

**SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES KOMPLEKS
Mn(II) DENGAN LIGAN ISOLEUSIN TERHADAP MENCIT JANTAN
(*Mus musculus* L.)**

(Skripsi)

Oleh

**PUTRI ILDA DAMAYANTI
NPM 2117011030**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES KOMPLEKS Mn(II) DENGAN LIGAN ISOLEUSIN TERHADAP MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)

Oleh

PUTRI ILDA DAMAYANTI

Penyakit diabetes melitus (DM) ditandai oleh hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin dan resistensi insulin dalam tubuh. Pengobatan DM dengan metode *metallotherapy* menggunakan logam kompleks Mangan(II) yang diketahui memiliki kemampuan sebagai antidiabetes, terutama jika disintesis dengan asam amino isoleusin membentuk senyawa kompleks. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin, serta menguji bioaktivitasnya terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit jantan.

Sintesis senyawa kompleks dilakukan dengan metode refluks pada suhu 60°C dengan variasi waktu 1, 2, 3, dan 4 jam serta pH 4, 5, 6, dan 7, kemudian dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin diperoleh padatan berwarna putih kekuningan dengan rendemen 96,39%.

Hasil karakterisasi UV-Vis menunjukkan serapan panjang gelombang Mn(II)-isoleusin pada 229 dan 280 nm. Spektrum FTIR menunjukkan serapan Mn-O dan Mn-N pada 440,47 dan 534,39 cm^{-1} .

Dosis efektif Mn(II)-isoleusin adalah 200 $\mu\text{g/Kg}$ berat badan dengan persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar 64,78%. Data kadar glukosa darah dianalisis menggunakan ANOVA satu arah dan dilanjutkan dengan uji BNT taraf 5% diperoleh hasil yang signifikan $p < 0,05$ pada penurunan kadar glukosa darah mencit jantan. Hasil analisis farmakokinetik menunjukkan senyawa memiliki potensi sebagai kandidat obat antidiabetes.

Kata Kunci: Diabetes Mellitus, mangan, isoleusin, farmakokinetik

ABSTRACT

SYNTHESIS AND BIOACTIVITY TEST OF ANTIDIABETIC COMPLEX OF Mn(II) WITH ISOLEUCINE LIGANDS ON MALE MICE (*Mus musculus* L.)

By

PUTRI ILDA DAMAYANTI

Diabetes mellitus (DM) is characterized by hyperglycemia due to abnormalities in insulin secretion and insulin resistance in the body. Treatment of DM with the metallothrapy method uses the Manganese(II) complex metal which is known to have antidiabetic properties, especially when synthesized with the amino acids isoleucine to form a complex compound. This study aims to obtain the complex compounds Mn(II)-isoleucine, and to test their bioactivity in reducing blood glucose levels in male mice. The synthesis of the complex compound was carried out using the reflux method at a temperature of 60°C with time variations of 1, 2, 3, and 4 hours and pH 4, 5, 6, and 7, then characterized by UV-Vis and FTIR spectrophotometers. The complex compounds Mn(II)-isoleucine were obtained as yellowish-white solids with a yield of 96.39%. The results of UV-Vis characterization showed the wavelength absorption of Mn(II)-isoleucine at 229 and 280 nm. The FTIR spectrum showed the absorption of Mn-O and Mn-N at 440.47 and 534.39 cm^{-1} . The effective dose of Mn(II)-isoleucine was 200 $\mu\text{g/Kg}$ body weight with a percentage decrease in blood glucose levels of 64.78%, respectively. Blood glucose level data were analyzed using one-way ANOVA and continued with the 5% BNT test obtained significant results $p < 0.05$ in reducing blood glucose levels in male mice. The results of the pharmacokinetic analysis showed that both compounds have potential as antidiabetic drug candidates.

Keywords: Diabetes Mellitus, manganese, isoleucine, pharmacokinetics

**SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES KOMPLEKS
Mn(II) DENGAN LIGAN ISOLEUSIN TERHADAP MENCIT JANTAN
(*Mus musculus* L.)**

Oleh

PUTRI ILDA DAMAYANTI

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
2025**

Judul : **SINTESIS DAN UJI BIOAKTIVITAS
ANTIDIABETES KOMPLEKS Mn(II) DENGAN
LIGAN ISOLEUSIN DAN VALIN TERHADAP
MENCIT JANTAN (*Mus musculus* L.)**

Nama : **Putri Ida Damayanti**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2117011030**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


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


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

2. Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerja Sama FMIPA


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

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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

.....

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

.....

Penguji

Bukan Pembimbing : **Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**

.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **20 Juni 2025**

**LEMBAR PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Ilda Damayanti
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011030
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Sintesis dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes Kompleks Mn(II) dengan Ligan Isoleusin dan Valin terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus* L.)”** adalah benar karya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Bandar Lampung, 20 Juni 2025

Yang menyatakan,



Putri Ilda Damayanti

NPM. 2117011030

RIWAYAT HIDUP



Penulis memiliki nama lengkap Putri Ilda Damayanti, lahir di Gedong Tataan pada tanggal 18 Mei 2003. Penulis adalah anak kedua dari Bapak Bambang dan Ibu Eka, penulis memiliki satu orang kakak bernama Indah, saat ini, penulis bertempat tinggal Kabupaten Pesawaran, Lampung. Penulis memulai pendidikan formalnya di jenjang Sekolah Dasar pada tahun 2009-2015 di SDN 3 Bagelen, kemudian melanjutkan ke jenjang Sekolah Menengah Pertama di SMPN 26 Pesawaran pada tahun 2015-2018 dan menamatkan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Gedong Tataan pada tahun 2021. Pada tahun yang sama, penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Jurusan Kimia, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan kuliah, penulis aktif dalam berbagai kegiatan organisasi kemahasiswaan, seperti Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) sebagai anggota biro kesekretariatan pada tahun 2022, kemudian Rohani Islam FMIPA sebagai anggota Biro Kesekretariatan dan Rumah Tangga pada tahun 2022-2023, serta pernah menjadi anggota Staff Bidang 2 Dewan Perwakilan Mahasiswa (DPM) FMIPA. Penulis juga mengikuti kegiatan program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) Magang Industri di Dinas Lingkungan Hidup Kota Metro pada bulan September-Desember tahun 2023, sekaligus menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL). Pada bulan Juli-Agustus 2024 penulis telah melaksanakan kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di desa Braja Indah, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur, Lampung.

PERSEMBAHAN



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

Puji dan syukur atas kehadiran Allah Subhanahu wata'ala, karena dengan segala karunia dan nikmat dari-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan karya tulis ini. Karya tulis ini saya persembahkan kepada:

Kedua orang tua, kakak, serta keluarga yang menjadi alasan saya menyelesaikan tulisan karya tulis ini serta perkuliahan secara keseluruhan.

Ibu Dr. Yuli Ambarwati, M.Si., dan Bapak Syaiful Bahri, M.Si., sebagai pembimbing yang memberikan banyak nasihat selama penelitian.

Rekan-rekan perkuliahan yang telah banyak mendukung selama masa kehidupan kampus. Semoga kita tetap dapat menjalin silaturahmi.

Dosen-dosen Kimia FMIPA Universitas Lampung

Serta

Almamater Tercinta, Universitas Lampung

MOTTO

مَنْ أَرَادَ الدُّنْيَا فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ، وَمَنْ أَرَادَ الْآخِرَةَ فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ، وَمَنْ أَرَادَهُمَا فَعَلَيْهِ بِالْعِلْمِ

“Barangsiapa yang hendak menginginkan dunia, maka hendaklah ia menguasai ilmu. Barangsiapa menginginkan akhirat hendaklah ia menguasai ilmu, dan barangsiapa yang menginginkan keduanya (dunia dan akhirat) hendaklah ia menguasai ilmu.”

~ HR Ahmad ~

وَنُرِيدُ أَنْ نَمُنَّ عَلَى الَّذِينَ اسْتُضِعُوا فِي الْأَرْضِ وَنَجْعَلَهُمْ أَئِمَّةً وَنَجْعَلَهُمُ الْوَارِثِينَ

“Sesungguhnya Allah berkehendak mengangkat derajat orang-orang yang selama ini direndahkan, dan menjadikan mereka pemimpin serta pewaris bumi. Maka biarlah hinaan manusia menjadi jalan untuk meraih kemuliaan dari-Nya.”

