

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER  
KULIT KAYU DAMAR MATA KUCING (*Shorea javanica*) DARI FRAKSI  
*n*-HEKSANA SERTA UJI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Julia Putri  
2157011001**



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

## ABSTRAK

### ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER KULIT KAYU DAMAR MATA KUCING (*Shorea javanica*) DARI FRAKSI *n*-HEKSANA SERTA UJI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*

Oleh

**Julia Putri**

Pohon damar mata kucing (*Shorea javanica*), yang termasuk dalam famili *Dipterocarpaceae*, dikenal kaya akan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan steroid. Senyawa-senyawa ini memiliki beragam aktivitas farmakologis, termasuk sifat antiinflamasi, antioksidan, dan antidiabetes. Penelitian ini berfokus pada isolasi dan identifikasi senyawa metabolit sekunder dari kulit kayu *S. javanica*, khususnya dari fraksi *n*-heksana, serta mengevaluasi potensi antidiabetesnya melalui uji penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase secara *in vitro*.

Proses perolehan senyawa diawali dengan ekstraksi kulit kayu menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol, diikuti fraksinasi dan pemurnian menggunakan teknik kromatografi kolom. Senyawa hasil isolasi kemudian dikarakterisasi secara mendalam menggunakan spektroskopi UV-Vis, <sup>1</sup>H-NMR, dan LC-MS. Berdasarkan analisis ini, senyawa yang berhasil diisolasi diidentifikasi sebagai turunan steroid. Uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa ini mampu menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase secara signifikan, mengindikasikan potensi sebagai agen antidiabetes.

Senyawa yang berhasil diisolasi, berupa kristal putih kekuningan dengan massa 20 mg dan diberi kode NVJ F21A, secara spesifik diidentifikasi sebagai D<sub>4</sub>-stigmasterone. Senyawa ini diperoleh dari fraksi *n*-heksana kulit kayu *S. javanica* melalui serangkaian proses kromatografi setelah ekstraksi awal. Uji aktivitas antidiabetes terhadap D<sub>4</sub>-stigmasterone menghasilkan nilai *IC*<sub>50</sub> sebesar 51,58  $\mu$ g/mL. Meskipun sedikit lebih tinggi dari akarbosa sebagai kontrol positif (*IC*<sub>50</sub> 32,039  $\mu$ g/mL), nilai ini menunjukkan potensi penghambatan  $\alpha$ -amilase yang kuat. Hasil penelitian ini secara signifikan memperkuat potensi kulit kayu *S. javanica* sebagai sumber bioaktif antidiabetes.

**Kata kunci:** *Shorea javanica*, metabolit sekunder,  $\alpha$ -amilase, antidiabetes.

## ABSTRACT

### ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITE COMPOUNDS FROM DAMAR MATA KUCING WOOD BARK (*Shorea javanica*) FROM THE *n*-HEXANE FRACTION AND ANTIDIABETIC TEST IN VITRO

By

**Julia Putri**

Damar mata kucing (*Shorea javanica*), a species belonging to the *Dipterocarpaceae* family, is renowned for its rich content of secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, and steroids. These compounds exhibit diverse pharmacological activities, including anti-inflammatory, antioxidant, and antidiabetic properties. This study focused on isolating and identifying secondary metabolites from *S. javanica* bark, particularly from the *n*-hexane fraction, and evaluating their antidiabetic potential through *in vitro*  $\alpha$ -amylase enzyme inhibition assays. The compound isolation process began with the extraction of the bark using maceration with methanol as the solvent, followed by fractionation and purification using column chromatography techniques. The isolated compound was then thoroughly characterized using UV-Vis spectroscopy, <sup>1</sup>H-NMR, and LC-MS. Based on these analyses, the successfully isolated compound was identified as a steroid derivative. *In vitro* antidiabetic activity tests demonstrated that this compound significantly inhibited  $\alpha$ -amylase enzyme activity, indicating its potential as an antidiabetic agent. The isolated compound, a yellowish-white crystal with a mass of 20 mg and designated as NVJ F21A, was specifically identified as D<sub>4</sub>-stigmasterone. This compound was obtained from the *n*-hexane fraction of *S. javanica* bark through a series of chromatographic processes after initial extraction. Antidiabetic activity testing of D<sub>4</sub>-stigmasterone yielded an *IC*<sub>50</sub> value of 51.58  $\mu$ g/mL. Although slightly higher than acarbose, the positive control (*IC*<sub>50</sub> 32.039  $\mu$ g/mL), this value indicates strong  $\alpha$ -amylase inhibition potential. The findings of this research significantly reinforce the potential of *S. javanica* bark as a source of antidiabetic bioactive compounds.

**Keywords:** *Shorea javanica*, secondary metabolites,  $\alpha$ -amylase, antidiabetic

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER  
KULIT KAYU DAMAR MATA KUCING (*Shorea javanica*) DARI FRAKSI  
*n*-HEKSANA SERTA UJI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO***

**Oleh**

**Julia Putri**

**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  
2025**

Judul : **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA  
METABOLIT SEKUNDER KULIT KAYU DAMAR  
MATA KUCING (*Shorea javanica*) DARI FRAKSI  
*n*-HEKSANA SERTA UJI ANTIDIABETES SECARA *IN*  
*VITRO***

Nama Mahasiswa : **Julia Putri**

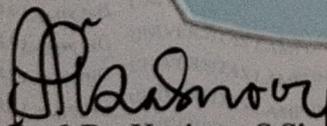
NPM : 2157011001

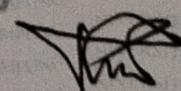
Program Studi : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. **Komisi Pembimbing**

  
**Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**  
NIP.1973111998022001

  
**Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.**  
NIP.197104151995121001

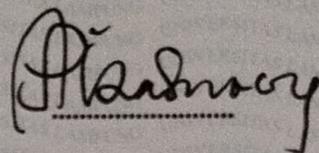
2. **Ketua Jurusan Kimia FMIPA**

  
**Prof. Dr. Mita Rilyanti, M.Si.**  
NIP.197205302000032001

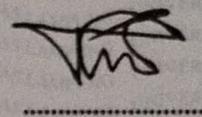
**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

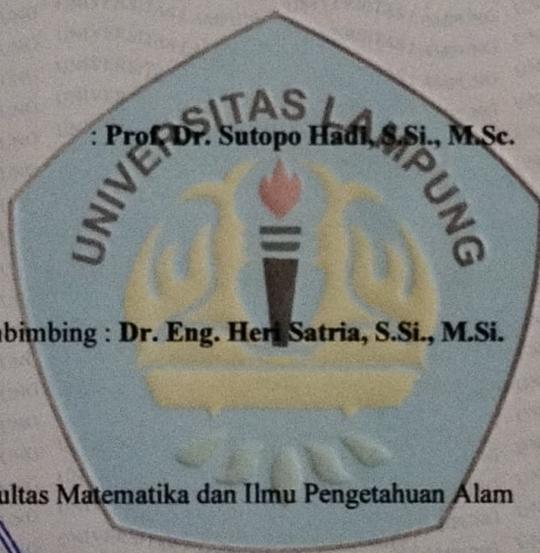
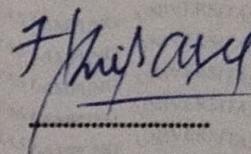
Ketua : **Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**



Sekretaris : **Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc.**



Penguji  
Bukan Pembimbing : **Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **05 Agustus 2025**

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

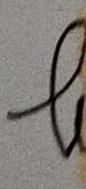
Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Julia Putri  
Nomor Pokok Mahasiswa : 2157011001  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “ **Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Kayu Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) dari fraksi *n*-Heksana Serta Uji Antidiabetes Secara *In Vitro*.**” Ini adalah karya asli saya, dan saya setuju jika sebagian atau seluruh data skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk publikasi. Syaratnya, nama saya harus dicantumkan, dan harus ada kesepakatan terlebih dahulu sebelum publikasi dilakukan.

