaceae* diklasifikasikan ke dalam *Lamiaceae* (Cantino *et al.*, 1992). Famili *Verbenaceae* mencakup 32 genus dan sekitar 800 spesies (Cardoso *et al.*, 2021). Tanaman yang tumbuh di Indonesia dengan genus *Peronema* dan spesies *P. canescens* Jack. termasuk salah satu famili *Verbenaceae* dikenal dengan nama Sungkai.

2.2. Tanaman Sungkai (*Peronema canescens* Jack.)

Sungkai (*P. canescens* Jack.) merupakan salah satu tanaman yang termasuk dalam famili *Verbenaceae* (Heyne, 1987). Tanaman ini dikenal dengan berbagai nama daerah seperti jati sabrang, sungke (Jawa), sekai, sungkih (Sumatera), longkai, lurus, dan sungkai (Kalimantan). Penyebarannya meliputi wilayah Sumatera Selatan, Jambi, Bengkulu, Lampung, Jawa Barat, Sulawesi Tengah, Sulawesi Selatan, Kalimantan Selatan, Kalimantan Tengah, Kalimantan Barat, dan Kalimantan Timur. Sungkai biasanya tumbuh di hutan sekunder dengan kondisi berair, kadang-kadang juga ditemukan di hutan sekunder dengan kondisi kering, tetapi jarang dijumpai di hutan primer dan daerah yang sering tergenang air secara periodik (Martawijaya dkk., 2005).

Menurut Plantamor (2008) tanaman sungkai (*P. canescens* Jack.) tersusun dalam sistematika berikut:

Kingdom: Plantae

Sub-kingdom: Tracheobionta

Superdivisi: Spermatophyta

Divisi: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Sub-kelas: Asteridae

Ordo: Lamiales

Famili: Verbenaceae

Genus: *Peronema*

Spesies: *Peronema canescens* Jack.

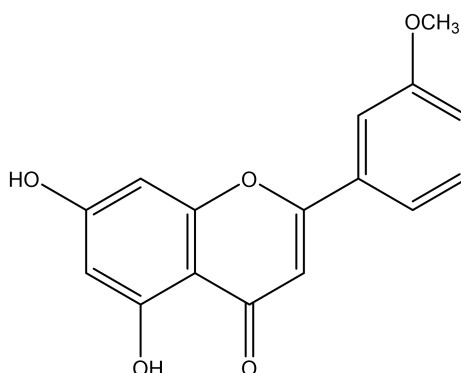
Tinggi tanaman mencapai sekitar 20-30 m, batang tak bercabang mencapai 15 m, diameter 60 cm atau lebih, batang lurus dan sedikit beralur dangkal, serta percabangan berbulu halus. Kulit luar berwarna abu-abu ataupun coklat, agak berkerut dengan tonjolan kecil, dan kulit batang tipis. Kayu teras (inti kayu) berwarna krem atau kuning pucat. Tekstur kayunya kasar dan tidak rata. Arah seratnya lurus, terkadang bergelombang dengan permukaan kayu yang agak kasar. Tanaman sungkai berbuah sepanjang tahun (Departemen Kehutanan, 2006). Tanaman sungkai dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tanaman Sungkai

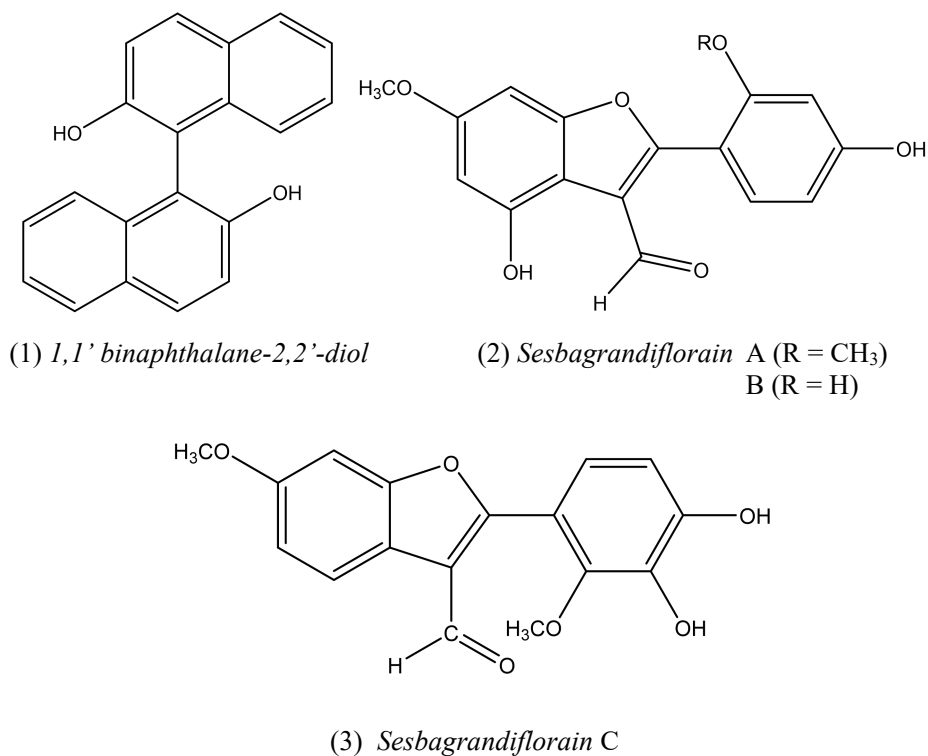
2.3. Senyawa Metabolit Sekunder

Molekul-molekul yang memiliki sifat spesifik, memiliki keragaman struktur, dan tidak selalu ditemukan pada semua organisme dikenal sebagai metabolit sekunder. Setiap senyawa metabolit sekunder memiliki fungsi atau peran yang berbeda-beda. Mereka merupakan biomolekul yang sering menjadi *lead compounds* dalam penelitian dan pengembangan obat-obatan baru (Atun, 2010). Kelompok senyawa metabolit sekunder yang umum dijumpai pada tanaman meliputi alkaloid, flavonoid, steroid, saponin, terpenoid, dan tannin (Harborne, 1987). Terpenoid, salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder, memiliki potensi sebagai antimikroba yang ramah lingkungan (Saxena *and* Kalra, 2011). Meskipun terpenoid umumnya ditemukan dalam tanaman tingkat tinggi, penelitian menunjukkan bahwa jamur, organisme laut, dan serangga juga menghasilkan senyawa terpenoid. Terpenoid juga merupakan komponen penting dalam minyak atsiri (Kristanti dkk., 2008). Sementara itu, flavonoid, yang sering diisolasi dari berbagai tumbuhan, memiliki aktivitas biologis yang menarik, termasuk sifat toksik terhadap sel kanker, kemampuan menghambat pelepasan histamin, sifat anti-inflamasi, anti-jamur, dan anti-bakteri (Mulyani dkk., 2013). Flavonoid juga dikenal karena kemampuannya sebagai antioksidan, yang dapat menangkap radikal bebas dan menghambat oksidasi lipid (Trembl *and* Šmejkal, 2016). Contoh tanaman yang kaya akan senyawa flavonoid adalah tanaman jalo (Salix Tetrasperma Roxb.) (Gambar 2) (Januarti *et al.*, 2019).



Gambar 2. Struktur Senyawa 5,7-dihidroksi,3'-metoksi flavon (Januarti *et al.*, 2019).

Senyawa *1,1' binaphthalene-2,2'-diol* (1) (Gambar 3) (Noviany *et al.*, 2012), senyawa *Sesbagrandidflorain A* (R = CH₃) dan *Sesbagrandidflorain B* (R = H) (2) (Gambar 3) (Noviany, 2021) termasuk contoh senyawa metabolit sekunder kelompok senyawa fenolik yang berhasil diisolasi dari turi putih (*Sesbania grandiflora* (L.) Pers). Senyawa baru yang telah berhasil diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit batang *S. grandiflora* yaitu senyawa 2-arilbenzofuran, *Sesbagrandidflorain C* (3) (Gambar 3) (Noviany *et al.*, 2020).