~ QS. Al-Qasas: 5 ~

فَإِذَا فَرَغْتَ فَانصَبْ ۖ وَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain)”

~ QS. Al-Insyirah: 6-7 ~

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, puji syukur penulis haturkan atas kehadiran Allah subhanahuwata'ala atas segala rahmat, karunia, dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi yang berjudul "**Sintesis dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes Kompleks Mn(II) dengan Ligan Isoleusin terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus* L.)**" merupakan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) di Universitas Lampung.

Penulis menyadari skripsi ini dapat tersusun dan diselesaikan dengan adanya doa, bantuan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih yang tulus kepada:

1. Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
2. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu memberikan nasihat dan motivasi baik berkaitan dalam hal akademik maupun non akademik selama masa perkuliahan.
4. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku Pembimbing Pertama sekaligus pembimbing utama dalam penyusunan skripsi ini yang telah sabar memberikan setiap arahan, nasihat, kritik membangun, serta semangat. Bimbingan Ibu tidak hanya mengarahkan saya dalam menyelesaikan karya ilmiah ini, tetapi juga menjadi bekal berharga dalam perjalanan hidup dan akademik saya.

5. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua yang telah meluangkan waktu dalam memotivasi, memberikan nasihat, kritik, dan saran berharga kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Prof. Andi Setiawan, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas, terima kasih banyak atas kritik, masukan, dan nasihat sebagai perbaikan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Bapak dan Ibu Dosen, Tenaga Kependidikan, dan Karyawan Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas segala ilmu, pengalaman, motivasi, dan bantuan lainnya yang telah diberikan kepada penulis selama masa perkuliahan atau yang lainnya.
8. Ayah dan Mamah yang dengan tulus dan tanpa lelah selalu mendoakan, mendampingi, serta menjadi sumber kekuatan. Tanpa restu, doa, dan kasih sayang kalian, mungkin penulis takkan pernah sampai ke titik ini. Skripsi ini kupersembahkan sebagai wujud kecil dari rasa hormat dan terima kasihku yang tak terhingga. Semoga Ayah dan Mamah diberikan kesehatan dan keberkahan oleh Allah SWT.
9. Indah Novita Sari, S.Si., selaku kakak dan sahabat penulis yang senantiasa memberikan banyak nasihat dan dukungan yang menguatkan penulis ketika hampir menyerah.
10. Pemilik NIM 41502078, terima kasih atas setiap doa yang tak pernah putus, dan kasih sayang yang terus diberikan. Kehadiranmu bukan hanya menjadi teman berbagi cerita, tapi juga sumber kekuatan dan ketenangan yang senantiasa menemani proses panjang ini. Semoga segala kebaikanmu dibalas Allah SWT dengan cinta dan keberkahan yang tak pernah habis.
11. Putu Devi Prastya Sari, Wahyuni Eka Putri, Dina Elviana dan Amalia Triananda, selaku sahabat penelitian penulis yang memberikan banyak bantuan, kebersamaan, dan semangat sepanjang perjalanan ini. Dukungan kalian memudahkan langkah penulis dalam menyelesaikan penelitian ini, semoga kebersamaan kita menjadi kisah indah yang kelak kita kenang di masa depan.

12. Siti Soliha, Mutiara Indah, Destiani Puspita, dan Bella Amelia, selaku sahabat masa putih abu-abu penulis yang hingga kini memberikan semangat, motivasi, serta dukungan kepada penulis.
13. Suci, Iwan, Nella, dan Hasma, selaku sahabat baik selama masa perkuliahan yang banyak memberikan dukungan dan semangat kepada penulis.
14. Kakak-kakak (Dr.Yuli's Research 20) terimakasih atas segala bantuan, motivasi, dan semangatnya dalam penelitian dan penyusunan skripsi.
15. Adik-adik bimbingan (Dr.Yuli's Research 22) terima kasih atas dukungan dan semangatnya yang diberikan kepada penulis. Semoga dimudahkan dalam penelitian dan perkuliahannya.
16. Kak Lisa, Kak Erik, dan Kak Stephanie terima kasih atas segala bantuan dan arahannya yang diberikan selama masa perkuliahan.
17. Teman-teman kimia angkatan 21 yang memberikan banyak bantuan selama perkuliahan. Semoga kita bisa berjumpa kembali di hal yang lebih baik dari hari ini.

Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih terdapat kekurangan, kesalahan, dan kekeliruan. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi penulis dan pembaca.

Bandar Lampung, 20 Juni 2025
Penulis,

Putri Ilda Damayanti
NPM. 2117011030

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR	3
I. PENDAHULUAN	3
1.1. Latar Belakang	3
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Diabetes Mellitus	5
2.2. <i>Metallotherapy</i>	6
2.3. Mangan (Mn).....	6
2.4. Isoleusin.....	7
2.5. Sintesis Senyawa Kompleks.....	8
2.6. Aloksan.....	9
2.7. Metformin.....	10
2.8. Karakterisasi Senyawa Kompleks	11
2.8.1. Spektrofotometer UV-Vis	11
2.8.2. Spektrofotometer IR.....	12
2.9. Mencit (<i>Mus musculus</i> L.).....	13
2.10. Penentuan Farmakokinetik Obat	14
2.11.1. <i>Lipinski Rule of Five</i>	15
2.11.2. <i>Swiss ADME</i> dan <i>Pre-ADMET</i>	16

2.11.3. Uji Toksisitas	16
III. METODE PERCOBAAN	17
3.1. Waktu dan Tempat	17
3.2. Alat dan Bahan	17
3.3.1. Sintesis Senyawa Kompleks	18
3.3.1. Karakterisasi Senyawa Kompleks	18
3.3.2. Uji Aktivitas Antidiabetes.....	19
3.3.4. Farmakokinetik Obat	23
3.3.5. Diagram Alir	23
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	25

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Daerah serapan senyawa kompleks Mn(II)-aspartat dan asam aspartat)	13
2. Rancangan Acak Lengkap	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Isoleusin	8
2. Reaksi pembentukan senyawa kompleks Mn(II)-aspartat	9
3. Struktur aloksan	10
4. Struktur metformin.....	10
5. Spektrum UV-Vis senyawa kompleks Mn(II)-aspartat, asam aspartat, dan MnCl ₂ .4H ₂ O	12
6. Mencit	14
7. Diagram alir penelitian.....	24

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan suatu kondisi saat gula darah puasa melebihi 125 mg/dl ditandai dengan gejala hiperglikemia (Goyal *and* Jialal, 2021). Penyakit diabetes mellitus mengalami peningkatan sejalan dengan meningkatnya jumlah populasi dan pola hidup sebagian besar masyarakat yang tidak teratur. Menurut data dari *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2021, jumlah penderita diabetes di seluruh dunia telah mencapai 537 juta orang dewasa. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 643 juta (1 dari 9 orang dewasa) pada tahun 2030 dan 784 juta (1 dari 8 orang dewasa) pada tahun 2045 (IDF, 2021).

Penyakit diabetes mellitus ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah sebagai akibat adanya gangguan sistem metabolisme dalam tubuh, sehingga organ pankreas tidak mampu memproduksi hormon insulin sesuai kebutuhan secara optimal (Maliangkay dkk., 2018). Insulin berfungsi untuk mengatur penggunaan glukosa, sehingga glukosa dapat diubah menjadi energi. Insulin yang tidak berfungsi dengan baik menyebabkan sel tubuh tidak dapat menyerap glukosa dan mengubahnya menjadi energi, sehingga pada tahap selanjutnya glukosa akan menumpuk di dalam darah (Adnyana dkk., 2016). Diabetes mellitus memiliki dua jenis utama dengan ciri-ciri yang berbeda yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2, sekitar 90% dari penyakit diabetes tersebut adalah diabetes mellitus tipe 2. Penderita diabetes mellitus tipe 2 sebagian besar diakibatkan karena tubuh menjadi kurang sensitif terhadap insulin, meskipun insulin diproduksi, sel-sel tubuh tidak meresponnya dengan baik menyebabkan

peningkatan gula darah (Unjiati dkk., 2015). Penderita diabetes mellitus tipe 2 dapat diobati dengan melakukan metode pengobatan seperti *metallotherapy*.