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

Bandar Lampung, 5 Agustus 2025

  
  
Julia Putri  
NPM. 2157011001

## RIWAYAT HIDUP



Julia Putri lahir di Kotabumi, Kecamatan Abung Selatan, Kabupaten Lampung Utara, Lampung pada tanggal 25 Juli 2003 sebagai anak bungsu dari 3 bersaudara, putri dari bapak Ahmad Taufiq dan ibu Rusmiati. Penulis menyelesaikan pendidikan di RA Tunas Harapan pada tahun 2009, Sekolah Dasar di SDN 03 Candimas 2009-2015, kemudian penulis menyelesaikan pendidikan sekolah menengah pertama di SMPN 10 Kotabumi pada tahun 2018, dan menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMKS YPIB Kotabumi tahun 2018-2021. Pada tahun 2021 penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur seleksi mandiri (SMMPTN Barat).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah mengikuti organisasi *Chemistry English Club* sebagai anggota bidang *design*. Penulis pernah mengikuti kegiatan MBKM Pertukaran Mahasiswa di Universitas Bengkulu pada tahun 2023 selama satu semester, penulis juga pernah menjadi asisten praktikum kimia organik Jurusan Biologi. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Talang Mulya, Kecamatan Teluk Pandan, Pesawaran, Lampung. Pada 1 Juli-1 Agustus penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan dengan judul “ Ekstraksi dan Uji Bioaktivitas Antidiabetes Kulit Batang Kayu Damar Mata Kucing (*Shorea Javanica*) dengan Pelarut *n*-heksana di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unila.

## **MOTTO**

**“Dan bersabarlah kamu, sesungguhnya janji Allah adalah benar.”  
(Q.S. Ar-Ruum : 60)**

**“Sesungguhnya setelah kesulitan itu ada kemudahan”  
(Q.S. Al-Insyirah : 5)**

**“Mintalah pertolongan dengan sabar dan shalat. Sesungguhnya Allah bersama orang-orang yang sabar”  
(Q.S. Al-Baqarah : 153)**

**“Tidaklah mungkin bagi matahari mengejar bulan. Dan malam pun tidak dapat mendahului siang. Masing-masing beredar pada garis edarnya”  
(Q.S. Yasin : 40).**

**“Tangisan dan tawa sedih dan bahagia tak kekal hanya sementara”  
(Barsena Bestandhi)**

**“Jangan pernah merasa terlambat dari siapapun, jangan pernah merasa kecil dari siapapun. Percayalah Tuhan bekerja pada hidup masing-masing manusia”  
(Shabrina Leanor)**

## PERSEMBAHAN



Dengan mengucapkan Alhamdulillahirobbil alamin puji syukur kepada Allah subhanahu wata'ala atas limpahan rahmat dan karunia-Nya yang telah menjaga dan menyertai setiap langkah sehingga saya dapat menyelesaikan karya tulis ini. Yang saya persembahkan kepada :

Kedua orang tuaku tercinta bapak Ahmad Taufiq dan ibu Rusmiati terima kasih untuk semua cinta dan kasihnya. Kalian adalah alasan terbesarku masih berdiri sampai saat ini. Terima kasih sudah menjadi orang tua yang hebat, selalu mendukung, mendoakan serta mengusahakan semua untuk penulis dengan susah payah. Terima kasih karena telah melahirkan dan membesarkanku dengan penuh cinta sehingga anak bungsu kalian ini dapat tumbuh dan hidup dengan baik dan layak.

Kakak-kakakku tersayang Alm. Rangga Eka Saputra dan Widya terima kasih untuk semua usaha, dan dukungan yang telah diberikan. Terima kasih karena telah menjadi kakak yang luar biasa untuk adik kalian ini, terima kasih untuk semua cinta dan kasihnya. Terima kasih untuk selalu menjadi garda terdepan bagi adik kecil kalian ini, teruslah hidup dengan sehat dan bahagia.

Pembimbing penelitian, Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc., Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., dan seluruh Dosen Jurusan Kimia yang telah sabar membimbing, mengarahkan, dan memberikan ilmu serta pengalaman yang sangat berarti. Terimakasih atas kesabaran yang telah kalian curahkan selama proses ini. Semoga karya kecil ini menjadi langkah awal untuk terus belajar, berkembang, dan bermanfaat bagi banyak orang.

Almamater Tercinta, Universitas Lampung

## SANWACANA

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, karunia, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Kulit Kayu Damar mata kucing (*Shorea javanica*) dari fraksi *n*-Heksana Serta Uji Antidiabetes Secara *In Vitro*.” dengan baik. Sholawat dan salam juga tidak lupa penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, yang syafaatnya kita nantikan di hari kiamat. Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik dari bulan Oktober 2024 hingga April 2025. Penulis berharap Skripsi ini dapat memberikan manfaat, baik bagi penulis sendiri maupun bagi pembaca pada umumnya. Dalam proses penyusunan Skripsi ini, penulis mendapatkan bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orangtua tersayang, Bapak Ahmad Taufiq dan ibu Rusmiati serta kakak perempuan ku satu-satunya Widya terima kasih untuk semua dukungan, pengorbanan, doa serta semangat yang selalu diberikan kepada penulis, semoga Allah senantiasa menjaga, memberikan kesehatan, kemudahan, kelancaran dalam setiap langkahnya, dan rezeki yang melimpah, *Aamiin Yaa Rabbal Alamin*.
2. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku pembimbing atas seluruh dedikasinya dalam memberikan bimbingan, kritik, saran serta semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Semoga Allah senantiasa memberikan kemudahan, kesehatan dan kelancaran dalam setiap langkah serta selalu diberikan keberkahan yang tak terhingga.
3. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. selaku dosen pembimbing II yang telah membimbing penulis dengan sabar dan penuh keikhlasan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik dan tepat waktu. Semoga

semua kebaikan yang telah bapak lakukan diberikan ganjaran pahala yang tiada putusnya.

4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si, selaku dosen pembahas sekaligus Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Yang telah memberikan dukungan, nasihat, serta kritik dan sarannya dengan penuh kesabaran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan serta keberkahan.
5. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku ketua jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah menyetujui skripsi ini.
6. Bapak Prof. Suharso, P.hD. selaku dosen pembimbing akademik yang telah mendukung dan memberikan kritik saran sehingga penelitian dan skripsi ini dapat terselesaikan.
7. Bapak Ibu dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas seluruh dedikasi, ilmu serta perhatiannya yang telah diberikan selama perkuliahan. Semoga kebaikan yang telah bapak dan ibu lakukan mendapatkan ganjaran pahala yang tiada putusnya.
8. Teman-teman anggota Noviany Research Group Angkatan 2021, Diah Vio Rahmadanti, Inggit Pratiwi P. S, Muhammad Govindo Ibra Pratiba, dan Rita Ana Pristiani yang telah kebersamai dan membantu Penulis dalam melaksanakan Penelitian dan penulisan skripsi ini dengan tangisan, canda tawa hingga kita bisa menyelesaikan pendidikan kita dan wisuda berbarengan.
9. Teman-teman terdekat penulis Dina Febriyanti, dan Nida Roufiqoh, yang selalu kebersamai dan memberikan dukungan penuh kepada penulis dalam dunia perkuliahan. Semoga Allah senantiasa menjaga kalian dimanapun kalian berada.
10. Mba Wiwit selaku PLP Laboratorium Kimia Organik, yang telah membantu penulis dalam melakukan penelitian serta memberikan semangat. Semoga semua kebaikan yang telah dilakukan mendapatkan pahala yang tiada henti.
11. Tenaga Pendidik, admin Dekanat, admin jurusan, serta karyawan jurusan kimia, FMIPA Universitas Lampung, untuk semua bantuannya. Semoga Allah mempermudah semua urusan bapak dan ibu selalu.