Gambar 3. Struktur-struktur senyawa hasil isolasi *S. grandiflora* (L.) Pers (Noviany *et al.*, 2012, 2020, 2021)

2.4. Kandungan Fitokimia dan Efek Farmakologi *P. canescens* Jack.

Senyawa metabolit sekunder memiliki beragam pemanfaatan, khususnya di bidang farmakologi, sebagai agen antioksidan, antibiotik, antikanker, antikoagulan darah, penghambat efek karsinogenik, serta agen pengendali hama yang ramah lingkungan (Mustarichie, 2011). Kusriani dkk. (2015) menunjukkan adanya golongan senyawa fenolik, tanin, alkaloid, steroid, dan saponin dalam ekstrak kulit batang sungkai. Sementara itu, senyawa metabolit sekunder seperti

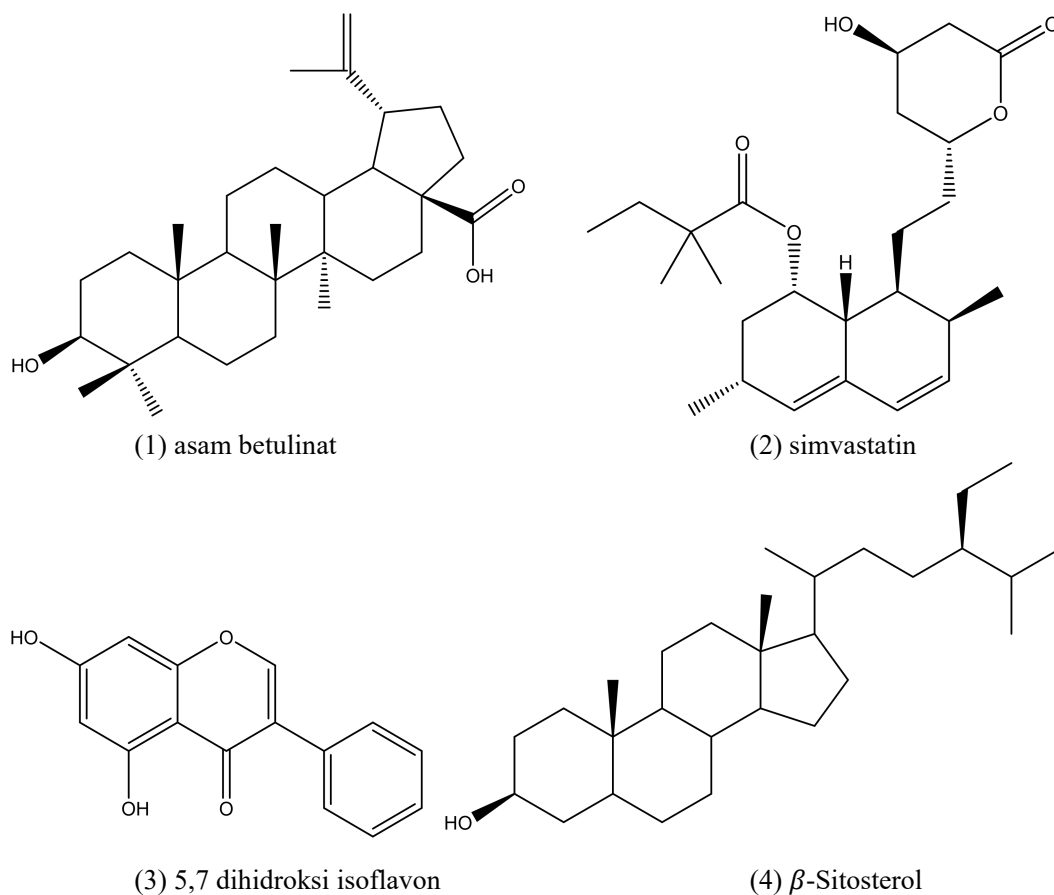
fenolik, tanin, alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid juga terkandung dalam ekstrak daun sungkai.

Pada penelitian Santoni dkk., (2020), menunjukkan hasil skrining fitokimia dari ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol dari daun *P. canescens* mengandung senyawa-senyawa seperti flavonoid, fenolik, saponin, steroid, dan alkaloid. Senyawa-senyawa ini diduga memiliki aktivitas toksik terhadap larva udang *A. salina* Leach., melalui mekanisme *stomach poisoning* (racun perut) dengan mengurangi aktivitas enzim pencernaan dan penyerapan makanan. Penelitian Ibrahim dan Kuncoro (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun sungkai (*P. canescens* Jack.) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S.mutans*, *S. thyposa*, *B.subtilis*, dan *S.aureus*.

Senyawa metabolit sekunder yang diisolasi dari ekstrak *n*-heksana daun *P.canescens* dilaporkan memiliki sifat antikolesterol. Identifikasi struktur senyawa hasil isolasi menggunakan spektroskopi FTIR dan NMR (^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan DEPT 135°) senyawa tersebut diidentifikasi sebagai asam betulinat (1) (Gambar 4). Senyawa ini menunjukkan aktivitas antikolesterol dengan nilai IC_{50} 60,64 ppm, sedangkan simvastatin (2) (Gambar 4) sebagai standar antikolesterol memberikan nilai IC_{50} 23,157 ppm (Pakpahan, 2021).