Metallotherapy adalah terapi pengobatan terbaru yang digunakan untuk mengobati berbagai penyakit, misalnya diabetes dengan menggunakan kompleks logam. Logam yang dapat berperan untuk pengobatan penyakit diabetes yaitu kobalt, mangan, kromium, molibdenum, tembaga, seng, wolfram dan vanadium (Maanvizhi *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Nadifa, (2022) dan Ambarwati *et al.*, (2021) mengungkapkan bahwa sintesis senyawa kompleks Cr(III) dan Cu(II) dengan ligan leusin dan aspartat menunjukkan penurunan kadar gula darah yang signifikan pada hewan percobaan (mencit) yang telah diinduksi dengan aloksan. Induksi aloksan menyebabkan kadar gula darah pada mencit menjadi meningkat, kemudian diberikan senyawa kompleks untuk menentukan berapa persen penurunan kadar gula darah yang terjadi. Sehingga pada penelitian ini digunakan menggunakan kompleks logam Mn dengan bilangan oksidasi 2^+ yang dapat berperan untuk pengobatan diabetes mellitus.

Kompleks Mn(II) dapat meningkatkan produksi insulin, meningkatkan toleransi glukosa di bawah kondisi stres gizi, dan mengurangi stres oksidatif (suatu kondisi yang terjadi karena adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh) (Bhatti *et al.*, 2022). Kekurangan mangan menyebabkan gangguan toleransi glukosa dan peningkatan risiko sindrom metabolik melalui gangguan metabolisme glukosa dan lipid, juga menyebabkan stres oksidatif mitokondria dengan meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS). Beberapa asam amino yang disintesis dengan logam membentuk kompleks dapat mempengaruhi dan mengurangi jalur patologis, seperti stres oksidatif, dan meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin (Park *et al.*, 2015). Penelitian Putri (2023), logam Mn(II) yang disintesis dengan asam amino glisin menunjukkan penurunan kadar gula darah pada mencit sebesar 73,7%, sedangkan penelitian yang telah dilakukan oleh Salsabila (2023) logam Mn(II) yang disintesis dengan asam amino aspartat menunjukkan penurunan kadar gula darah pada mencit sebesar 70,80%. Selain asam amino glisin dan aspartat, asam amino isoleusin juga mempunyai peran sebagai antidiabetes.

Isoleusin sebagai salah satu dari tiga asam amino rantai cabang (*branched-chain amino acids*, BCAAs), berperan penting regulasi kadar glukosa darah (Lu *et al.*, 2019). Menurut penelitian yang telah dilakukan Mounir *et al.*, (2020) isoleusin sebagai asam amino esensial dapat berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase, pemecahan karbohidrat yang terhambat akan mengurangi lonjakan kadar glukosa darah setelah makan (*postprandial glucose spike*), hal ini membantu mengontrol kadar gula darah pada penderita diabetes.

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa kompleks menggunakan logam Mn(II) dengan ligan asam amino isoleusin. Senyawa kompleks yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan instrumentasi spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer IR, uji bioaktivitas pada mencit jantan secara *in vivo* serta uji farmakokinetik menggunakan *Lipinski Rule of five*, *Swiss ADME* dan *pre-ADMET*, serta *protox*.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin dengan metode refluks.
2. Mengetahui karakteristik senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan IR.
3. Mendapatkan dosis efektif senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin dalam menurunkan kadar gula darah mencit jantan.
4. Mendapatkan potensi senyawa Mn(II)-isoleusin sebagai kandidat obat secara farmakokinetik.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi terkait sintesis dan karakteristik senyawa kompleks Mn(II) dengan isoleusin dan bioaktivitasnya pada mencit jantan.

2. Memberikan informasi senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin sebagai kandidat obat antidiabetes secara farmakokinetik.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus merupakan penyakit yang paling banyak menyebabkan terjadinya penyakit lain (komplikasi), hal ini berkaitan dengan kadar gula darah meningkat secara terus-menerus, sehingga berakibat rusaknya pembuluh darah, saraf dan struktur internal lainnya. Diabetes mellitus ditandai dengan hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Hiperglikemia kronis pada diabetes dikaitkan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kerusakan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (Ada, 2012).

Diabetes Mellitus (DM) dapat dibedakan atas DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 1 diakibatkan karena produksi insulin tidak ada atau sedikit, sehingga memerlukan suntik insulin dari luar tubuh untuk menurunkan kadar gula darah. DM tipe 2 menyebabkan tubuh tidak dapat menggunakan insulin dengan baik, sehingga kadar gula darah meningkat. Keadaan ini menyebabkan pankreas harus bekerja lebih keras untuk memproduksi lebih banyak insulin. Seiring waktu, produksi insulin bisa berkurang dan kontrol glukosa menjadi semakin buruk (Utomo dkk., 2020). Diabetes mellitus tipe 2 banyak diderita oleh orang berumur lebih dari 45 tahun, dan tidak sedikit orang yang lebih muda terdiagnosis dikarenakan meningkatnya tingkat obesitas, aktivitas fisik, dan diet padat energi (Goyal and Jialal, 2021).

Diagnosis DM dapat dilakukan dengan tiga cara, diantaranya jika adanya keluhan klasik seperti poliuri (banyak buang air kecil), polidipsi (banyak minum, sering merasa haus), polifagia (banyak makan), dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya, maka ketika pemeriksaan glukosa plasma >200 mg/dL sudah cukup untuk dinyatakan mengidap DM (Purwakanthi dkk., 2020). Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani (gaya hidup sehat). Terapi farmakologis terdiri dari obat oral dan bentuk suntikan. Pemilihan dan penentuan obat oral atau suntikan yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes (tingkat glikemia) serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada (Tahar dkk., 2020). Penyakit DM saat ini dapat diobati dengan melakukan berbagai terapi alternatif, salah satunya berupa *metallotherapy*.

2.2. *Metallotherapy*

Metallotherapy adalah terapi baru untuk pengobatan penyakit DM tipe 2 dengan kompleks logam (Pandeya, 2013). *Metallotherapy* memiliki mekanisme kerja yang bervariasi tergantung pada jenis logam maupun ligan yang digunakan. Kompleks logam dalam pengobatan *metallotherapy* dapat bekerja melalui beberapa cara, seperti meningkatkan kemampuan sel tubuh untuk merespon insulin, menghambat aktivitas enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan glukosa baru di hati, dan dapat berinteraksi dengan berbagai jalur pensinyalan sel yang terlibat dalam regulasi metabolisme glukosa. Logam yang dapat berperan untuk pengobatan penyakit diabetes yaitu kobalt, mangan, kromium, molibdenum, tembaga, seng, wolfram dan vanadium. Kompleks logam Mn berperan untuk pengobatan DM karena dapat meningkatkan produksi insulin dalam tubuh.

2.3. Mangan (Mn)

Mangan merupakan logam esensial yang dibutuhkan oleh tubuh untuk berbagai kepentingan. Tubuh manusia mengandung Mn sekitar 10 mg dan banyak ditemukan di liver, tulang, dan ginjal. Mn dapat membantu kinerja liver 2 dalam

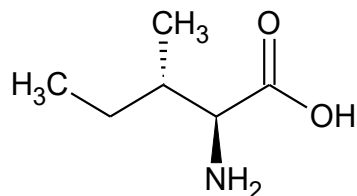
memproduksi urea, superoksida dismutase, karboksilase piruvat, dan enzim glikoneogenesis serta membantu kinerja otak bersama enzim glutamine sintetase. Defisiensi Mn menyebabkan sejumlah efek yang merugikan, seperti gangguan pertumbuhan, pembentukan tulang yang buruk dan cacat tulang, penurunan kesuburan dan cacat lahir, toleransi glukosa abnormal, dan metabolisme lipid dan karbohidrat yang berubah pada hewan dan manusia (Li and Yang, 2018). Mangan dapat menghambat penyerapan glukosa di usus dan meningkatkan efisiensi penggunaan glukosa oleh jaringan tubuh. Logam ini memiliki potensi sebagai antidiabetes melalui beberapa mekanisme, termasuk menghambat penyerapan glukosa dan meningkatkan efisiensi penggunaan glukosa oleh jaringan tubuh. Logam Mn diperlukan untuk sintesis dan sekresi insulin, sedangkan kekurangan logam Mn dapat menyebabkan metabolisme glukosa yang buruk (Nicoloff *et al.*, 2003). Logam Mn terlibat dalam perlindungan tubuh terhadap kadar radikal bebas berlebih dan meningkatkan sekresi insulin. Lee *et al.* (2013), melakukan sebuah penelitian pada hewan tikus bahwa kadar Mn pada tikus normal dapat ditingkatkan dengan menggunakan pengobatan logam Mn sehingga pengobatan ini dapat meningkatkan sekresi insulin pada saat tubuh kekurangan logam Mn. Logam Mn dalam banyak penelitian disintesis dengan berbagai asam amino esensial sebagai ligan yang digunakan untuk menurunkan kadar gula darah, antara lain isoleusin.