12. Kakak-Kakak di Laboratorium Kimia Organik, Mba Rista, Mba Army, Mba Nindy, kak Vio, kak Anggel, kak Dila, kak Muti, Kak Bayu dan semua yang tergabung, yang selalu membersamai dan memberikan dukungan serta saran kepada penulis dalam mengerjakan penelitian ini.
13. Kanaya, Viola, Satria dan Giova keponakan-keponakan yang selalu menghibur penulis dan memberikan dukungan serta semangat. Tumbuhlah jadi anak yang sehat dan selalu bahagia.
14. Ibu dan bapak kedua, Ibu Darmi dan Bapak Selamat yang selalu memberikan dukungan, nasihat serta doa untuk penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa menjaga dan memberikan kesehatan.
15. Kakak-kakakku kak Hendra, kak Sandi, Mba Sanda, kak Arif, Mba Susi, Mba Intan, untuk semua hiburan, dukungan semangat yang selalu diberikan, semoga Allah selalu menjaga dan memberikan kebahagiaan yang tiada henti.
16. Anggita Dwi Ristanti teman dari Sekolah Dasar hingga saat ini, walaupun berbeda kampus tapi masih selalu memberikan dukungan, semangat serta saran kepada penulis. Semoga Allah selalu menjagamu, dan memberikan kebahagiaan yang tiada henti.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat beberapa kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari pembaca demi perbaikan penelitian selanjutnya. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat untuk perkembangan ilmu pengetahuan di masa depan.

Bandar Lampung, Agustus 2025  
Penulis,

**Julia Putri**

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xviii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xx</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	4
1.3 Manfaat Penelitian .....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 <i>Dipterocarpaceae</i> .....	5
2.2 Damar Mata Kucing ( <i>Shorea javanica</i> ) .....	5
2.3 Metabolit Sekunder .....	7
2.3.1 Alkaloid.....	7
2.3.2 Flavonoid .....	8
2.3.3 Fenolik .....	9
2.3.4 Steroid .....	10
2.3.5 Terpenoid .....	11
2.4 Komponen Kimia <i>Dipterocarpaceae</i> .....	12
2.5 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder .....	13
2.6 Kromatografi.....	14
2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	14
2.6.2 Kromatografi Cair Vakum .....	15
2.6.3 Kromatografi Kolom.....	17

2.7 Karakterisasi dengan Spektrofotometri.....	18
2.7.1 Spektrofotometri UV-Vis.....	19
2.7.2 Spektrofotometri NMR .....	20
2.7.3 Spektrofotometer Massa .....	21
2.8 Uji Secara <i>In Vitro</i> .....	21
2.9 Diabetes Melitus .....	21
<b>III. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>24</b>
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	24
3.2 Alat dan Bahan.....	24
3.3 Prosedur Penelitian.....	25
3.3.1 Preparasi Sampel.....	25
3.3.2 Ekstraksi Menggunakan Metode Maserasi .....	25
3.3.3 Fraksinasi .....	26
3.3.4 Kromatografi Cair Vakum .....	26
3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	27
3.3.6 Kromatografi Kolom.....	37
3.3.7 Analisis Kemurnian.....	28
3.3.8 Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer.....	28
3.3.9 Uji Aktivitas Antidiabetes .....	29
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>31</b>
4.1 Ekstraksi.....	31
4.2 Isolasi Senyawa.....	32
4.2.1 Kromatografi Cair Vakum (KCV) .....	32
4.2.2 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).....	34
4.3 Karakterisasi dengan Spektroskopi <sup>1</sup> H-NMR .....	38
4.4 Karakterisasi dengan <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometer</i> (LC-MS).....	41
4.5 Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes .....	48
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>51</b>
5.1 Kesimpulan .....	51
5.2 Saran .....	51

**DAFTAR PUSTAKA.....52**

**LAMPIRAN.....58**

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Urutan Tingkat kepolaran pelarut .....	17
2. Serapan sinar dan Warna Spektrofotometri UV-Vis.....	19
3. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra $^1\text{H-NMR}$ .....	19
4. Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ .....	20
5. Penggabungan Fraksi hasil KCV .....	33
6. Tabel Pergeseran Kimia $^1\text{H NMR}$ .....	40
7. Puncak kromatogram BPI kristal F21A.....	44
8. Nilai $IC_{50}$ fraksi F21A.....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon <i>Shorea javanica</i> .....	6
2. Struktur senyawa alkaloid hasil isolasi <i>S. javanica</i> .....	8
3. Struktur senyawa flavonoid hasil isolasi <i>S. rogusa</i> .....	9
4. Struktur senyawa fenolik hasil isolasi <i>S. seminis</i> .....	10
5. Struktur senyawa steroid hasil isolasi <i>S. javanica</i> .....	11
6. Struktur senyawa terpenoid hasil isolasi <i>Dryobalanops</i> .....	12
7. Struktur senyawa hasil isolasi <i>S. javanica</i> .....	12
8. Hasil Kromatogram Penggabungan Fraksi Pasca-KCV pada UV (a). 254 nm (b). 366 nm .....	33
9. Hasil kromatogram dengan lampu UV (a). 366 nm (b). 254 nm .....	34
10. Kromatogram penggabungan Fraksi 3 .....	34
11. Hasil kromatogram dengan 3 sistem eluen fraksi 3 (I). <i>n</i> -heksana:DCM (2:8) (II). <i>n</i> -heksana:kloroform (4:6) (III). <i>n</i> -heksana:etil asetat (2:8).....	35
12. (a). Monitoring KLT panjang gelombang 254 nm (b). Monitoring KLT panjang gelombang 366 nm. ....	36
13. Kromatogram hasil penggabungan fraksi F pada lampu UV (a). Panjang gelombang 254 nm (b). Panjang gelombang 366 nm. ....	36
14. Hasil Kromatogram terhadap senyawa NVJ F21A dilakukan menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. (I). <i>n</i> -heksana:etil asetat (7:3). (II). <i>n</i> - heksana:DCM (4:6). (III). <i>n</i> -heksana:kloroform (4:6).....	37
Gambar 15. Monitoring KLT terhadap senyawa NVJ F21A dilakukan menggunakan tiga sistem eluen yang berbeda. (I). <i>n</i> -heksana:etil asetat (7:3). (II). <i>n</i> -heksana:DCM (4:6). (III). <i>n</i> -heksana:kloroform (4:6) .....	38

16. Spektrum proton NMR kristal F21A .....	39
17. Retention Time (RT) kristal F21A.....	41
18. Kromatogram ID Sampel NVJ F21A waktu retensi 18,41 .....	43
19. Struktur senyawa NVJ F21A .....	45
20. Informasi kromatogram senyawa D <sub>4</sub> -Stigmasterone .....	46
21. <i>Base peak intensity</i> (BPI) fraksi NVJ F21A .....	47
22. Kurva Antidiabetes.....	49