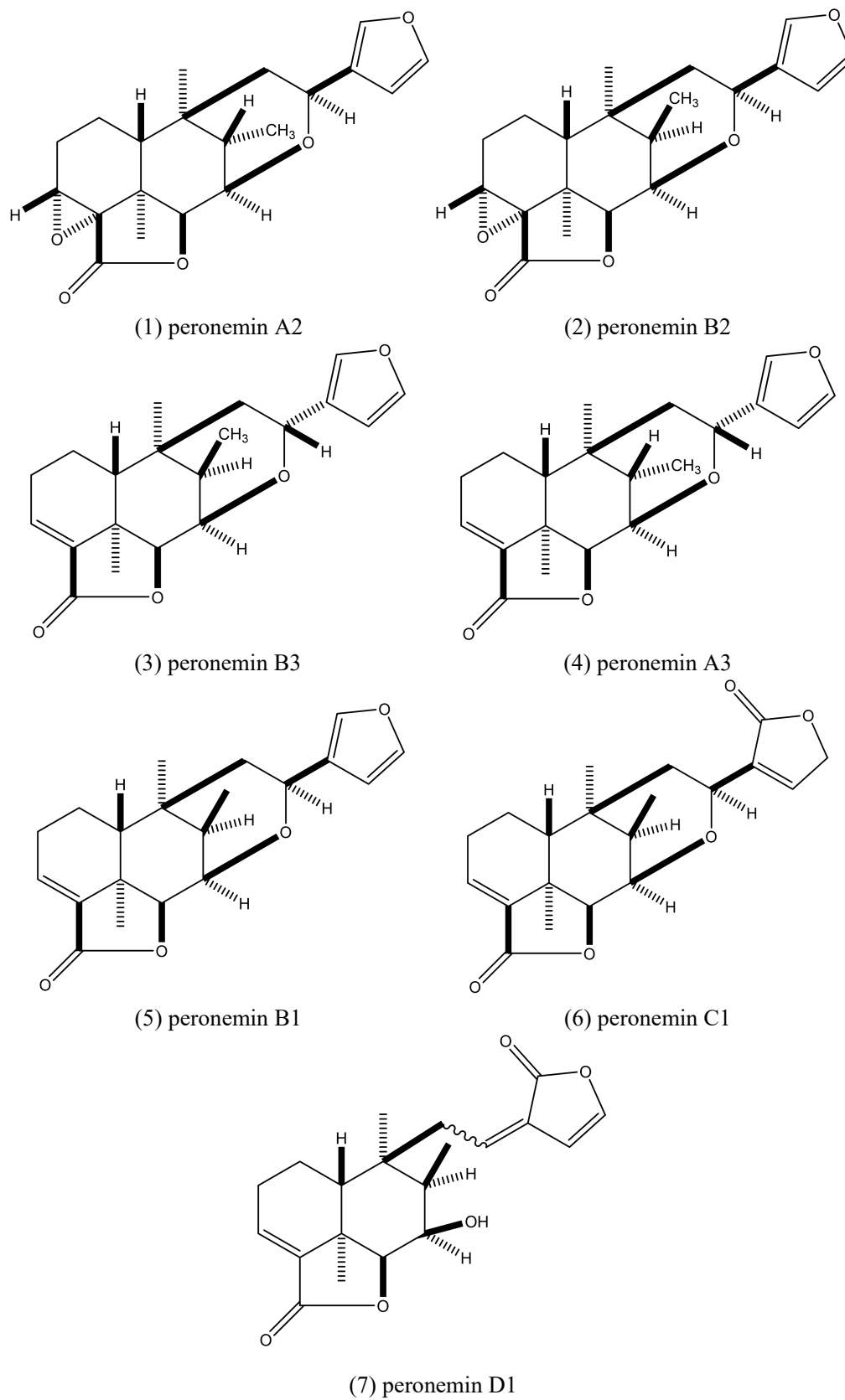
Senyawa hasil isolasi metanol daun sungkai yang dikarakterisasi dengan UV-Vis dan FT-IR diduga mengandung gugus-gugus fungsi antara lain OH, C=C alkena, C-H alifatik, C-O-C eter, dan C-H aromatik, yang diduga mengandung kerangka flavonoid jenis isoflavon yaitu 5,7 dihidroksi isoflavon (3) (Gambar 4). Uji aktivitas imunomodulator menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki efek imunomodulator yang ditandai dengan peningkatan jumlah sel leukosit dan jumlah sel makrofag aktif (Dasrinal, 2022).

Penelitian yang dilakukan oleh Safitri (2022) terhadap ekstrak etil asetat daun sungkai dilakukan isolasi dihasilkan senyawa golongan steroid yaitu β -Sitosterol (4) (Gambar 4).



Gambar 4. Struktur Senyawa Hasil Isolasi Dari Beberapa Ekstrak Daun Sungkai (Pakpahan, 2021) (Dasrinal, 2022) (Safitri, 2022)

Dalam penelitian lain dilaporkan bahwa ekstrak aseton daun sungkai (*P. canescens* Jack.) mengandung sejumlah senyawa, termasuk β -sitosterol, phytol, β -amyrin dan tujuh senyawa diterpenoid tipe klerodan (*clerodane*) yaitu peronemin A2 (1), B2 (2), B3 (3), A3 (4), B1 (5), C1 (6) dan D1 (7) (Gambar 3). Di antara diterpenoid tersebut, senyawa peronemin A3 (4) dan C1 (6) terbukti memiliki aktivitas antiplasmodium (Kitagawa *et al.*, 1994).



Gambar 5. Struktur Senyawa Hasil Isolasi Dari Ekstrak Aseton Daun Sungkai (Kitagawa *et al.*, 1994)

2.5. Ekstraksi

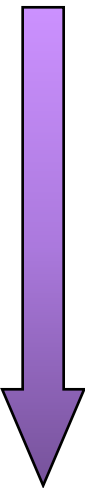
Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa berdasarkan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Zat terlarut yang diekstraksi umumnya memiliki sifat tidak larut atau larut sedikit dalam satu pelarut, tetapi larut dengan mudah dalam pelarut lain (Harborne, 1996). Metode-metode ekstraksi dapat digunakan tergantung dari tujuan ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan dan senyawa yang diinginkan. Metode ekstraksi yang paling sederhana adalah maserasi, dimana penyarian zat aktif dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut tertentu sesuai dengan sifat senyawa yang akan dipisahkan dalam suhu kamar yang dilindung dari cahaya. Prinsip ini menyatakan senyawa akan larut dalam pelarut jika tingkat kepolarannya sebanding yang mana mengacu pada konsep '*like dissolved like*' (Harborne, 1987).

Metode maserasi memiliki kekurangan signifikan, seperti memerlukan jumlah pelarut yang besar, memakan waktu cukup lama, dan berpotensi kehilangan beberapa senyawa karena sulit diekstraksi pada suhu kamar, serta dapat meningkatkan resiko kerusakan senyawa dalam tanaman yang bersifat termolabil (Tetti, 2014).

2.6. Kromatografi

Pemisahan senyawa yang didasarkan oleh perbedaan migrasi analit antara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak dikenal sebagai metode kromatografi. Zat padat atau zat cair sebagai fase diam sementara gas atau zat cair sebagai fase gerak (Hostettmann *et al.*, 1986). Fase gerak mengalir melalui fase diam dan membawa komponen-komponen yang berbeda dari campuran dan bergerak pada laju yang berbeda (Harborne, 1987). Pergerakan fase gerak membawa komponen senyawa dalam sampel melalui fasa diam yang akan dipisahkan dikenal dengan istilah eluen (Hostettmann *et al.*, 1995). Adapun urutan kepolaran eluen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Urutan Kepolaran Eluen (Gritter *et al.*, 1991)

Pelarut Organik	Tingkat Kepolaran
<i>n</i> -heksana	
Sikloheksana	
Karbon tetraklorida	
Benzena	
Toluena	
Metilen klorida	
Kloroform	
Etil asetat	
Aseton	
<i>n</i> -propanol	
Etanol	
Asetonitril	
Metanol	
Air	
	Polar

Dalam penelitian ini, teknik kromatografi yang diterapkan meliputi kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi cair vakum (KCV), dan kromatografi kolom (KK).

2.6.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan proses pemisahan fisikokimia berdasarkan perbedaan distribusi molekuler antara dua fase dengan polaritas yang berbeda, fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben). KLT termasuk dalam kategori kromatografi planar yang digunakan untuk memisahkan senyawa hidrofobik seperti lipid dan hidrokarbon (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip dasar pemisahan KLT bergantung pada sifat fisikokimia senyawa, termasuk kecenderungan larut dalam cairan, volatilitas, dan afinitas terhadap permukaan (Hendayana, 2006).

Campuran berupa larutan dilakukan penotolan seperti bercak pada plat untuk dipisahkan, lalu ditempatkan dalam wadah tertutup dengan fase gerak. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler, selanjutnya perlu mendeteksi senyawa yang tidak berwarna dengan sinar UV. Senyawa organik berpendar atau berflourosensi disinari dengan sinar UV gelombang panjang (365 nm) atau gelombang pendek (254 nm), lalu dilakukan penyemprotan disertai pemanasan atau tanpa pemanasan

yang dapat menampakkan bercak (Stahl, 1985). Hasil pemisahan antara jarak perpindahan bercak dengan jarak pengembangan pelarut biasanya dinyatakan sebagai angka *Retention factor* (*Rf*) dan ditulis dalam desimal (Cairns, 2008). Berikut rumus mencari nilai *Rf*:

$$Rf = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

2.6.2. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

KCV adalah jenis khusus kromatografi vakum yang umumnya menggunakan silika gel sebagai adsorben. Keuntungan kromatografi ini jika dibandingkan dengan kromatografi kolom konvensional terletak pada efisiensi waktu karena proses elusi dipercepat dengan bantuan vakum, dan juga KCV mampu memisahkan sampel dalam jumlah besar. Penggunaan silika gel yang sesuai menjadi hal penting dalam proses pemisahan yang optimal, bila partikel silika gel terlalu kecil dapat mengakibatkan proses elusi berjalan lambat, sebaliknya bila terlalu besar hasil yang didapatkan tidak optimal. Penggunaan eluen yang digunakan dalam KCV dimulai dari eluen dengan urutan polaritas yang rendah kemudian ditingkatkan secara perlahan-lahan (Hostettmann *et al.*, 1986).