2.4. Isoleusin

Isoleusin merupakan asam amino yang terkenal karena kemampuannya meningkatkan ketahanan tubuh. Isoleusin juga berfungsi menyembuhkan serta memperbaiki jaringan otot dan mempercepat pembekuan darah pada tempat cedera. Kebutuhan tubuh akan isoleusin menurut FAO/WHO (1985) adalah 0,46%. Isoleusin juga memiliki potensi untuk membantu mengatasi diabetes mellitus.

Isoleusin dapat meningkatkan sensitivitas insulin pada sel-sel otot dan hati, sehingga memungkinkan penyerapan glukosa (gula darah) lebih efisien dan menurunkan kadar gula darah. Penelitian yang telah dilakukan oleh Zhang *et al.*,

(2014) menunjukkan bahwa Isoleusin meningkatkan sekresi insulin dan penyerapan glukosa dalam sel beta. Struktur isoleusin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Isoleusin

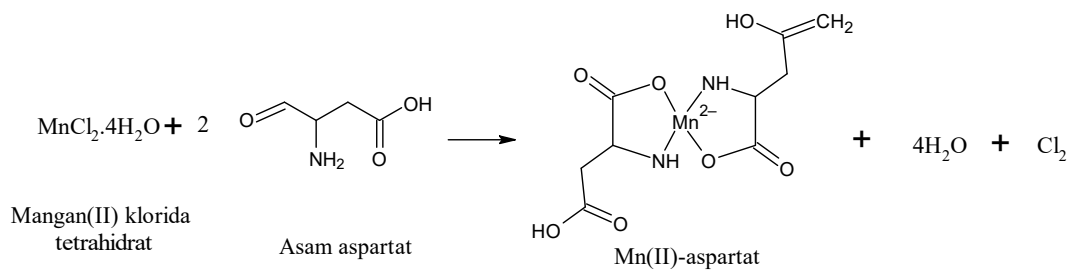
Menurut penelitian yang dilakukan oleh Takeshita *et al.* (2012), suplementasi isoleusin selama 12 minggu meningkatkan sensitivitas insulin dan kontrol glikemik pada pasien diabetes tipe 2. Isoleusin mengatur ekspresi gen metabolik kunci di pankreas β sel akan menjelaskan pencegahan dan pengobatan diabetes tipe 2. Isoleusin, memiliki peran dalam mengontrol sintesis protein dengan memodulasi inisiasi translasi di berbagai sel. Isoleusin diketahui secara akut merangsang sekresi insulin dari pankreas β sel.

2.5. Sintesis Senyawa Kompleks

Senyawa kompleks dibentuk karena adanya interaksi antara molekul atau ion bebas (diketahui sebagai ligan) yang berikatan dengan atom pusat menggunakan ikatan kovalen koordinasi. Sintesis senyawa kompleks dilakukan dengan cara mencampurkan larutan ion logam dengan ligan pada suhu tertentu menggunakan rasio molar logam terhadap ligan. Sebagai hasil dari sintesis kompleks, pola hibridisasi yang berbeda diperoleh tergantung pada jenis ligan yang digunakan untuk menghasilkan kompleks baru. Kompleks dapat disintesis pada temperatur ruang dengan pelarut tertentu yang dapat melarutkan ion logam dan ligan, baik pemanasan maupun tanpa pemanasan pada suhu tertentu (Salsabilla, 2023).

Penelitian Salsabilla, 2023 melaporkan senyawa kompleks Mn(II) dengan asam amino aspartat menggunakan ratio 1:2 molar (logam dan ligan) menghasilkan senyawa kompleks $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dengan endapan berwarna putih dan coklat.

Dalam sintesis tersebut kompleks Mn(II)-aspartat dengan pH 4 menghasilkan padatan berwarna putih, sedangkan kompleks Mn(II)-aspartat dengan pH 7 menghasilkan padatan berwarna coklat. Reaksi antara senyawa awal dengan ligan asam aspartat membentuk senyawa kompleks Mn(II)-aspartat ditunjukkan pada Gambar 2.

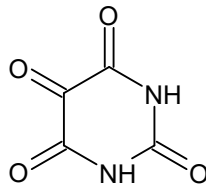


Gambar 2. Reaksi pembentukan senyawa kompleks Mn(II)-aspartat
(Sumber: Salsabila, 2023)

Pada penelitian ini kompleks Mn(II) akan disintesis dengan asam amino isoleusin membentuk senyawa kompleks. Senyawa kompleks yang terbentuk akan diuji terhadap hewan percobaan untuk mengetahui bioaktivitas dalam menurunkan kadar gula darah yang tinggi akibat diinduksi aloksan.

2.6. Aloksan

Aloksan merupakan senyawa kimia yang memiliki sifat diabetogenik dan bersifat toksik terutama pada sel beta pankreas dan jika diberikan pada hewan percobaan akan menyebabkan diabetes. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (Irdalisa dkk., 2015). Struktur aloksan dapat dilihat pada Gambar 3.

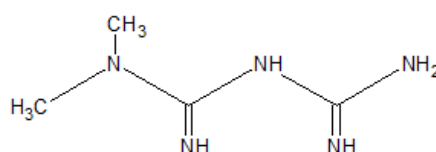


Gambar 3. Struktur aloksan

Mekanisme kerja aloksan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel beta pankreas. Kemampuan penyerapan zat dari aloksan oleh sel beta pankreas akan menentukan tingkat toksisitas dan juga sifat diabetogenik. Setelah terjadi penyerapan zat, sel beta pankreas akan mengalami kerusakan melalui beberapa proses yang secara bersamaan yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas (Pratama dkk, 2020). Aloksan sebagai diabetogenik dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan. Dosis aloksan secara intravena untuk hewan percobaan adalah 150 mg/KgBB (Irdalisa dkk., 2015). Peningkatan kadar gula darah dapat diturunkan dengan menggunakan suatu obat yang dapat mengurangi insulinitas pada diabetes yang diinduksi aloksan, misalnya metformin.

2.7. Metformin

Metformin merupakan obat golongan biguanida oral dari agen antihiperglikemik, obat penurun glukosa yang paling banyak digunakan untuk diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Metformin bekerja dengan mengurangi jumlah glukosa yang diproduksi oleh hati dan meningkatkan respons tubuh terhadap insulin, yang membantu tubuh mengatur kadar glukosa darah dengan lebih baik Struktur metformin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Struktur metformin

Metformin tidak menyebabkan hipoglikemia pada tubuh, sehingga menjadikan metformin sebagai terapi yang aman untuk DMT2. Metformin biasanya diresepkan sebagai pengobatan lini pertama untuk DMT2, bersamaan dengan perubahan gaya hidup seperti diet dan olahraga (Luo *et al.*, 2020). Kadar insulin dapat ditingkatkan juga dengan menggunakan suatu kompleks logam yang disintesis dengan ligan asam amino melalui metode refluks, kemudian dikarakterisasi menggunakan suatu spektrofotometer, seperti spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR.

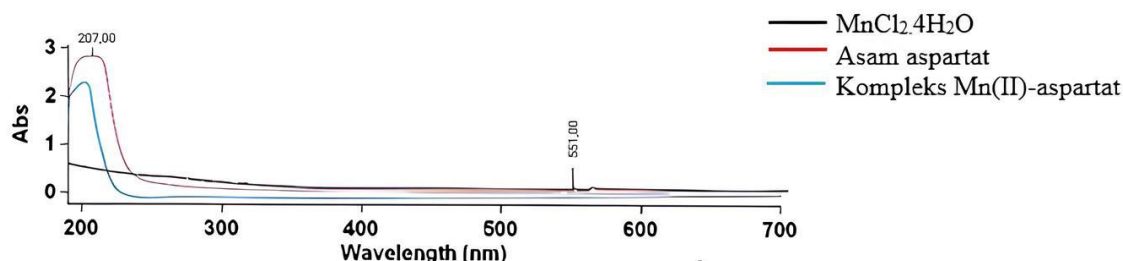
2.8. Karakterisasi Senyawa Kompleks

Karakterisasi suatu senyawa kompleks memiliki beberapa tujuan yakni untuk melihat pergeseran panjang gelombang senyawa kompleks, dan untuk melihat adanya serapan gugus fungsi pada masing-masing senyawa. Senyawa kompleks yang terbentuk dari suatu logam dan ligan pada penelitian ini dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR.