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Determinasi Tumbuhan Damar Mata Kucing .....	59
2. Diagram Alir Penelitian Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder .....	61
3. Bagan uji aktivitas antidiabetes .....	62
4. Bagan Isolasi senyawa metabolit sekunder .....	63
5. Tabel hasil Uji UV-Vis kristal F21A .....	64
6. Perhitungan Uji Antidiabetes kristal F21A .....	65
7. Spektrum $^1\text{H}$ NMR kristal F3 .....	66
8. Spektrum $^1\text{H}$ NMR kristal F21B .....	67
9. Gambar Spektrofotometer H NMR dan LC-MS .....	68
10. Spesifikasi instrument yang digunakan .....	69
11. Proses Isolasi .....	70

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus menjadi salah satu penyakit yang paling banyak diderita oleh masyarakat di dunia, sekitar 90% penyakit diabetes yang diderita adalah DM tipe 2 dan memiliki potensi terus meningkat hingga 439 juta jiwa yang diperkirakan peningkatan ini pada tahun 2030 (Zulhijjah dkk., 2023). Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation (IDF)* menunjukkan bahwa diabetes adalah salah satu masalah kesehatan global yang signifikan, dengan 537 juta orang terdiagnosis dan 6,7 juta kematian terjadi setiap tahunnya. Indonesia menempati urutan kelima dunia dalam jumlah penderita diabetes, dengan 19,47 juta kasus dan prevalensi 10,6% dari populasi masyarakat Indonesia. Diperkirakan pada tahun 2045 di Indonesia akan terjadi peningkatan jumlah penderita diabetes menjadi 28,57 juta sehingga diperlukan penanganan serta upaya pencegahan untuk menekan jumlah penderita diabetes (*American Diabetes Association, 2010*).

Diabetes melitus merupakan kondisi kronis yang disebabkan oleh peningkatan kadar glukosa dalam darah. Kondisi ini terjadi ketika hormon insulin tidak dapat digunakan atau tidak dihasilkan secara efektif oleh tubuh. Insulin adalah hormon penting yang diproduksi oleh pankreas, berfungsi sebagai "kunci" yang membantu glukosa masuk ke dalam sel-sel tubuh untuk diubah menjadi energi. Ketika produksi insulin kurang atau sel tidak mampu merespons insulin dengan baik, glukosa menumpuk di dalam darah, menyebabkan hiperglikemia (kadar gula darah tinggi). Apabila kondisi ini dibiarkan, kadar gula darah yang tinggi secara

terus-menerus dapat merusak berbagai organ tubuh dan memicu komplikasi yang berbahaya, bahkan mengancam nyawa. Beberapa komplikasi tersebut antara lain penyakit kardiovaskular, neuropati, nefropati, penyakit mata, dan kelumpuhan (Hakim dkk., 2023).

Diabetes melitus dikenal sebagai penyakit "pembunuh diam-diam" karena banyak penderita yang tidak menyadarinya sehingga menyebabkan terjadinya penyakit komplikasi lainnya. Metformin adalah obat yang umum digunakan untuk diabetes melitus tipe 2 metformin disebut juga sebagai biguanide. Metformin mulai dikenal pada tahun 1950 dan berasal dari ekstrak tanaman *Galega officinalis*. Metformin berkerja dengan cara menstimulasi glikolisis di jaringan perifer, pengurangan glukoneogenesis di hati, serta perlambatan absorpsi glukosa. Pengobatan diabetes melitus tidak hanya bergantung pada obat terapi sintesis tetapi juga dengan penggunaan obat bahan alam yang dapat membantu menurunkan kadar gula darah. Obat alami antidiabetes bersumber dari senyawa metabolit sekunder yang diisolasi menjadi senyawa aktif. Senyawa metabolit sekunder yang banyak digunakan adalah senyawa flavonoid dan fenolik yang telah murni (Wahyuningsih dkk., 2023).

Pengobatan atau terapi untuk menurunkan kadar gula dalam darah dapat dilakukan dengan berbagai macam cara, salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan menghambat kerja enzim yang menghidrolisis karbohidrat dalam saluran pencernaan. Enzim yang dapat menghambat salah satunya adalah enzim  $\alpha$ -amilase, enzim  $\alpha$ -amilase merupakan suatu enzim yang cara kerjanya memecah molekul besar seperti polisakarida, oligosakarida, dan disakarida menjadi monosakarida yang kemudian diserap oleh tubuh. Penghambatan enzim ini dapat memperlambat waktu penyerapan dan pencernaan glukosa dalam tubuh (Rijai dkk., 2018).

Terdapat beberapa inhibitor enzim seperti *acarbose*, *voglibose*, *nojirimycin* dan *miglitol* yang telah dilaporkan memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim pencernaan dengan menunda penyerapan glukosa dan mengurangi komplikasi vaskular kronis (Lotulung *et al.*, 2014).

Tumbuhan famili *Dipterocarpaceae* dengan genus *Dipterocarpus* memiliki kandungan metabolit sekunder yang beragam terutama oligostilbenoid (oligomer resveratrol), flavonoid, fenilpropanoid, dan turunan asam fenolat, serta golongan non-fenol yaitu triterpenoid. Senyawa ini mempunyai aktivitas biologi yang sangat beragam dan menarik seperti anti-HIV, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan juga sitotoksik. Beberapa senyawa oligomer resveratrol dapat menghambat kerja enzim  $5\alpha$ -reduktase dan enzim asetilkolinesterase. Kajian yang pertama kali dilakukan adalah penggunaan oligomer sebagai obat-obatan tradisional asia (Sotheeswaran *et al.*, 1993). Beberapa senyawa fenolik yang diisolasi dari famili *Dipterocarpaceae* telah dikaji dan memiliki sifat sitotoksik terhadap beberapa sel uji kanker diantaranya adalah vatikanol,  $\alpha$ -viniferin, dan hopaeafenol (Hakim, 2002).

Damar mata kucing salah satu genus dari *Dipterocarpaceae* juga telah banyak diteliti dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antijamur dan antikolesterol. Damar mata kucing mengandung senyawa brasikasterol yang memiliki aktivitas sterol yang dapat digunakan sebagai antikolesterol (Mulyono dkk., 2012). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh tim PKM Pratibha dkk., (2025) diketahui bahwa ekstrak etil asetat dari kulit batang tumbuhan *Hopea mengerawan* menghasilkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 90,184  $\mu\text{g/mL}$ , yang menunjukkan bahwa tumbuhan ini memiliki aktivitas antidiabetes yang kuat. Oleh karena itu, dengan mempertimbangkan berbagai manfaat senyawa-senyawa hasil isolasi dari tumbuhan famili *Dipterocarpaceae*, khususnya dalam potensi antidiabetes, mengidentifikasi dan menganalisis metabolit sekunder yang terkandung dalam kulit batang *S. javanica* melalui penggunaan fraksi *n*-heksana, yang diharapkan dapat memberikan kontribusi penting dalam pengembangan terapi alternatif untuk pengelolaan diabetes. Adanya beberapa kandungan metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid dengan bioaktivitas yang serupa, maka dilakukanlah identifikasi lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa murni dengan menggunakan KLT, yang selanjutnya dilakukan karakterisasi gugus fungsi dengan spektroskopi, serta dilakukan uji bioaktivitas secara *in vitro*.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Memperoleh senyawa hasil Isolasi dari fraksi *n*-heksana kulit kayu damar mata kucing (*Shorea javanica*).
2. Mengetahui hasil uji aktivitas antidiabetes senyawa hasil isolasi secara *in vitro* menggunakan enzim  $\alpha$ -amilase.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dilakukan penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terbaru mengenai studi senyawa metabolit sekunder pada bagian kulit kayu *S. javanica*.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kulit kayu damar mata kucing sebagai obat alternatif aktivitas antidiabetes.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Dipterocarpaceae*