2.6.3. Kromatografi Kolom (KK)

KK adalah teknik kromatografi yang menggunakan kolom sebagai alat untuk memisahkan komponen-komponen dalam campuran (Sastrohamidjojo, 1991). Metode ini didasarkan pada prinsip adsorpsi senyawa dari suatu campuran dengan afinitas yang berbeda terhadap permukaan fase diam atau penyerap (Hanani, 2015). Fase gerak berupa zat cair akan membawa sampel senyawa yang mengalir melalui fase diam sehingga adsorpsi senyawa terjadi pada padatan dalam kolom. Laju pergerakan komponen dalam sampel berpengaruh pada seberapa besar atau lama komponen tersebut tertahan oleh padatan penyerap dalam kolom. Hasil pemisahan berupa fraksi-fraksi senyawa (eluat) yang terkumpul di bagian bawah kolom (Rubiyanto, 2013).

Tahapan paling sulit dalam kromatografi kolom adalah pengisian kolom dengan adsorben, dimana harus dilakukan sehomogen mungkin dan bebas dari gelembung udara. Permukaan adsorben juga harus horizontal untuk menghindari cacat yang mungkin terjadi selama proses elusi. Kunci utama yang harus diperhatikan ialah memposisikan kolom pada posisi yang benar-benar vertikal (Sastrohamidjojo, 1991).

2.7. Analisis Secara Spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR)

NMR adalah bentuk spektrometri absorpsi, dimana inti atom menyerap energi pada daerah frekuensi tinggi, mengabsorpsi radiasi elektromagnetik di bawah pengaruh medan magnet yang kuat. Radiasi frekuensi radio digunakan untuk mengeksitasi elektron, biasanya ^1H -NMR ^{13}C -NMR (Silverstein *et al.*, 2005). Terdapat dua jenis spektroskopi NMR yaitu spektrometri ^1H -NMR dan spektrometri ^{13}C -NMR. Spektrum ^1H -NMR memprediksi lingkungan hidrogen dalam molekul dan jumlah atom hidrogen yang bertetangga dengan atom karbon tertentu (Sudjadi, 1983). Pergeseran kimia atom hidrogen dalam spektrum ^1H -NMR dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^1H -NMR (Sudjadi, 1983).

Senyawa Proton	Pergeseran Kimia ^1H -NMR (δ) ppm
C—CH ₃ (alkana)	0,5–2
C $\equiv$ C—H (alkuna)	2,5–3,5
H ₃ C—O— (eter)	3,5–3,8
H ₂ C=C (alkena)	4,5–7,5
Ar—OH (fenol)	4–8
R—OH (alkohol)	5–5,5
Ar—H (aromatik)	6–9
—CO—H (aldehid)	9,8–10,5
—CO—OH	11,5–12,5

Spektrum ^{13}C -NMR memprediksi jenis atom karbon yang terkandung dalam molekul. Pergeseran kimia atom karbon dalam spektrum ^{13}C -NMR dapat diamati, seperti yang tercantum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra ^{13}C -NMR (Sudjadi, 1983).

Senyawa Karbon	Pergeseran Kimia ^{13}C -NMR (δ) ppm
C=O (keton)	205–220
C=O (aldehid)	190–200
C=O	170–185
C aromatik	125–150
C=C (alkena)	115–140
RCH ₂ OH	50–65
RCH ₂ Cl	40–45
RCH ₂ NH ₂	37–45
R ₃ CH	25–35
CH ₃ CO–	20–30
R ₂ CH ₂	16–25
RCH ₃	10–15

2.8. Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kondisi klinis yang dicirikan oleh gejala poliuria, polidipsi, dan polifagi, yang disertai dengan hiperglikemia.

Hiperglikemia terjadi akibat defisiensi insulin, yang mengakibatkan glukosa darah tidak dapat diserap oleh sel-sel otot, jaringan adiposa, atau hati, serta mengganggu metabolismenya (Gunawan, 2007).

Menurut Kementerian Kesehatan RI (2020), diabetes adalah penyakit kronis yang ditandai oleh gangguan metabolik yang menyebabkan peningkatan kadar gula darah melebihi batas normal. Jenis-jenis diabetes diklasifikasikan berdasarkan penyebab peningkatan kadar gula darah, diantaranya diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, dan diabetes melitus tipe gestasional.

2.8.1. Diabetes Melitus Tipe I

DM tipe I disebabkan oleh kerusakan sel beta pankreas akibatnya kekurangan produksi insulin sehingga terjadi penumpukan glukosa dalam darah karena tidak dapat diserap ke dalam sel. Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh pankreas untuk mengatur kadar glukosa dalam darah. Penyakit ini umumnya muncul pada

anak-anak atau usia remaja, pria maupun wanita, biasanya gejala muncul secara tiba-tiba dan dapat berujung koma. Salah satu cara pengobatan DM tipe I ini adalah injeksi insulin dari luar tubuhnya (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

2.8.2. Diabetes Melitus Tipe II

DM tipe ini adalah suatu gangguan metabolik yang disebabkan karena rendahnya sekresi insulin oleh kelenjar pankreas akibatnya terjadi peningkatan kadar gula darah diatas batas normal. Penyakit ini dicirikan oleh hiperglikemia dan disfungsi metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang berkaitan dengan defisiensi absolut dalam sekresi insulin (Fatimah, 2015). Kondisi ini terjadi karena ketidakmampuan tubuh dalam memproduksi atau menggunakan insulin secara efisien. Ketika pankreas menghasilkan insulin, glukosa dapat diserap oleh sel-sel tubuh untuk digunakan sebagai sumber energi atau disimpan sebagai cadangan energi (Putri dan Isfandiari, 2013).

2.8.3. Diabetes Melitus Tipe Gestasional

DM gestasional ditandai dengan kondisi peningkatan kadar glukosa darah selama masa kehamilan, yang biasanya kembali normal setelah proses persalinan. Kenaikan kadar glukosa darah biasanya terjadi sekitar minggu ke-24 kehamilan dan akan kembali normal setelah persalinan. DM tipe ini merupakan gangguan kronis yang ditandai oleh hiperglikemia dan perubahan metabolik utama pada karbohidrat, lemak, dan protein. Intoleransi karbohidrat ini terjadi atau didiagnosis pertama kali selama masa kehamilan (Kementerian Kesehatan RI, 2020).