2.8.1. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrum UV-Vis adalah radiasi sinar ultraviolet dan sinar tampak yang memiliki panjang gelombang antara 180 dan 780 nanometer (nm). Spektroskopi UV-Vis digunakan untuk mengukur daya absorbansi suatu cairan terhadap panjang gelombang cahaya tertentu. Spektrum UV-Vis disebut juga spektrum elektron karena terjadi sebagai hasil interaksi antara sinar UV-Vis dengan molekul dan menyebabkan molekul mengalami transisi elektronik. Transisi ini biasanya terjadi antara orbital ikatan atau pasangan elektron bebas dan orbital anti ikatan, tetapi dapat juga terjadi karena adanya ikatan rangkap atau gugus konjugasi yang menyerap radiasi elektron dalam kisaran UV (Suhartati, 2017). Karakterisasi spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk melihat pergeseran panjang gelombang senyawa kompleks setelah direaksikan dengan suatu ligan (Martak dkk., 2018). Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Salsabila (2023), senyawa kompleks

$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dan kompleks Mn(II) -aspartat dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum UV-Vis senyawa kompleks Mn(II) -aspartat, asam aspartat, dan $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sumber: Salsabila, 2023)

Hasil spektrum UV-Vis senyawa kompleks Mn(II) -aspartat pada gambar diatas menunjukkan perbedaan dengan spektrum UV-Vis senyawa $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Senyawa kompleks $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ memiliki Panjang gelombang maksimal sebesar 567 nm sedangkan paka senyawa kompleks Mn(II) -aspartat memiliki 2 serapan Panjang gelombang yaitu 207 nm dan 551 nm. Serapan Panjang gelombang senyawa kompleks Mn(II) -aspartat mengalami pergeseran hipsokromik atau kearah panjang gelombang yang lebih rendah, hal ini karena ligan asam amino aspartate memiliki pasangan elektron bebas sehingga menyebabkan terjadinya transisi $n \rightarrow \pi^*$ pada gugus amida dan $\pi \rightarrow \pi^*$ pada gugus karboksil ($-\text{COO}$). Selain karakterisasi senyawa kompleks dengan spektrofotometer UV-Vis, digunakan juga spektrofotometer IR untuk melihat adanya suatu serapan gugus fungsi dalam senyawa kompleks.

2.8.2. Spektrofotometer IR

Spektroskopi inframerah pada dasarnya merupakan teknik spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu senyawa.

Spektrofotometer IR mengukur transisi antara tingkat energi getaran molekul sebagai akibat dari penyerapan radiasi inframerah-tengah. Interaksi antara cahaya dan materi ini adalah keadaan resonansi yang melibatkan transisi terpolarisasi secara elektrik antara tingkat energi vibrasi. Penelitian yang telah dilakukan oleh

Salsabila (2023), menunjukkan adanya gugus fungsi pada senyawa kompleks Mn(II)-aspartat seperti serapan -NH, -CH dan lainnya, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Daerah serapan senyawa kompleks Mn(II)-aspartat dan asam aspartat (Sumber: Salsabila, 2023)

No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
		Mn(II)-aspartat	Asam aspartat
1.	-C=O	1684	1598
2.	-C=N	1230	1082
3.	-C-O	1149	1148
4.	-N=H	3362	3324
5.	-C-H	1476	2760
6.	-O-H	-	3093
7.	-Mn-N	538,5	-

Tabel 1. menunjukkan pada senyawa kompleks Mn(II)-aspartat terdapat serapan (-NH) pada daerah 3362 cm⁻¹ yang umumnya membentuk serapan di daerah bilangan gelombang 3350-3310 cm⁻¹. Serapan (-CH) pada bilangan gelombang 1476 cm⁻¹, serapan (-C=O) di daerah 1684 cm⁻¹, serapan (-C-O) pada daerah 1149 cm⁻¹ dan serapan (-C-N) di daerah 1230 cm⁻¹ yang umumnya membentuk serapan di daerah 1200-1050 cm⁻¹ (Manikshete *et al.*, 2015). Senyawa kompleks yang telah dikarakterisasi selanjutnya dapat diinduksi kepada hewan percobaan seperti mencit jantan untuk dilakukan uji bioaktivitasnya.

2.9. Mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit (*Mus musculus* L.) seringkali digunakan dalam penelitian di laboratorium yang berkaitan dengan bidang fisiologi, farmakologi, toksikologi, patologi, histopatologi hingga psikiatri.



Gambar 6. Mencit

Menurut Rejeki dkk., (2018) mencit yang ditunjukkan dengan Gambar 6. dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

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

Mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, banyaknya jumlah anak per kelahiran, mudah ditangani, memiliki karakteristik reproduksinya mirip dengan hewan mamalia lain, struktur anatomi, fisiologi serta genetik. Lebih dari 90% gen manusia ditemukan dalam genom mencit dan sebagian besar fungsi dari gen tersebut sangat mirip di kedua spesies (Mutiarahmi dkk., 2021). Sebelum melakukan uji bioaktivitas secara *in vivo* pada mencit, obat haruslah diuji terlebih dahulu menggunakan metode komputasi untuk menentukan farmakokinetiknya.

2.10. Penentuan Farmakokinetik Obat

Farmakokinetik mempelajari mekanisme obat dalam tubuh manusia, mencakup proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Analisis secara

farmakokinetik, dapat menentukan dosis obat yang tepat, interval pemberian, dan bentuk sediaan yang paling efektif untuk mencapai efek terapeutik yang diinginkan. Penentuan farmakokinetik obat dapat dilakukan dengan metode komputasi untuk memodelkan dan memprediksi bagaimana obat berinteraksi dengan tubuh dalam hal penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Metode komputasi ini memungkinkan untuk memperkirakan perilaku farmakokinetik obat tanpa harus melakukan semua eksperimen *in vivo* (pada organisme hidup). Penelitian ini menggunakan *Lipinski Rule of Five*, *Swiss ADME* dan *pre-ADMET*, serta uji toksisitas untuk menentukan farmakokinetik dan toksisitas obat.

2.11.1. *Lipinski Rule of Five*

Lipinski Rule of Five merupakan perangkat lunak yang dikembangkan untuk menetapkan pedoman kemampuan obat untuk NMEs (*New Molecular Entities*). *Lipinski rule of five* untuk mengevaluasi kesamaan obat atau menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis tertentu memiliki sifat kimia dan sifat fisik yang akan membuatnya menjadi obat yang aktif secara oral pada manusia. *Lipinski* secara khusus menyatakan bahwa lima aturan tersebut hanya berlaku untuk senyawa yang bukan substrat untuk transporter aktif (Leslie *et al.*, 2016).

Senyawa uji harus memenuhi aturan *Lipinski* dan maksimal satu parameter yang tidak terpenuhi. Adapun syarat yang harus dipenuhi sebagai kandidat obat adalah sebagai berikut:

- 1) Berat molekul kurang dari 500 dalton
- 2) Memiliki tidak lebih dari 5 ikatan hidrogen donor
- 3) Memiliki tidak lebih dari 10 ikatan hidrogen akseptor
- 4) Nilai logP tidak lebih dari 5
- 5) Molar *refractivity* berada pada rentang 40-130

Website yang digunakan untuk mengakses *Lipinski rule of five* adalah sebagai berikut: <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>

2.11.2. *Swiss ADME dan Pre-ADMET*

Swiss ADME adalah suatu perangkat lunak untuk mendapatkan data Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi (ADME). Analisis ADME dilakukan dengan memasukkan daftar SMILES atau *the Simplified Molecular Input Line Entry Specification*. Analisis sifat mirip obat menghasilkan skor sifat senyawa terhadap aturan Lipinski yang meliputi berat molekul senyawa, nilai koefisien partisi log P, jumlah donor ikatan hidrogen, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen (Nusantoro dan Fadlan, 2020).