*Dipterocarpaceae* merupakan salah satu tumbuhan yang hidup dan dapat berkembang di Indonesia. Seperti yang telah diketahui Indonesia merupakan suatu negara dengan kekayaan alam yang melimpah dan tersebar dibanyak daerah salah satunya adalah *dipterocarpaceae*, *dipterocarpaceae* memiliki 386 spesies yang tersebar di beberapa negara. *Dipterocarpaceae* memiliki ciri khas kayu hutan tropis yang persebarannya dominan pada hutan tropis yang jarang terjamah oleh manusia seperti hutan-hutan Kalimantan. Akan tetapi sampai saat ini tumbuhan *dipterocarpaceae* yang ada di Indonesia semakin sedikit jumlahnya dikarenakan penebangan yang tidak diimbangi dengan penanaman kembali. Biji tumbuhan yang digunakan sebagai bibit tumbuhan *dipterocarpaceae* ini memiliki sifat rekalsitran yang artinya mudah rusak. Sejarah penyebaran *Dipterocarpaceae* di Indonesia ini tidak merata pada setiap pulau, persebaran yang paling banyak adalah dipulau Sumatera, Kalimantan dan Jawa (Sukendro dan Aisyiyah, 2023).

### 2.2 Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*)

Damar mata kucing (*Shorea javanica*) merupakan suatu tanaman penghasil resin yang dikenal dengan sebutan getah damar. Resin tanaman ini memiliki kualitas dan nilai jual yang tinggi, biasanya digunakan sebagai bahan pembuatan cat, pernis, kaca, tinta, campuran minuman, anti-rayap, anti jamur, serta bahan tambahan pangan lainnya. Menurut sejarahnya damar mata kucing berasal dari provinsi Sumatera Barat dan Sumatera Selatan tepatnya di daerah Martapura (Anasis dan Sari, 2015).

Damar mata kucing adalah tumbuhan dari famili *Dipterocarpaceae*, yang tumbuh dan berkembang di hutan hujan tropis. Salah satu daerah yang banyak ditumbuhi dan budidaya damar mata kucing adalah Lampung khusus nya daerah Pesisir Barat Krui, dikarenakan iklim nya yang tropis, suhu nya 22-30°C dengan curah hujan 2.500-3.000 sehingga mudah tumbuh dan berkembang. Damar mata kucing tidak selalu menghasilkan buah setiap tahunnya, buah dari pohon damar hanya berbuah 4-5 tahun sekali dan buah nya hanya bertahan selama sepuluh hari, ini juga yang menyebabkan damar masih kurang dibudidaya. Resin dari tanaman damar dapat disadap dan digunakan jika pohon usia nya sudah berusia 15- 20 tahun sejak di tanam. Tumbuhan damar mata kucing terlampir pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Pohon *Shorea javanica*

Berikut ini klasifikasi dari damar mata kucing (*Shorea Javanica*) termasuk famili (Bintoro, 2020).

Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Fillum	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledone</i>
Sub Kelas	: <i>Dialypetale</i>
Ordo	: <i>Theales/Guttiferales</i>
Famili	: <i>Dipterocarpaceae</i>
Genus	: <i>Shorea</i>
Species	: <i>Shorea javanica</i>

## 2.3 Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa berbentuk molekul kecil, yang dihasilkan oleh suatu organisme akan tetapi tidak digunakan dalam proses tumbuh tanaman itu sendiri, melainkan digunakan sebagai pertahanan hidup tanaman tersebut. Tidak seperti asam nukleat, polisakarida, dan protein yang merupakan kelompok dasar dalam proses kehidupan. Senyawa metabolit sekunder memiliki beragam jenis dengan struktur yang tentunya sangat bervariasi, contoh senyawa metabolit sekunder adalah tannin, alkaloid, flavonoid, steroid, fenol, glikosida, dan senyawa volatil ataupun minyak yang banyak ditemukan pada buah, sayur dan tumbuhan (Bhattacharjee *et.al.*, 2010).

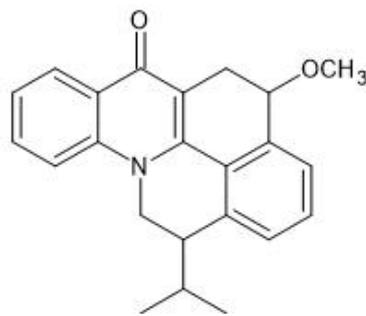
Senyawa metabolit sekunder memiliki beberapa sifat dasar, sehingga untuk melakukan ekstraksi dan isolasi harus dilakukan pemahaman terlebih dahulu agar senyawa metabolit sekunder yang ada didalam tanaman tersebut tidak rusak. Kebanyakan senyawa metabolit sekunder bersifat polar dan semi polar, sehingga dapat larut dengan mudah menggunakan pelarut metanol. Senyawa metabolit sekunder yang larut dalam metanol salah satunya adalah senyawa glikosida (Saifudin, 2014).

Produk senyawa metabolit sekunder banyak digunakan dalam obat-obatan (steroid dan alkaloid), wewangian (aroma), pewarna (alkalin dan shikonin), dan pestisida (nikotin dan rotenon). Senyawa metabolit sekunder merupakan sumber molekul obat yang dapat memberikan efek karakteristik dan aktivitas biologis seperti imunostimulan, antistres, antibakteri, antijamur, antivirus, antiinfeksi, antikolesterol, antikanker, antidiabetes, perangsang nafsu makan, dan efek biologis afrodisiak (Yadav *et al.*, 2012).

### 2.3.1 Alkaloid

Alkaloid adalah suatu senyawa bioaktif dan termasuk dalam senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuhan, yang terdapat dalam keadaan bebas tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik, membentuk

kompleks dengan N-Oksida atau membentuk garam yang mudah larut dalam air. Alkaloid umumnya membentuk suatu kristal yang kemudian bergabung dengan mineral asam, ataupun senyawa asam organik lainnya. Alkaloid yang berbentuk garam biasanya larut dalam alkohol encer juga air, dan berkebalikan dengan alkaloid bebas sehingga tidak larut dalam pelarut organik. Alkaloid umumnya berbentuk heterosiklik yang banyak mengandung oksigen dengan atom karbon, hidrogen, dan nitrogen yang jumlahnya lebih sedikit. Alkaloid memiliki ciri khas yaitu rasanya yang pahit jadi jika ada tumbuhan yang cenderung memiliki rasa pahit kemungkinan besar mengandung senyawa alkaloid yang lumayan tinggi. Dan hampir semua alkaloid memiliki khasiat sebagai bahan utama obat, struktur senyawa golongan alkaloid ditunjukkan pada Gambar 2.



(1)

**Gambar 2.** Struktur senyawa alkaloid hasil isolasi *S. maxwelliana*

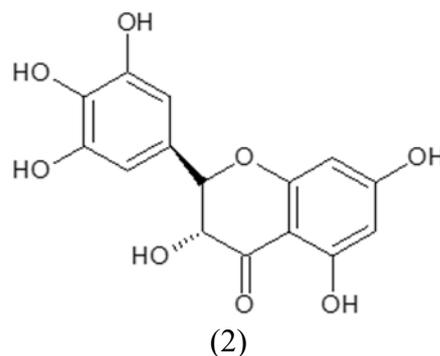
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Zawawi dan Khairunnisa, (2012) didapatkan struktur alkaloid dari tumbuhan *Shorea maxwelliana* King. famili *dipterocarpaceae* yaitu oxoaporphinoid (1) yang dapat digunakan sebagai antisitotoksik, antiinflamasi dan antijamur.