2.9. Enzim Alfa Amilase

Saliva dan pankreas menghasilkan produk utama yaitu enzim α -amilase (α -1,4-glukan-4-glukanohidrolase) yang mana berfungsi mencerna pati dan glikogen. Enzim ini termasuk dalam kelompok *calcium metalloenzymes* mengandung ion Ca

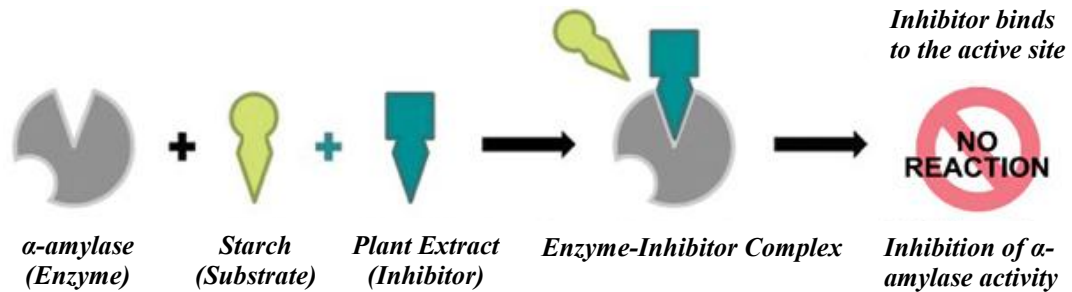
yang bertindak sebagai stabilisator, katalisator dan aktivator alosterik enzim (Michelle De Sales *et al*, 2012). α -amilase berperan dalam pemecahan polisakarida pada ikatan α -1,4 glikosida menjadi oligosakarida. Oligosakarida yang terbentuk dipecah oleh enzim lainnya (α -glukosidase) pada ikatan α -1,6-glikosida menjadi monosakarida (glukosa), selanjutnya diserap (Sim *et al.*, 2010). Dengan demikian, pencernaan dan penyerapan glukosa dalam darah, terutama pada pasien DM merupakan peran penting yang dimiliki oleh enzim α -amilase (Williamson, 2013)

2.10. Inhibisi Alfa Amilase

Inhibitor enzim adalah molekul yang mampu mengurangi, memperlambat, atau bahkan menghentikan laju reaksi enzimatik ketika ditambahkan ke dalam sistem enzim-substrat. Secara umum, inhibitor akan berinteraksi dengan situs aktif enzim sehingga menghambat ikatan enzim dengan substrat dan mengganggu fungsi katalitiknya. Inhibitor enzim dapat diklasifikasikan berdasarkan stabilitas penghambatannya menjadi dua jenis, yaitu inhibitor *reversible* dan inhibitor *irreversible* (Sumardjo, 2008).

Proses pengujian penghambatan enzim α -amilase secara *in vitro* dilakukan dengan mengamati penurunan konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis pati terlarut oleh enzim α -amilase dalam keberadaan senyawa inhibitor. Pati yang terlarut nantinya akan dihidrolisis oleh enzim α -amilase menjadi gula reduksi oligosakarida pendek melalui pemutusan ikatan α -1,4 glikosida. Enzim α -amilase memutus ikatan pati secara acak dari dalam molekul, bukan pada ujung terminal, menghasilkan oligosakarida pendek seperti maltotriosa, maltosa dan amilosa (Ompusunggu dkk., 2013). Senyawa inhibitor tertentu mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase sehingga substrat tidak dapat berinteraksi dengan enzim, akibatnya produksi gula pereduksi terhambat, mekanisme penghambatan enzim α -amilase dapat dilihat pada Gambar 6. Penurunan intensitas warna yang terbentuk akibat kurangnya gula pereduksi menyebabkan absorbansi pada panjang gelombang maksimum juga menurun. Semakin rendah absorbansi, semakin besar

persentase penghambatannya, menunjukkan potensi senyawa sebagai inhibitor α -amilase semakin baik (Nugraha dan Hasanah, 2018).



Gambar 6. Mekanisme penghambatan enzim α -amilase (Sani *et al.*, 2021)

Kemampuan penghambatan enzim ini diterapkan dalam pengobatan DM tipe 2, enzim berperan mengurangi glukosa darah postprandial dengan menghambat penyerapan glukosa (Ishnava and Motisariya, 2018). Akarbosa dan miglitol diklasifikasikan sebagai inhibitor yang dapat menghambat enzim α -amilase (Dipiro *et al.*, 2008).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Oktober 2022 hingga Desember 2023 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Botani, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong. Pengujian aktivitas antidiabetes menggunakan spektroskopi Ultraviolet Visible (UV-Vis) dilakukan di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Analisis spektroskopi resonansi magnetik inti (NMR) dilakukan di Laboratorium Karakterisasi Lanjut Kimia Maju II, BRIN Serpong.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1. Alat-alat yang digunakan

Penelitian ini menggunakan alat-alat berupa peralatan gelas laboratorium, peralatan destilasi, *rotary evaporator*, batang pengaduk, lampu UV, oven, neraca analitik, *micropipette*, satu set peralatan KCV, satu set peralatan KLT, satu set peralatan KK, spektrofotometer NMR, dan spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2. Bahan-bahan yang digunakan

Sampel penelitian ini menggunakan daun tanaman sungkai yang diperoleh bulan Juli 2022 dari Universitas Lampung. Pelarut yang digunakan untuk proses isolasi merupakan pelarut teknis yang telah melalui proses destilasi. Bahan-bahan yang

digunakan meliputi aseton (C_3H_6O), *n*-heksana ($n-C_6H_{14}$), etil asetat ($CH_3CO_2C_2H_5$), kloroform ($CHCl_3$), diklorometana (DCM), isopropil alkohol (IPA), metanol (CH_3OH), akuades (H_2O), serum sulfat 1,5% dalam asam sulfat (H_2SO_4) 2N, silika gel Merck G 60 untuk impregnasi, silika gel 60 GF254 (35-70 Mesh), kertas saring, plat KLT, dan senyawa β -sitosterol Sigma Aldrich 85451 (*repack* Nitra Kimia). Bahan yang digunakan dalam pengujian aktivitas antidiabetes antara lain *dimethylsulfoxide* ($(CH_3)_2SO$), enzim α -amilase tipe II A *Bacillus* sp. (Sigma Aldrich), obat tablet *acarbose* Dexa Medica tablet 50 mg, larutan pati, pereaksi *iodine*, HCl 1N, dan akuades.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Persiapan Sampel

Daun sungkai dideterminasi di Laboratorium Botani, BRIN Cibinong (Lampiran 4). Sampel yang digunakan berupa serbuk daun sungkai, dibersihkan menggunakan air untuk menghilangkan kotoran lalu dikeringkan melalui pengeringan alami tidak terkena cahaya matahari langsung selama beberapa hari lalu daun sungkai digiling untuk mendapatkan serbuk halus.

3.3.2. Ekstraksi dengan Pelarut

Sebanyak 1000 g serbuk halus daun sungkai dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 3 L selama 1×24 jam dengan 3 kali pengulangan. Ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring untuk diperoleh filtrat, lalu dipekatkan menggunakan rotary evaporator. Ekstrak pekat etil asetat yang dihasilkan kemudian ditimbang untuk diketahui beratnya.

3.3.3. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi optimal eluen dari hasil ekstraksi untuk setiap kelompok metabolit sekunder dilakukan melalui penggunaan KLT. Prosedur KLT juga melibatkan

pengujian terhadap fraksi-fraksi hasil fraksinasi serta fraksi yang terisolasi sebelumnya. Pengujian KLT menggunakan beragam sistem eluen, di antaranya campuran pelarut *n*-heksana, etil asetat, aseton, IPA, kloroform, dan DCM.

Pada plat KLT yang telah dielusi, terdapat spot yang dapat diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm untuk mengidentifikasi komponen senyawa. Hasil KLT tersebut kemudian ditampakkan spot komponen senyawanya dengan cara disemprot menggunakan larutan $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ (Harborne, 1996). Jarak tempuh tiap spot diukur dan nilai R_f dihitung untuk mengidentifikasi senyawanya, setelah dihitung nilai R_f , dapat dilakukan penggabungan terhadap fraksi-fraksi yang memiliki pola pemisahan dengan nilai R_f yang sama, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan difraksinasi lebih lanjut hingga diperoleh isolat murni (Kowalska, 2003).