Prediksi profil ADME memperlihatkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas yang meliputi absorpsi pada usus manusia (*human intestinal absorption*, HIA), bioavailabilitas oral manusia (*human oral bioavailability*, HOB), distribusi sawar darah otak (*blood brain barrier*, BBB), ikatan protein plasma (*plasma protein binding*, PPB), parameter inhibisi dan substrat P-glikoprotein (Pgp), profil karsinogenisitas dan toksisitas oral akut (Nusantoro dan Fadlan, 2020). Adapun *website* yang digunakan dalam mengakses *swiss adme* adalah sebagai berikut: <http://www.swissadme.ch/>

2.11.3. Uji Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan menggunakan perangkat lunak *Protox-III* yang memberikan informasi mencakup pengetahuan target kimia dan molekuler. Tujuan dari uji toksisitas ini untuk memprediksi tingkat toksisitas bahan kimia yang mungkin berbahaya bagi manusia, hewan, tumbuhan, dan juga lingkungan sekitar (Banerjee *et al.*, 2018). Parameter yang dapat diprediksi diklasifikasikan ke dalam berbagai tingkat toksisitas seperti *hepatotoxicity*, *carcinogenicity*, *immunotoxicity*, *mutagenicity*, *cytotoxicity*, jalur toksikologi dan target toksisitas sehingga memberikan wawasan tentang kemungkinan mekanisme molekuler di balik respons toksik tersebut *Protox-II* dapat diakses melalui *website* berikut ini: <https://tox.charite.de/protox3/>

III. METODE PERCOBAAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 hingga Maret 2025. Sintesis senyawa kompleks dilakukan di Laboratorium Kimia Anorganik/Fisik FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR dilakukan di Laboratorium Terpadu Institut Teknologi Sumatera. Pengujian aktivitas antidiabetes terhadap mencit dilakukan di Unit Pengelolaan Hewan Percobaan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain gelas beaker, gelas ukur, labu ukur, pengaduk kaca, pipet tetes, spatula, kaca arloji, rak tabung reaksi, Erlenmeyer, botol semprot, termometer, klem dan statif, pengaduk *magnetic stirrer*, *hot plate stirrer*, neraca analitik ABT-220-4M *Kern*, satu set alat refluks, pH meter Metrohm 827, *freezedry*, alat suntik (*disposable syringe*) untuk induksi aloksan, jarum sonde (*force feeding needle*) untuk pencekogan, glukometer, perlengkapan kandang, cutter, spektrofotometer *Agilent Cary 100* dan spektrofotometer IR *Agilent Technologies Cary 630*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah logam $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, isoleusin, *aquades*, NaOH 0,1 M, NaCl 0,9%, metformin, aloksan, strip gula, Na-CMC, air minum, alkohol *swab*, dan pakan mencit. Adapun bahan-bahan yang digunakan

pada saat uji farmakokinetik yaitu situs farmakokinetik meliputi *Lipinski Rule of Five*, *Swiss ADME*, *Pre ADMET* dan *Protox*.

3.3. Prosedur Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan prosedur yang sudah dilakukan sebelumnya oleh (Ambarwati *et al.*, 2021).

3.3.1. Sintesis Senyawa Kompleks

3.3.1.1. Sintesis Mn(II)-Isoleusin

Sintesis senyawa kompleks Mn(II) dengan isoleusin menggunakan rasio 1:2 (logam:ligan) seperti yang telah dilakukan sebelumnya (Ambarwati *et al.*, 2021). Sintesis ini dilakukan dengan melarutkan logam $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,19 gram, 1 mmol) dalam 25 mL *aquades*. Asam amino isoleusin (0,2623 gram, 2 mmol) dilarutkan dalam 25 mL *aquades*. Kedua larutan tersebut dicampurkan dan direfluks pada suhu 60 °C dengan variasi waktu 1,2,3, dan 4 jam, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektro UV-Vis untuk mendapatkan waktu optimum. Setelah didapatkan waktu optimum, direfluks kembali dengan variasi pH 4,5,6, dan 7 menggunakan NaOH, kemudian diukur absorbansi untuk mendapatkan pH optimum. Larutan diambil 25 ml lalu di *freezedry* selama 24 jam dan timbang hingga didapat berat konstan. (4, 5, 6, dan 7), kemudian hasil sintesis ditimbang hingga didapat berat konstan.

3.3.1. Karakterisasi Senyawa Kompleks

Karakterisasi senyawa senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-400 nm. Pengukuran dengan spektrofotometer IR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam

senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Ambarwati *et al.*, 2021).

3.3.2. Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji bioaktivitas antidiabetes dilakukan dengan tujuan mengidentifikasi dan mengevaluasi efek senyawa kompleks yang berpotensi menurunkan kadar gula darah terhadap mencit. Uji bioaktivitas antidiabetes ini mengacu pada penelitian Ambarwati *et al.*, (2021). Sebelum dilakukan uji aktivitas antidiabetes, dibuat rancangan penelitian untuk membantu peneliti, sehingga pengujian akan terstruktur sesuai rancangan yang telah dibuat.

3.3.3.1. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 ulangan mencit tiap kelompoknya. Adapun RAL pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rancangan Acak Lengkap

Kelompok Perlakuan		Ulangan			Total
		1	2	3	Ulangan
Kontrol	N	K _(n) 1	K _(n) 2	K _(n) 3	3
	(+)	K ₍₊₎ 1	K ₍₊₎ 2	K ₍₊₎ 3	3
	(-)	K ₍₋₎ 1	K ₍₋₎ 2	K ₍₋₎ 3	3
Mn(II)	Mn 1	Mn 1.1	Mn 1.2	Mn 1.3	3
	Mn 2	Mn 2.1	Mn 2.2	Mn 2.3	3
Isoleusin	Ile 1	Ile 1.1	Ile 1.2	Ile 1.3	3
	Ile 2	Ile 2.1	Ile 2.2	Ile 2.3	3
Mn(II)-isoleusin	Mn-Ile 1	Mn-Ile 1.1	Mn-Ile 1.2	Mn-Ile 1.3	3
	Mn-Ile 2	Mn-Ile 2.1	Mn-Ile 2.2	Mn-Ile 2.3	3
	Mn-Ile 3	Mn-Ile 3.1	Mn-Ile 3.2	Mn-Ile 3.3	3
Total Kelompok Perlakuan		10	10	10	30

Keterangan :

K(n) = Kontrol Normal Mn-Ile 1 = Mn(II)-isoleusin dosis 1
 K(+) = Kontrol Positif Mn-Ile 2 = Mn(II)-isoleusin dosis 2
 K(-) = Kontrol Negatif Mn-Ile 3 = Mn(II)-isoleusin dosis 3
 Mn(II) = Dosis MnCl₂.4H₂O
 Ile = Dosis isoleusin

3.3.3.2. Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus* L.) sebanyak 45 ekor yang memiliki umur sekitar 2-3 bulan dengan berat 20-40 gram. Masing-masing mencit ditempatkan di kandang yang telah dilengkapi dengan tempat untuk pakan dan juga tempat untuk air minum. Satu kandang berisi satu ekor mencit. Sebelum dilakukan percobaan mencit diadaptasi selama 1 minggu yang bertujuan agar mencit tidak stres dengan lingkungan baru. Selama proses tersebut mencit diberi makan dan juga minum secukupnya.

3.3.3.3. Induksi Aloksan

Hewan uji ditimbang berat badannya untuk menentukan dosis aloksan. Serbuk aloksan ditimbang dan dimasukkan dalam labu takar 10 ml kemudian ditambahkan NaCl 0,9 % dan dihomogenkan. Pemberian aloksan dilakukan 1 (satu) kali pada hari pertama perlakuan dengan dosis 150 mg/KgBB (Irdalisa dkk., 2015).

Pengkondisian mencit ke keadaan anti-diabetes dicapai dengan cara memuaskan mencit selama 8-12 jam sambil memberi mereka air minum yang cukup. Kadar glukosa darah pada hewan uji diukur sebelum diinduksi aloksan. Berdasarkan *American Diabetic Association* (2021), kriteria diagnostik peningkatan glukosa darah (hiperglikemia) pada penderita diabetes (DM) sebesar 126 mg/dL.

3.3.3.4. Pemberian Senyawa Kompleks Pada Mencit

Pemberian senyawa kompleks (Mn(II)-isoleusin) pada mencit diberikan secara oral. Mencit yang digunakan sebanyak 45 ekor dan dibagi menjadi 15 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Dosis senyawa kompleks yang digunakan dalam penelitian ini didasarkan pada dosis yang telah dilakukan sebelumnya (Ambarwati *et al.*, 2021). Setiap kelompok diberi perlakuan berbeda, yaitu sebagai berikut:

- 1) Kontrol normal (Kn): hanya diberi makan berupa pelet dan air minum secukupnya secara teratur.
- 2) Kelompok kontrol positif (K⁺): diinduksi aloksan dan diberikan obat antidiabetes metformin.
- 3) Kelompok kontrol negatif (K⁻): diinduksi aloksan tanpa diberikan obat antihiperglikemia.
- 4) Kelompok perlakuan 1 (Mn 1): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi MnCl₂.4H₂O dengan dosis 50 µg/KgBB/hari.