### 2.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan suatu zat fenolik terhidroksilasi yang telah diketahui dan disintesis oleh tanaman sebagai respons terhadap infeksi mikroba. Flavonoid merupakan suatu zat yang berwarna merah, ungu, biru, dan sebagian warna kuning

yang ditemukan dalam tumbuhan. Dalam tumbuhan berwarna hijau pasti terdapat senyawa flavonoid dan senyawa flavonoid bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, butanol, dan air, flavanon yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markhan, 1988).

Flavonoid memiliki kerangka dasar karbon yang terdiri atas 15 atom karbon yang membentuk dua cincin benzena dan satu rantai propana dengan struktur C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Senyawa flavonoid memiliki kerangka yang terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Yoshiko *et al.*, (2011) berhasil diisolasi senyawa ampelopsin (2) dari tumbuhan *Shorea rugosa*. Struktur dari senyawa ampelopsin dapat dilihat pada Gambar 3.



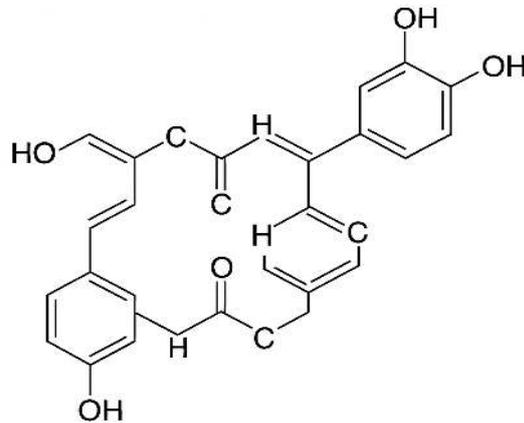
**Gambar 3.** Struktur senyawa flavonoid hasil isolasi *S. rugosa*

Senyawa flavonoid mempunyai sejumlah aktivitas farmakologis yang bermanfaat, termasuk aktivitas antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antivirus, dan bahkan sifat antikanker yang dikaitkan dengan senyawa seperti kaempferol, miristisin, apigenin, luteolin, vitexin, dan isovitexin. (Tapas *et al.*, 2008).

### 2.3.3 Fenolik

Senyawa fenolik didefinisikan sebagai suatu senyawa metabolik sekunder yang berasal dari bahan alam terutama tumbuhan, yang terdiri atas cincin aromatik

yang mengandung gugus hidroksil. Fenolik berguna sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, antimikrobia dan melindungi dari penyakit jantung. Senyawa fenolik memiliki antioksidan yang baik, digunakan dalam penurunan ROS (*Reactive Oxygen Species*) penurunan ROS ini disebabkan karena banyaknya gugus hidroksil(-OH) antioksidan yang ada dalam senyawa fenolik dapat memutus rantai radikal bebas. Senyawa fenolik terdiri dari kombinasi mono dan polisakarida yang berikatan dengan satu atau lebih gugus fenol. Senyawa fenol cenderung larut dalam air dan berikatan dengan glikosida. Gugus-gugus OH pada fenolik dapat menyumbangkan atom H yang digunakan sebagai donor pada radikal bebas (Mahardina dan Yunita, 2021).



(3)

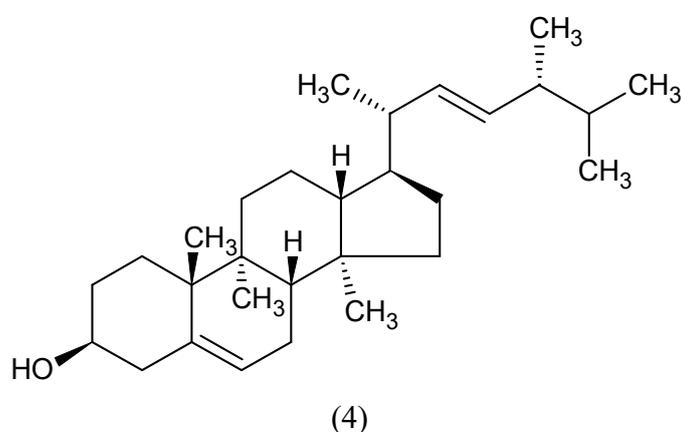
**Gambar 4.** Struktur senyawa fenolik hasil isolasi *S. seminis*

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Aminah dkk., (2002) berhasil diisolasi senyawa  $\epsilon$ -viniferin (3) dari tumbuhan famili *dipterocarpaceae* yaitu *Shorea seminis* struktur dari senyawa  $\epsilon$ -viniferin dapat dilihat pada Gambar 4.

### 2.3.4 Steroid

Steroid merupakan suatu golongan senyawa triterpenoid, yang terdiri dari inti siklopentana polihidrofenantrena yang memiliki struktur tiga cincin sikloheksan dan satu cincin siklopentena. Steroid memiliki peran penting untuk menjaga

keseimbangan garam, mengendalikan metabolisme dan juga meningkatkan fungsi organ (Nasrudin, 2017). Steroid termasuk dalam senyawa metabolit sekunder yang memiliki kerangka struktur berbentuk cincin aromatik berjumlah empat, yang terdiri dari tiga cincin heksagonal dan satu cincin pentagonal yang terikat menjadi satu. Steroid terdiri dari 6 atom karbon sedangkan cincin pentagonal terdiri dari 5 atom karbon, cincin yang terikat bersama ini membentuk suatu struktur yang stabil dan kaku, struktur inilah yang membedakan dengan struktur senyawa metabolit sekunder lainnya (Setyo-boedi dkk., 2024).



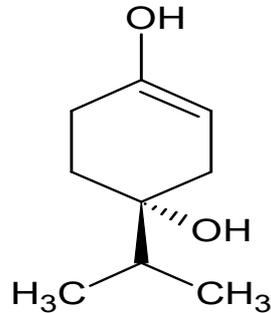
**Gambar 5.** Struktur senyawa steroid hasil isolasi *S. javanica*

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Mulyono dkk., (2020) telah berhasil diisolasi senyawa brasikasterol (4) dari tumbuhan damar mata kucing dari famili *dipterocarpaceae*, senyawa ini didapatkan dari hasil isolasi resin damar mata kucing Pada Gambar 5. dapat dilihat struktur senyawa brasikasterol.

### 2.3.5 Terpenoid

Terpenoid termasuk dalam senyawa metabolit sekunder (senyawa kimia aktif) yang memiliki efek fisiologis dan farmakologis, senyawa ini didapatkan pada tumbuhan. Kandungan utama pada terpenoid adalah minyak atsiri, resin dan aktivitas biologi lainnya yang berguna sebagai antibakteri, penghambat sel kanker, inhibisi pada sintesis kolesterol, antiinflamasi, gangguan menstruasi dan lainnya. Terpenoid terdiri dari karbon, hidrogen, oksigen yang membentuk

senyawa aromatis. Senyawa terpenoid dipisahkan dengan isolasi dari suatu bahan nabati, terpenoid umumnya larut dalam lemak dan kebanyakan memiliki struktur siklik dengan satu gugus fungsi atau lebih (Resa, 2024).