3.3.4. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak pekat etil asetat diimpregnasikan ke dalam silika gel sebanyak dua kali berat ekstrak. Kolom KCV dikemas dengan menambahkan silika gel halus sebanyak 10 kali berat ekstrak. Pengemasan kolom dilakukan dengan metode kering menggunakan alat vakum hingga silika gel memadat, eluen dimasukkan secara berurutan berdasarkan tingkat kepolarannya, dimasukkan terlebih dahulu eluen dengan kepolaran lebih rendah ke permukaan silika gel melalui dinding kolom, diikuti dengan pemvakuman kembali. Kolom dihisap hingga kering menggunakan alat vakum dan siap digunakan. Ekstrak pekat yang telah diimpregnasikan dengan silika gel dimasukkan ke bagian atas permukaan silika gel, lalu dihisap menggunakan vakum. Kolom dielusi dengan eluen etil asetat dan *n*-heksana dalam berbagai perbandingan, mulai dari 0% etil asetat : 100% *n*-heksana sampai 100% etil asetat : 0% *n*-heksana. Setiap penambahan eluen, kolom dihisap hingga kering (Ghisalberti, 2008). Fraksi-fraksi yang terbentuk dikumpulkan dan dimonitor menggunakan metode KLT untuk mendeteksi noda dengan nilai R_f yang sama. Eluat dengan noda yang serupa digabungkan menjadi satu fraksi (Wati dkk., 2017).

3.3.5. Kromatografi Kolom (KK)

Fraksi hasil KCV yang telah dipilih akan dilakukan fraksinasi lebih lanjut menggunakan metode kromatografi kolom (KK). Metode ini menggunakan fasa diam berupa silika gel Merck (35-70 Mesh) digunakan sebagai adsorben (Church, 2005). Pengemasan kolom dilakukan dengan metode basah yaitu melarutkan silika gel dalam pelarut yang sesuai untuk proses elusi, kemudian diaduk hingga membentuk slurry. Slurry dimasukkan ke dalam kolom dan dipastikan tetap terelusi oleh eluen dan tidak kering. Silika gel diatur hingga terkemas rapat dan rata. Fraksi KCV yang telah diimpregnasi dengan silika gel dimasukkan ke dalam kolom pada permukaan fasa diam. Pada saat fraksi impregnasi dimasukkan, penting untuk memastikan kolom tetap lembab untuk menghindari gangguan pada fasa diam yang telah dikemas rapat, sehingga proses elusi tetap berjalan lancar (Indarto, 2005).

3.3.6. Analisis Kemurnian

Senyawa hasil isolasi dilakukan analisis kemurnian dengan metode KLT. Analisis kemurnian dilakukan menggunakan berbagai campuran eluen yang memiliki tingkat polaritas yang berbeda. Keberadaan senyawa ditunjukkan oleh munculnya satu spot yang diamati di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm, kemudian spot tersebut divisualisasikan komponen senyawanya dengan menyemprotkan larutan serum sulfat pada plat KLT.

3.3.7. Analisis Secara Spektroskopi

Identifikasi senyawa pada penelitian ini dilakukan dengan spektroskopi *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) berupa analisis ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Proses ini memungkinkan penentuan nama dan struktur kristal murni tersebut. Kristal murni hasil isolasi dilarutkan dalam pelarut CDCl_3 , kemudian ditambahkan senyawa referensi. Tabung gelas tipis dengan ketebalan 5 mm berisi larutan kristal murni

diletakkan di tengah-tengah kumparan frekuensi radio (*rf*) antara dua kutub magnet yang kuat. Spektrum NMR yang terekam berasal dari energi kumparan *rf* yang disalurkan secara berkelanjutan dan di serap oleh sampel (Silverstein *et al.*, 2005).

3.3.8. Uji Antidiabetes

Pengujian aktivitas α -amilase dilakukan terhadap senyawa hasil isolasi dan akarbosa sesuai dengan metode yang telah dimodifikasi dari metode Fuwa (1954). Secara singkat, sebanyak 0,003 gram sampel (dilarutkan dalam 1 mL larutan DMSO) untuk memperoleh konsentrasi 1000 ppm lalu divariasikan pada berbagai konsentrasi (500 dan 750), kemudian diambil sebanyak 0,25 mL dan masukkan dalam tabung reaksi, tambahkan 0,25 mL larutan enzim α -amilase, diinkubasi. Setelah diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25°C, reaksi dimulai dengan menambahkan 0,25 mL larutan pati 1% dan selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 0,25 mL HCl diikuti dengan 0,25 mL reagen *iodine* dan 4 mL H₂O. Hidrolisis pati akan terjadi bila terbentuk larutan kompleks berwarna kuning, sementara larutan akan berwarna biru jika tidak terjadi hidrolisis (Hossain *et al.*, 2009). Absorbansi diukur pada 600 nm dan persentase aktivitas penghambatan dihitung dengan menggunakan persamaan yang telah ditetapkan (Mwakalukwa *et al.*, 2020).

$$\% \text{ inhibisi} = \left[1 - \frac{(A2 - A1)}{(A4 - A3)} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

A1 = Nilai absorbansi dari larutan yang mengandung sampel, pati, dan enzim.

A2 = Nilai absorbansi dari larutan yang mengandung sampel dan pati.

A3 = Nilai absorbansi dari larutan yang mengandung pati dan enzim.

A4 = Nilai absorbansi dari larutan yang mengandung pati.

Nilai IC_{50} didapatkan setelah diperoleh hasil persentase dari masing-masing konsentrasi. Nilai IC_{50} merupakan nilai dari konsentrasi sampel yang dapat menghambat aktivitas enzim sebesar 50%. Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan menggunakan persamaan berikut :

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

Perhitungan nilai IC_{50} menggunakan regresi linier yaitu $y = bx + a$, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persen hambatan sebagai sumbu y.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pengujian aktivitas antidiabetes dari 9 fraksi KCV dengan metode penghambatan enzim α -amilase menunjukkan nilai inhibisi tertinggi pada FE4 yaitu sebesar $33,61 \pm 3,67\%$.
2. Penelitian ini telah berhasil diisolasi senyawa NV34 berupa kristal jarum berwarna putih sebanyak 5,7 mg yang diidentifikasi dengan ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR memiliki kemiripan dengan senyawa β -sitosterol golongan steroid, senyawa NV35 berupa padatan amorf berwarna hijau muda sebanyak 5 mg diidentifikasi sebagai senyawa golongan terpenoid, dan senyawa NV36 berupa kristal amorf berwarna kuning pucat sebanyak 4 mg yang merupakan senyawa golongan terpenoid.
3. Pengujian aktivitas antidiabetes dari senyawa β -sitosterol (NV34) dengan variasi konsentrasi yaitu 500, 750, dan 1000 ppm dengan nilai rata-rata % inhibisi secara berturut-urut sebesar $24,34 \pm 3,10$; $28,68 \pm 1,09$; dan $34,13 \pm 3,83\%$, sedangkan nilai rata-rata % inhibisi akarbosa secara berturut-urut sebesar $20,14 \pm 0,16$; $25,82 \pm 0,88$; dan $30,75 \pm 0,55\%$.
4. Nilai IC₅₀ dari senyawa β -sitosterol (NV34) dan akarbosa secara berturut-urut sebesar 1818,11 ppm dan 760,15 ppm menunjukkan aktivitas senyawa β -sitosterol (NV34) sebagai penghambat enzim α -amilase lebih rendah dibandingkan dengan akarbosa.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat saran untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Dalam melakukan uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* melalui penghambatan enzim α -amilase, perlu dilakukan dengan variasi konsentrasi yang berbeda, misalnya 1250, 1500, 1750, dan 2000 ppm.
2. Perlu dilakukan pemurnian dan analisis struktur lebih lanjut seperti analisis spektroskopi NMR 2D meliputi COSY, HSQC (HMQC), HMBC dan NOESY untuk mengetahui secara tepat struktur dari NV35 dan NV36.
3. Dalam melakukan uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* melalui penghambatan enzim, perlu dilakukan dengan enzim yang berbeda, misalnya α -glukosidase.
4. Dalam melakukan uji aktivitas antidiabetes menggunakan kontrol positif akarbosa, gunakan senyawa yang murni bukan berupa obat tablet. Jika menggunakan tablet, hitung terlebih dahulu berat tablet sebenarnya untuk mengetahui berapa berat yang harus ditimbang agar konsentrasi yang digunakan sesuai.