- 5) Kelompok perlakuan 2 (Mn 2): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dengan dosis $100 \mu\text{g/KgBB/hari}$.
- 6) Kelompok perlakuan 3 (Ile 1): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi isoleusin dengan dosis $50 \mu\text{g/KgBB/hari}$.
- 7) Kelompok perlakuan 4 (Ile 2): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi isoleusin dengan dosis $100 \mu\text{g/KgBB/hari}$.
- 8) Kelompok perlakuan 7 (Mn-Ile 1): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi senyawa kompleks Mn(II) -isoleusin dosis $50 \mu\text{g/KgBB/hari}$.
- 9) Kelompok perlakuan 8 (Mn-Ile 2): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi senyawa kompleks Mn(II) -isoleusin dosis $100 \mu\text{g/KgBB/hari}$.
- 10) Kelompok perlakuan 9 (Mn-Ile 3): diinduksi aloksan sebanyak 3 kali selama 7 hari dan diberi senyawa kompleks Mn(II) -isoleusin dosis $200 \mu\text{g/KgBB/hari}$.

3.3.3.5. Parameter Uji

Parameter yang diamati dalam penelitian ini adalah berat badan dan kadar gula darah pada mencit. Parameter uji yang digunakan adalah sebagai berikut:

1) Pengukuran berat badan mencit

Pengukuran berat badan mencit dilakukan sebanyak 4 kali. Penimbangan mencit dilakukan pada seluruh kelompok kontrol dan perlakuan, kemudian hasil pengukuran tersebut dibandingkan antara satu kelompok dan kelompok lainnya.

2) Pemeriksaan kadar glukosa darah

Pengukuran kadar gula darah pada mencit dilakukan sebanyak 4 kali. Tahap pertama dilakukan sebelum mencit diinduksi dengan aloksan (hari ke-7), tahap kedua dilakukan setelah mencit selesai diinduksi aloksan (hari ke-14), tahap ketiga dilakukan pengukuran pada hari ke-21 setelah mencit diberi perlakuan dengan senyawa kompleks dan tahap keempat dilakukan pengukuran pada hari ke-28 setelah mencit diberi perlakuan dengan senyawa kompleks. Ujung ekor mencit disterilkan menggunakan *alcohol swab* agar tidak terkena iritasi dan dilukai sedikit. Darah yang keluar diteteskan ke strip

glukosa yang sebelumnya telah dimasukkan ke glukometer dan tunggu selama 10 detik sampai hasil kadar gula darah keluar di layar glukometer.

3.3.3.6. Analisis Data

Data yang diperoleh akan dianalisis dengan metode ANOVA (*Analysis of Variance*) dan BNT taraf nyata 5% untuk menganalisis ada atau tidaknya perbedaan yang nyata dari 9 kelompok uji. Hasil dinyatakan sebagai *mean* $\pm$ SM, *mean* dianalisis untuk perbedaan dan analisis varian (Otuokere and Amadi, 2017). Efek dari perlakuan dapat dilihat dari besarnya persen *glucose lowering* yang dinyatakan dalam %GL yang merupakan persentase penurunan kadar gula darah (Budiasih dan Pertiwi, 2015):

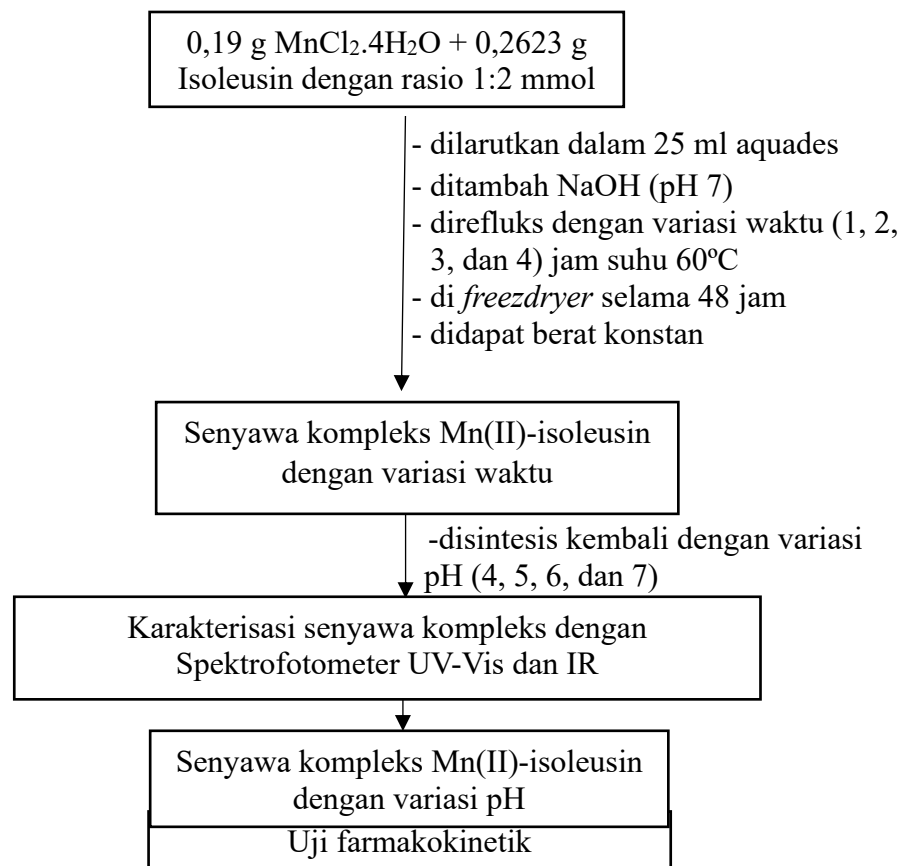
$$\%GL = \frac{(\text{Glukosa})_{\text{sebelum perlakuan}} - (\text{Glukosa})_{\text{setelah pertemuan}}}{(\text{Glukosa})_{\text{sebelum perlakuan}}} \times 100\%$$

3.3.4. Farmakokinetik Obat

Suatu senyawa baru yang menjadi kandidat obat diuji melalui analisis kemiripan sifat dengan obat atau *drug-likeness* berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* pada website *Lipinski's Rule of Five* - SCFBio, pengecekan profil ADME pada website *Swiss ADME* dan *Pre ADMET*, serta pemeriksaan toksisitas pada website *ProTox*.

3.3.5. Diagram Alir

Adapun diagram alir penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Diagram alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Kesimpulan dari hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil sintesis senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin dan Mn(II)-valin kondisi optimum pada waktu 4 jam berupa padatan berwarna putih kekuningan dengan rendemen sebesar 96,39% dengan pH 6.
2. Hasil karakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis terdapat dua serapan maksimum pada 229 dan 280 nm, sedangkan hasil spektrofotometer IR menunjukkan terbentuknya senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin ditandai adanya ikatan Mn-O dan Mn-N, serta gugus-gugus fungsi O-H, C-O, C=O, C-H, C-N, dan N-H.
3. Dosis efektif senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin menurunkan kadar glukosa darah mencit adalah dosis 200 $\mu\text{g/KgBB}$ dengan penurunan sebesar 64,78%, hasil pengamatan organ vital mencit tidak ditemukan kerusakan organ secara morfologi pada mencit kelompok perlakuan senyawa kompleks tanpa diinduksi aloksan.
4. Senyawa kompleks Mn(II)-isoleusin memenuhi kriteria pengujian secara farmakokinetik, sehingga berpotensi menjadi kandidat obat antidiabetes.