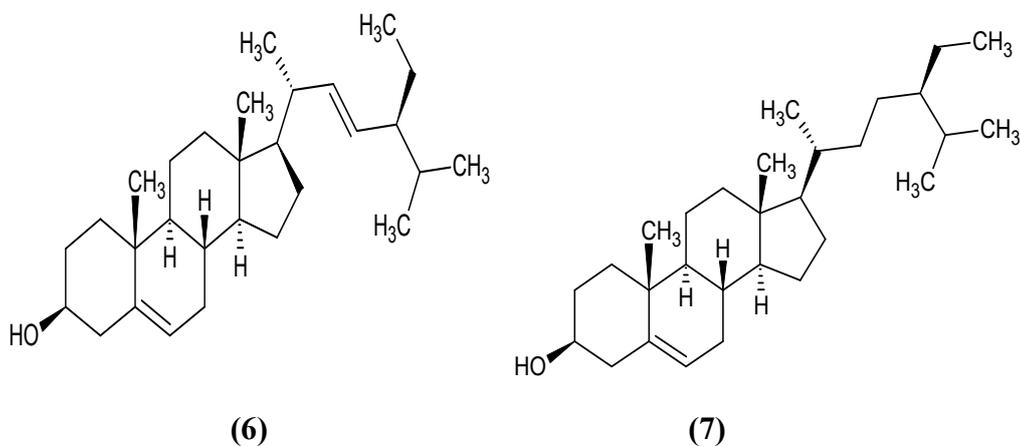


(5)

**Gambar 6.** Struktur senyawa terpenoid hasil isolasi *Dryobalanops*

Terpinen-4-ol (6) merupakan salah satu contoh senyawa yang berhasil diisolasi oleh Tsumura *et al.*, (2011) dari tumbuhan *Dryobalanops aromatica* tumbuhan dari famili *dipterocarpaceae*. Senyawa ini merupakan golongan dari terpenoid yang memiliki manfaat sebagai antiinflamasi. Struktur senyawa terpinen-4-ol dapat dilihat pada Gambar 6.

#### 2.4 Komponen Kimia Dipterocarpaceae



**Gambar 7.** Struktur senyawa hasil isolasi *S. javanica*

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh (Mulyono dkk.,2012) yang mengisolasi komponen kimia pada getah tanaman damar mata kucing *S. javanica*, telah diperoleh 3 senyawa utama, yaitu  $\beta$ - sitosterol (6), dan stigmasterol (7) serta komponen kimia lainnya. Struktur kimia dari senyawa tersebut terlampir pada Gambar 7. Beberapa ilmuwan telah mengklasifikasikan senyawa metabolit sekunder berdasarkan sejauh mana dan seberapa banyak tumbuhan tersebut tersebar di alam. Contoh golongan metabolit sekunder, adalah alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, tannin, steroid, dan minyak atsiri.

## 2.5 Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

Isolasi merupakan suatu teknik pemisahan senyawa metabolit sekunder yang ada pada bahan alam. Proses dan cara kerja isolasi terdiri dari beberapa tahap yaitu ekstraksi, fraksinasi serta pemurnian, dan identifikasi. Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan senyawa kimia yang ada pada sampel bahan alam dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip metode ekstraksi berdasarkan pada distribusi zat terlarut terhadap pelarutnya, hasil dari ekstraksi disebut ekstrak (Ilyas, 2013).

Ekstraksi terdiri atas beberapa metode, yaitu maserasi, fraksinasi, sokletasi, perlokasi, refluks dan destilasi uap. Contoh metode ekstraksi yang sederhana adalah maserasi yang banyak digunakan baik dalam skala kecil maupun industri (Koirewoa dkk., 2012). Prinsip dari ekstraksi adalah *like dissolve like* yang dimana senyawa dari sampel akan larut dalam pelarut yang memiliki kepolaran serupa. Ekstraksi terdiri dari dua jenis yang didasarkan pada fase nya, yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat-cair. Metode yang dipilih pada saat ekstraksi tergantung pada karakteristik bahan dan senyawa yang akan diisolasi (Sarker *et al.*, 2006).

Metode maserasi atau disebut juga ekstraksi padat-cair adalah metode pemisahan senyawa yang dilakukan dengan perendaman menggunakan pelarut organik pada suhu ruang (Karina dkk., 2016). Metode maserasi baik digunakan untuk suatu senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga kerusakan pada

komponen senyawa dapat dihindari. Tujuan utama ekstraksi senyawa adalah untuk mendapatkan hasil optimal dalam jumlah ekstrak maupun senyawa aktif dengan cara pemisahan tingkat kepolarannya (Harbone, 1972).

Fraksinasi merupakan suatu proses pemisahan senyawa kimia dari ekstrak yang menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda, fraksinasi disebut juga dengan partisi atau ekstraksi cair-cair. Biasanya hasil ekstrak metanol yang telah dipekatkan dilakukan proses partisi secara bertingkat dengan pelarut yang digunakan adalah *n*-heksana, etilasetat, kloroform, dan butanol (Saifudin, 2014).

Macam-macam metode partisi yaitu :

a. Partisi cair-cair

Partisi cair-cair dapat dilakukan dengan menggunakan corong pisah, suatu ekstrak yang telah dilarutkan dengan pelarut lain kemudian ditambahkan dengan pelarut lain yang memiliki kepolaran berbeda, maka akan terbentuk dua lapisan. Senyawa kimia yang memiliki massa jenis lebih besar akan berada dilapisan bawah, dan suatu senyawa yang memiliki massa jenis lebih kecil akan berada dilapisan atas.

b. Partisi padat-cair

Partisi padat-cair adalah suatu pemisahan atau suatu komponen dari padatan dengan cara melarutkannya dengan pelarut, komponen lainnya tidak dapat larut dengan pelarut tersebut. Proses partisi padat-cair ini banyak dilakukan untuk pemisahan minyak dari bahan utamanya yang mengandung minyak (Ibrahim, 2009).

## 2.6 Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan yang diperkenalkan oleh seorang ahli botani, Mikhail Tswett pada tahun 1906. Kromatografi adalah teknik pemisahan suatu campuran yang berdasarkan pada kecepatan perambatan atau gerak dari suatu komponen dengan media tertentu. Komponen pada kromatografi akan dipisahkan menjadi dua yaitu fase gerak dan fase diam (Evilina, 2020).

### 2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis atau sering disebut juga dengan KLT adalah suatu teknik pemisahan suatu senyawa yang menggunakan adsorben sebagai fasa *stationer* nya. Adsorben ini berupa lapisan tipis komponen seragam seperti silika yang direkatkan pada plat lempeng kaca, plat aluminium ataupun plastik yang berbentuk datar. Proses identifikasi KLT biasanya digunakan dalam menentukan komponen kimia hasil fraksinasi, menggunakan sistem campuran yang dilakukan dengan penambahan pelarut tertentu. Eluen yang dipilih dalam proses pengelusan harus sesuai agar pola pemisahan dapat terlihat dan eluen tersebut dapat menarik senyawa target yang akan diisolasi. Eluen yang dipilih juga tidak selalu cocok harus ada *trial and error* untuk mendapatkan eluen yang sesuai, eluen yang digunakan juga umumnya terdiri dari dua pelarut yang memiliki tingkat kepolaran berbeda. Hasil dari KLT ini kemudian diidentifikasi kembali dengan reagen serium sulfat untuk memperjelas bercak atau noda yang telah terbentuk pada plat. KLT umumnya bertujuan untuk mengetahui atau menentukan banyaknya komponen kimia dalam suatu senyawa (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hasil jarak pemisahan suatu senyawa yang telah ada pada plat KLT tergantung pada tingkat kepolarannya. Senyawa yang memiliki sifat semi polar dan tidak polar jarak pemisahannya akan jauh dari jarak awal penotolan. Sedangkan senyawa yang bersifat polar akan berada dekat dengan jarak awal penotolan. Jarak pemisahan ini disebut juga dengan nilai RF yaitu, suatu nilai yang menyatakan jarak pengembangan yang terjadi pada komponen senyawa. Hasil noda pada plat KLT bergantung pada tingkat kepolaran eluen, eluen yang bersifat polar akan menghasilkan nilai RF yang besar, karena sifat dari plat yang digunakan adalah polar, dan jika eluen yang digunakan nonpolar maka akan semakin kecil nilai RF nya (Sastrohamidjojo, 2002).