DAFTAR PUSTAKA

- Atun, S. 2010. Pemanfaatan Bahan Alam Bumi Indonesia Menuju Riset Yang Berkualitas Internasional. *Seminar Nasional Kimia*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Cairns, D. 2008. *Essentials of Pharmaceutical Chemistry, 3rd Edition*. Pharmaceutical Press. London.
- Cantino, P. D., Harley, R. M., and Wagstaff, S. J. 1992. *Genera of Labiatae: Status and Classification*. Royal Botanic Gardens. Kew.
- Cardoso, P. H., O'Leary, N., Olmstead, R. G., Moroni, P., and Thode, V. A. 2021. An update of the *Verbenaceae* genera and species numbers. *PlacEvo*. 154(1). 80–86.
- Cayme, J-M. C. and Ragasa, C. Y. 2004. Structure elucidation of Stigmasterol and β -sitosterol from *Sesbania grandiflora* Linn pers. and β -carotene from *Heliotropium indicum* Linn. by NMR spectroscopy, *KIMIKA*. 20(1). 5–12.
- Church, W. H. 2005. Column Chromatography Analysis of Brain Tissue: An advanced laboratory exercise for neuroscience majors. *JUNE*. 3(2). 36–41.
- Darwati, Nurlelasari, dan Mayanti, T. 2019. Isolasi senyawa steroid dari akar tumbuhan asam kandis (*Garcinia cowa* Roxb. ex DC) sebagai penurun demam. *JPHH*. 37(1). 51–58.
- Dasrinal, E. 2022. *Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Sungkai (Peronema canescens Jack) dan Uji Aktivitas Imunomodulator*. Universitas Jambi. Jambi.
- Departemen Kehutanan. 2006. *Manual Seleksi Pohon Plus*. Balai Perbenihan Tanaman Hutan Jawa dan Madura. Sumedang.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matazke, G. R., Wells, B. G., and Posey, M. L. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach. 7th Edition*. The McGraw-Hill Companies, Inc. Washington, D. C.

- Ekor, M. 2014. The growing use of herbal medicines: Issues Relating to Adverse Reactions and Challenges in Monitoring Safety. *Front Neurol.* 4. 1–10.
- El-Barky, A. R., Ali, E., and Mohamed, T. M. 2017. Marine sea cucumber saponins and diabetes. *Austin Pancreatic Disord.* 1(1). 1–7.
- Fadlila, R. N. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat dari Kulit Batang Nangka (*Artocarpus heterophylla* Lamk.). *Skripsi*. Universitas Islam Negri Alaudin.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes melitus tipe 2. *J Majority.* 4(5). 93–101.
- Fuwa, H. 1954. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of amylase as the substrate. *J. Biochem.* 41(5). 583–603.
- Gan, Q., Wang, J., Hu, J., Lou, G., Xiong, H., Peng, C., Zheng, S., and Huang, Q. 2020. The role of diosgenin in diabetes and diabetic complications. *J. Steroid Biochem Mol Biol.* 198. 1–11.
- Gaspersz, N., Fransina, G. E., dan Ngarbingan R. A. 2022. Uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase dan glukamilase dari ekstrak etanol daun kirinyuh (*Chromolaena odorata* L.). *JKM.* 19(2). 51–57.
- Ghisalberti, E. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products*. In *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination, 2nd Edition* (S. M. Colegate and R. J. Molyneux, Eds.). Taylor and Francis. USA.
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Gultom, R. 2019. Isolasi senyawa steroid β -sitostenon dari ekstrak metanol tanaman daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour) DC. *JIFI.* 3(1). 1–6.
- Gunawan, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi. Edisi kelima*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Halimu, R. B., S. Sulistijowati, R., and Mile, L. 2017. Identifikasi kandungan tanin pada *Sonneratia alba*. *JIPK.* 5(4). 93–97.
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia. Ed I. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.

- Harborne, J. B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hardoko, Febriani, A., dan Siratantri, T. 2015. Aktivitas antidiabet secara invitro agar-agar, agarosa, dan agaropektin dari rumput laut *Gracilaria gigas*. *JPHPI*. 18(2). 128–139.
- Hendayana, S. 2006. Kimia Pemisahan: Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern. *Majalah Ilmu Kefarmasian* (Issue 3). Remaja Rosdakarya. Bandung.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., and Seberg, O. 2007. *Flowering Plant Families of the World*. Royal Botanic Gardens. Kew.
- Hossain, S., El-Sayed, M., and Aoshima, H. 2009. Antioxidative and anti- α -amylase activities of four wild plants consumed by pastoral nomads in egypt. *OPEM*. 9(3). 217–224.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., and Marston, A. 1986. *Preparative Chromatography Techniques: Applications in Natural Product Isolation. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Hostettmann, K., Hostettmann, M., and Marston, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Ibrahim, A. dan Kuncoro, H. 2012. Identifikasi metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak daun sungkai (*Peronema Canescens* Jack.) terhadap beberapa bakteri patogen. *J. Trop. Pharm. Chem.* 2(1). 8–18.
- Indarto. 2005. Isolasi dan identifikasi senyawa fenolik dari kulit akar tumbuhan *Artocarpus dadah* Miq. *JIPF Al-BiRuNi*. 4(2). 205–217.
- International Diabetes Federation. 2021. *IDF Diabetes Atlas 10th Edition*. International Diabetes Federation. Lisbon.
- Ishnava, K. and Motisariya, D. 2018. In-vitro study on α -amilase inhibitory activity of selected ethnobotanical plant extracts and its herbal formulations. *IPCM*. 2(3). 1–11.
- Januarti, R., Santoni, A., and Efdi, M. 2019. Isolation of flavonoid compound and antioxidant activity of *Salix tetrasperma* Roxb. leaves. *Indones. J. Fundam. Appl. Chem.* 4(2). 2019. 42–46.

- Kanu, A. N., Ezeocha, C. V., and Ogunka, N. P. 2018. A review on bioactive compounds of yam varieties for human disease management. *AFSJ*. 1(4). 1–10.
- Kasal, A., Budesinsky, M., and Griffiths, W. J. 2010. Spectroscopic methods of steroid analysis. *Steroid Analysis*. 27–161.
- Kementerian Kesehatan RI. 2020. *Infodatin Diabetes Melitus*. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Jakarta.
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., dan Hardjono, S. 2018. Uji *in silico* aktivitas sitotoksik dan toksisitas senyawa turunan *n*-(benzoil)-*n*'-feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *JPSCR*. 3(1). 1–11.
- Kitagawa, I., Simanjuntak, P., Hori, K., Nagami, N., Mahmud, T., Shibuya, H., and Kobayashi, M. 1994. Indonesian Medicinal Plants. VII. Seven new clerodane-type diterpenoids, peronemins A2, A3, B1, B2, B3, C1, and D1 from the leaves of *Peronema canescens* (*Verbenaceae*). *Chem. Pharm. Bull.* 42(5). 1050–1055.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press. Surabaya.
- 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. *JFG*. 2(1). 8–14.
- Kowalska, T. 2003. *Encyclopedia of Chromatography*. Marcell Dekker Inc. New York.
- 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. *PCPR*. 6(2). 64–74.
- Martawijaya, A., Kartasujana, I., Kadir, K., dan Prawira, S. A. 2005. *Atlas Kayu Indonesia Jilid I*. Departemen Kehutanan Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan Bogor. Bogor.
- Michelle De Sales, P., Monteiro De Souza, P., Simeoni, A., De, P., Magalhães, O., and Silveira, D. 2012. α -Amylase inhibitors: a review of raw material and isolated compounds from plant source. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 15(1). 141–183.
- Mulyani, Y., Bachtiar, E., dan Agung, M. U. K. 2013. Peranan senyawa metabolit sekunder tumbuhan mangrove terhadap infeksi bakteri *Aeromonas hydrophila* pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L.). *JAKI*. 4(1). 1–9.