5.2. Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut:

1. Senyawa kompleks yang telah disintesis perlu dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).
2. Penelitian baru perlu dilakukan dengan menggunakan logam dan ligan asam amino yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Ada. 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Journal Diabetes Care*. 35(1) :11-17.
- Adnyana, Anom, I.D.P., Meles, D.K., Wurlina, Zakaria, S., dan Suwasanti, N. 2016. Efek Anti Diabetes Buah Pare (*Momordica charantia* Linn.) Terhadap Kadar Glukosa Darah, Sel Penyusun Pulau Langerhans dan Sel Leydig pada Tikus Putih Hiperglikemia. *Journal Acta Veterinaria*. 4(2) : 43-50.
- Ambarwati, Y., Firguna, D.S., Bahri, S., Laila, A., and Hadi, S. 2021. Synthesis oof Cr(II)-Aspartate and Cu(II)-Aspartate Complexes as Antidiabetic Compound. *Indonesian Journal of Pharmacy*. 32(4) : 539-547.
- American Diabetes Association. 2021. *Classification and Diagnosis of Diabetic Standards od Medical Care in Diabetic 2021*. Diabetic Care 2021: 44(Suppl.1): S15-S53.
- Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., and Preissner, R. 2018. ProTox-II: A Webserver for the Prediction of Toxicity of Chemicals. *Nucleic Acids Research*. 46(1): 257–263.
- Bhatti, J.S., Sehrawat, A., Mishra, J., Sidhu, I.S., Navik, U., Khullar, N., Kumar, S., Bhatti, G.K., and Reddy. 2022. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Related Complications: Current Therapeutics Strategies and Future Perspectives. *Free Radical Biology and Medicine*. 184(1): 114-134.
- Budiasih, K., dan Pertiwi, K. R. 2015. Pengembangan Suplemen Hipoglikemik Berbasis Cr (III) melalui Uji Pre Klinik sebagai Sumber *Nutraceutical roduct* Bagi Penyandang Diabetes Mellitus Tipe 2. *Laporan Tahunan Penelitian*. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Food Agricultural Organization/ World Health Organization. 1985. *Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food*. Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food Ontario. Canada.

- Goyal, R., and Jialal, I. 2021. *Diabetes Mellitus Type 2*. Stat Pearls Publishing, Treasure Island (FL).
- International Diabetes Federation. 2021. IDF Diabetes Atlas 10th edition. IDF 2021. <http://diabetesatlas.org> (diakses pada tanggal 26 Agustus 2024).
- Irdalisa, Safrida, Khairil, Abdullah, dan Sabri, M. 2015. Profil Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Setelah Penyuntikkan Aloksan Sebagai Hewan Model Hiperglikemia. *Jurnal EduBio Tropika*. 3(1) : 1-50.
- Lee, S. H., Jouihan, H. A., Cooksey, R. C., Jones, D., Kim, H. J., Winge, D. R., and McClain, D. A. 2013. Manganese supplementation protects against dietinduced diabetes in wild type mice by enhancing insulin secretion. *Endocrinology*. 154(3): 1029–1038.
- Leslie, Z. B., Chelsea, M. H., U, O., and Oprea, T. I. 2016. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug*. 1(101), 89098.
- Lu, Y., Wang, Y., Liang, X., Zou, L., Ong, C, N., Yuan, J., Koh, W., and Pan, A. 2016. Serum Amino Acids in Relation to Prevalent and Incidence of Type 2 Diabetes in a Chinese Population. *MDPI*. 9(1) : 14.
- Luo, P., Qiu, L., Liu, Y., Liu, X., and Zheng, J. 2020. Metformin treatment was associated with decreased mortality in COVID-19 patients with diabetes in a retrospective analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 103(1) : 69–72.
- Maanvizhi, S., Boppana, Krishnan, C., and Gnanmani, A. 2014. Metal Complexes in the Management of Diabetes Mellitus: A New Therapeutic Strategy. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 6(7) : 40-44.
- Maliangkay, H. P., Rumondor, R., dan Walean, M. 2018. Uji efektivitas antidiabetes ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. *Chemistry Progress*. 11(1) : 34-45.
- Manikshete, A. H., Awatade, M. M., Sarsamkar, S. K., and Asabe, M. R. 2015. Synthesis, Characterization, Antimicrobial, Anticancer and Antidiabetic Activity of New Manganese (II), Nickel (II) and Cobalt (II) Complexes with Salicylaldehyde-4-chlorobenzoylhydrazone. *International Journal of Engineering Science Invention*. 4(1): 22–29.
- Martak, F., Wahyudi, A., Limanto, D., dan Ali, M,T. 2018. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Mangan(II) dengan Ligan 2-(4-Klorofenil)-4,5- Difenil-1H-Imidazol. *Akta Kimia Indonesia*. 3(2) : 159-174.
- Mounir, A. A., Abdullah, O. A., and Ahmed, M. M. 2020. Synthesis and antidiabetic activity of novel triazole derivatives containing amino acids. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 57(6) : 2356-2378.

- Mutiarahmi, Citra Nur, Tyagita Hartady, dan Ronny Lesmana. 2021. Pemanfaatan Tikus Sebagai Hewan Percobaan di Laboratorium Yang Mengacu Pada Asas Kesejahteraan Hewan. *Indonesia Medicus Veterinus*. 10(1):134–45.
- Nadifa, N. T. 2022. Sintesis, Karakterisasi, dan Uji Aktivitas Senyawa Kompleks Cr(III)-Leusin dan Cu(II)-Leusin Sebagai Antidiabetes. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Nicoloff G, Mutaftchiev K, Strashimirov D, and Petrova C. 2003. Serum manganese in children with diabetes mellitus type 1. *Diabetologia Croatica*. 33 (2): 47-51.
- Nusantoro, Y. R., dan Fadlan, A. 2020. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*. 5(2): 114-126.
- Otuokere, I. E., and Amadi, K. C. 2017. Synthesis, Characterization and Antidiabetic Studies of Co(II)-glimepiride Complex. *International Journal of Research in Engineering and Innovation*. 3(3) :75–80.
- Pandeya K.B., Tripathi, I., Mishra, M., Dwivedi, N., Pardhi, Y., Kamal, A., Gupta, P and Mishra, C. 2013. A Critical Review on Traditional Herbal Drugs: An Emerging Alternative Drug for Diabetes. *International Journal of Organic Chemistry*. 3 : 1-22.
- Park, J.H., Hograbe, M., Grunberg, M., Duchesna, I, Heiden, A.L., Reunert dan Boycott. 2015. Deficiency: A Disorder of Manganese Transport and Glycosylation. *The American Journal of Human Genetics*. 97: 894-903.
- Pratama, R.Y., Pranitasari, N., dan Purwaningsari, D. 2020. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas *Rattus Norvegicus* Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Hang Tuah Medical Journal*. 17(2) : 116-129.
- Purwakanthi, A., Shafira, N. N. A., Harahap, H., dan Kusdiyah, E. 2020. Gambaran Penggunaan Obat Diabetes Mellitus Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 8(1) : 40–46.
- Putri, L. P. 2023. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa Kompleks Co(II)-Glisin, Mn(II)-Glisin Serta Uji Antidiabetes Terhadap Mencit (*Mus musculus* L.) dan Uji In Silico A Pada Protein 5DI1. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Rachmania RA, Hariyanti H, Zikriah R, dan Sultan A. Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX). *J Kim Val*. 4(2):124–36.
- Rejeki, P.S., Putra, E.A.C., dan Prastyo, R.E. 2018. *Ovariectomi Pada Tikus dan Mencit*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Salsabila, D. 2023. Uji Bioaktivitas Antidiabetes Senyawa Kompleks Co(II)-Aspartat dan Mn(II)-Aspartat Terhadap Mencit (*Mus musculus* L.) dan Uji In Silico Pada Protein 5DI1. *Skripsi*. Universitas Lampung.

- Suhartati, T. 2017. *Dasar-dasar Spektrofotometri UV-Vis dan Spektrofotometri Massa untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. AURA. Lampung.
- Tahar, N., Febriyanti, A.P., Wahyuddin, M., dan Hasti, S.A. 2020. Evaluasi Penggunaan Obat Antidiabetik Oral Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Menggunakan Metode ATC/DDD dan Du 90%. *Jurnal Kesehatan*. 32-38.
- Takeshita, Y., Takamaru, T., Kita, Y., Ando, H., Ueda, T., Kato, K., Misu, H., and Tatsyua. 2012. Beneficial Effect of Branched-Chain Amino Acid Supplementation on Glycemic Control in Chronic Hepatitis C Patients with Insulin Resistance: Implications for Type 2 Diabetic. *Journal Metabolism*. 61(10) : 1388-1394.
- Unjiati, Wirjatmadi, B., and Adriani, M. 2015. Chromium and Zinc Level of Patients with Type 2 Diabetes and Non-Diabetes. *Biochemistry and Physiology*. 1(3) :34–40.
- Utomo, A.A., Aulia, A., Rahma, S., dan Amalia, R. 2020. Faktor Risiko Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Kajian dan Pengembangan Kesehatan Masyarakat*. 1(1): 44-52.
- Zhang, S., Zeng, X., Ren, M., Mao, X., and Qiao, S. 2017. Novel Metabolic and Physiological Functions of Branched Chain Amino Acids: a Review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 8(10) : 1-12.