- Mustarichie. 2011. *Metode Penelitian Tanaman Obat*. Widya Padjajaran. Bandung.
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., and Shimizu, K. 2020. Postprandial hyperglycemia lowering effect of the isolated compounds from Olive mill wastes – an inhibitory activity and kinetics studies on α -glucosidase and α -amylase enzymes. *ACS Omega*. 5(32). 20070–20079.
- Nugraha, M. R., Hasanah, A. N. 2018. Metode pengujian aktivitas antidiabetes. *Farmaka*. 16(3). 28–34.
- Noviany, N., Osman, H., Chong, W.K., Awang, K., and Manshoor, N. 2012. Isolation and characterisation of 1,1'-binaphthalene-2,2'-diol, a new biaryl natural product from *Sesbania grandiflora* root. *J. Basic & Appl. Sci.* 8. 253–256.
- Noviany, N., Samadi, A., Yuliyani, N., Hadi, S., Aziz, M., Purwitasari, N., Mohamad, S., Ismail, N. N., Gable, K. P., and Mahmud T. 2020. Structure characterization and biological activity of 2-arylbenzofurans from an indonesian plant, *Sesbania grandiflora* (L.) Pers. *Phytochem Lett.* 35. 211–215.
- Noviany, N., Samadi, A., Carpenter, E. L., Abugrain, M. E., Hadi, S., Purwitasari, N., Indra, G., Indra, A., and Mahmud, T. 2021. Structural revision of *Sesbagrandiflorins* A and B, and synthesis and biological evaluation of 6-methoxy- 2-arylbenzofuran derivatives. *J Nat. Med.*, 75(1), 66–75.
- Ogunyemi, O. M., Gyebi, G. A., Saheed, A., Paul, J., Chidozie, V. N., Olorundare, O., Adebayo, J., Koketsu, M., Aljarba, N., Alkahtani, S., Batiha, G. E., Olaiya, C. O. 2022. Inhibition mechanism of alpha-amylase, a diabetes target, by a steroidal pregnane and pregnane glycosides derived from *Gongronema latifolium* Benth. *Front. Mol. Biosci.* 9(866719). 1–19.
- Ompusunggu, H. E. S., Juwita, dan Silaban, R. 2013. Kajian biomedik enzim amilase dan pemanfaatannya dalam industri. *Jurnal Pendidikan Kimia*. 5(3). 182–191.
- Pakpahan, N. A. P. 2021. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antikolesterol Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi n-Heksana Daun Sungkai (Peronema canescens Jack)*. Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Plantamor. 2008. *Plantamor Situs Dunia Tumbuhan, Informasi Spesies Peronema canescens*. <http://plantamor.com/species/info/peronema/canescens>. Diakses pada 20 Juli 2022.
- Pujiastuti, E. dan Amilia, D. 2018. Efektivitas ekstrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih galur wistar yang diinduksi aloksan. *CJP*. 2(1). 16–21.

- Pujiyanto, S., Wijanarka, W., Raharjo, B., dan Anggraeni, V. 2019. Aktivitas inhibitor α -amilase ekstrak etanol tanaman brotowali (*Tinospora crispa* L.). *Bioma*. 21(2) 91–99.
- Putri, N. H. K. dan Isfandiari, M. A. 2013. Hubungan empat pilar pengendalian dm tipe 2 dengan rerata kadar gula darah. *JBE*. 1(2). 234–243.
- Rathinavelusamy, P., Mazumder, P. M., Sasmal, D., and Jayaprakash, V. 2014. Evaluation of *in silico*, *in vitro* α -amylase inhibition potential and antidiabetic activity of *Pterospermum acerifolium* bark. *Pharm Biol*. 52(2). 199–207.
- Rubiyanto, D. 2013. *Teknik Dasar Kromatografi*. Deepublish. Yogyakarta.
- Safitri, W. 2022. *Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Sungkai (Peronema canescens Jack) dan Uji Aktivitas Immunomodulator*. Universitas Jambi. Jambi.
- Sani, D. H., Munna, A. N., Alam, M. J., Salim, M., and Alam, M. J. 2021. Evaluation of α -amylase inhibition and cytotoxic activities of the *Arachis hypogaea* and *Cinnamomum tamala* Curr. *Nutr. Food. Sci*. 17(3):328–336.
- Santoni, A., Pratama, I., dan Afrizal. 2020. Penentuan kandungan metabolit sekunder, uji aktivitas antibakteri dan sitotoksik ekstrak daun sungkai (*Peronema canescens* Jack). *J. Kim. Unand*. 9(4). 21–34.
- Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Liberty. Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H. 2013. *Dasar-dasar Spektroskopi*. UGM Press. Yogyakarta.
- Saxena, G. and Kalra, S. S. 2011. Antimicrobial activity pattern of certain terpenoids. *Int. J. Pharma Bio Sci*. 2(1). 87–91.
- Shah S. B., Sartaj L., Ali F., Shah I. S., and Khan T. M. 2018. Plant extracts are the potential inhibitors of α -amylase: a review. *MOJ Bioequiv Availab*. 5(5). 270–273.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., and Kiemle, D. J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds 7th ed*. John Wiley and Sons. Hoboken.
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M., and Rose, D. R. 2010. Structural basis for substrate selectivity in human maltase-glucoamylase and sucrase-isomaltase *n*-terminal domains. *J. Biol. Chem*. 285(23). 17763–17770.

- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Su, Chun-Han, Hsu, C. H., and Ng, L. T. 2013. Inhibitory potential of fatty acids on key enzymes related to type 2 diabetes. *Biofactors*. 39(4). 415–421.
- Sudjadi. 1983. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Ghalia Indonesia. Jakarta.
- Sumardjo, D. 2008. Pengantar Kimia. In *Pharmaciana* (Issue 1). EGC. Jakarta.
- Surya, S., Salam, A. D., Tomy, D. V., Carla, B., Kumar, R. A., and Sunil, C. 2014. Diabetes mellitus and medical plants-a review. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4(5), 337–347.
- Suwandi, J. Fatriyadi, Wijayanti, M. A., and Mustofa, M. 2018. *In vitro* antiplasmodial and cytotoxic activities of a sungkai (*Peronema canescens*) leaf extract. *Int. J. of Pharm. Pharm. Sci.* 10(10). 109–113.
- Tetti, M. 2014. Ekstraksi, Pemisahan senyawa, dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2). 361–367.
- Thomas. 1989. *Tanaman Obat Tradisional 1*. Kanisius. Yogyakarta.
- Treml, J., and Šmejkal, K. 2016. Flavonoids as potent scavengers of hydroxyl radicals. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15(4). 720–738.
- Wati, M., Erwin, dan Tarigan, D. 2017. Isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi etil asetat pada daun berwarna merah pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). *JKM*. 14(2). 100–106.
- Williamson, G. 2013. Possible effects of dietary polyphenols on sugar absorption and digestion. *Mol Nutr Food Res.* 57(1). 48–57.
- Yani, A. P. 2013. Kearifan lokal penggunaan tumbuhan obat oleh suku lembak delapan di kabupaten bengkulu tengah, bengkulu. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*. 71–74.