$$RF = \frac{\text{jarak tempuh sampel}}{\text{jarak tempuh pelarut}}$$

### 2.6.2 Kromatografi Cair Vakum

Kromatografi cair vakum adalah salah satu bentuk kromatografi kolom yang banyak digunakan dalam fraksinasi kasar yang cepat terhadap suatu ekstrak. Kondisi vakum sendiri digunakan untuk mempercepat aliran dari fase gerak yang berjalan dari atas ke bawah. KCV umumnya digunakan sebagai fraksinasi awal untuk sampel yang bersifat non polar dan semi polar (Raymond, 2005). Metode KCV dipilih karena dapat digunakan untuk memisahkan sampel dalam jumlah besar dengan waktu yang relatif singkat. prinsip kerja KCV adalah dengan absorpsi dan partisi, kolom akan diisi dengan fase diam lalu kemudian divakum dengan alat vakum agar fase gerak yang ada pada kolom yang berupa eluen dapat bergerak turun dan mengelusi komponen kimia yang terkandung pada sampel, komponen kimia akan keluar dalam bentuk fraksi-fraksi yang lebih sederhana (Syafitri dan Ersam, 2016).

Kromatografi Cair Vakum memiliki beberapa bagian alat seperti, corong buchner dengan kaca masir yang kemudian diisi dengan fase diam yaitu keadaan yang akan terus-menerus berlanjut dan menghasilkan suatu kerapatan yang maksimum dengan tekanan rendah yang dapat meningkatkan laju alir dari fase gerak. Eluen yang digunakan pada saat kromatografi cair vakum memiliki beberapa urutan berdasarkan tingkat kepolarannya seperti pada Tabel 1. Vakum dapat dihentikan dengan cara kepolaran pelarut yang rendah dituangkan ke permukaan absorbent lalu dihisap kembali dengan vakum hingga silika menjadi kering dan siap dipakai (Hostettman *et al.*, 1995).

Beberapa metode partisi yaitu :

a. Cara basah

Tahap pertama yang dilakukan adalah fase diam dilarutkan dalam fase gerak yang akan digunakan. Campuran tersebut lalu dimasukkan kedalam kolom usahakan agar campuran diletakkan secara merata, lalu fase gerak dibiarkan mengalir hingga fase diam terbentuk (fase diam harus rata dan tetap), dan terakhir laju aliran dihentikan.

## b. Cara Kering

Adsorben atau fase diam yang digunakan pada KCV dimasukkan kedalam kolom, lalu basahi dengan pelarut yang akan digunakan. (Hostettman *et al.*, 1995).

**Tabel 1.** Urutan Tingkat kepolaran pelarut .

<i>n</i> -heksan	
Sikloheksana	
Karbon tetraklorida	
Benzena	
Toluena	
Metilen Klorida	
Kloroform	
Etil Asetat	
Aseton	
<i>n</i> -propanol	
Etanol	
Metanol	
Air	

Sumber : Gritter *et al.*, 1991.

### 2.6.3 Kromatografi Kolom Gravitasi

Kromatografi yang berfungsi untuk memisahkan fraksinasi ekstrak disebut dengan kromatografi kolom. Kromatografi Kolom gravitasi (KKG) dapat digunakan untuk fraksinasi ekstrak kasar maupun halus, dalam pemisahan ekstrak kasar fase diam yang digunakan berupa silika halus yang dimasukkan kedalam kolom dalam bentuk larutan. Pelarut yang digunakan adalah pelarut organik. Untuk pemisahan yang lebih halus yang digunakan adalah fase diam yang bersifat polar. Ada beberapa macam ukuran silika yang dapat digunakan dalam kromatografi kolom, yaitu:

1. 40-63 $\mu$ m (230-400 Mesh), banyak digunakan dalam berbagai aplikasi.
2. 63-200  $\mu$ m (70-230 Mesh), sering digunakan pada kolom gravitasi.

Ukuran lebih kecil dari 40  $\mu$ m banyak digunakan untuk Kromatografi Lapis Tipis (Saifudin, 2002).

## 2.7 Karakterisasi dengan Spektrofotometri

Spektrofotometri merupakan suatu metode analisis, yang digunakan dalam menganalisis dan mengidentifikasi senyawa, dengan menggunakan alat instrumen berupa spektrofotometer. Cara atau prinsip kerja dari spektrofotometer adalah berdasarkan pada pengukuran transmittan, absorben atau sampel. Umumnya metode spektrofotometri bekerja dengan membandingkan serapannya dengan larutan zat yang akan diuji, sesuai dengan standar prosedur dengan serapan dari larutan standar yang digunakan sebagai acuan (Silverstain *et al.*, 1991). Pada penelitian ini digunakan tiga jenis alat spektrofotometer, yaitu Spektrofotometer *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS), NMR, dan UV-Vis.

### 2.7.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis salah satu instrumen kimia yang digunakan sebagai pengukuran antara panjang gelombang dan sinar ultraviolet serta cahaya tampak yang kemudian diabsorpsi oleh sampel. Energi yang dimiliki oleh sinar ultraviolet dan sinar tampak dapat mempromosikan elektron kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi.

**Tabel 2.** Serapan sinar dan Warna Spektrofotometri UV-Vis

Serapan Sinar dan Zat Warna (nm)	Warna yang Diteruskan	Warna yang Diserap
400-435	Ungu	Hijau-Kekuningan
435-480	Biru	Kuning
480-490	Biru-Kehijauan	Jingga
490-500	Hijau-Kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu-Kemerahan
560-580	Hijau-Kekuningan	Ungu
580-595	Kuning	Biru
595-610	Jingga	Biru-Kehijauan
610-750	Merah	Hijau-Kebiruan

Sumber : Day dan Underwood, 2001

Rentang Panjang gelombang sinar ultraviolet adalah 200-400 nm, sedangkan sinar tampak (Visible) adalah 400-800 nm (Dachriyanus, 2004). Serapan sinar dan warna pada sepektrofotometri UV-Vis terlampir pada Tabel 2.

### 2.7.2 Spektrofotometri NMR

**Tabel 3.** Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra  $^1\text{H}$ -NMR

Type Gugus	Pergeseran Kimia $^1\text{H}$ ( $\delta$ ) (ppm)
C-CH <sub>3</sub> (alkana)	0,5-2
C $\equiv$ C-H (alkuna)	2,5-3,5
H <sub>3</sub> C-O- (eter)	3,5-3,8
H <sub>2</sub> 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
-COOH	11,5-12,5

Sumber : Sudjadi, 1985

**Table 4.** Letak Pergeseran Kimia dalam Spektra  $^{13}\text{C}$ -NMR

Type Gugus	Pergeseran Kimia $^{13}\text{C}$ ( $\delta$ ) (ppm)
C=O (keton)	205-220
C=O (aldehid)	190-200
C=O	170-185
RCH <sub>2</sub> OH	50-65
RCH <sub>2</sub> Cl	40-45
RCH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	37-45
R <sub>3</sub> CH	25-35
CH <sub>3</sub> CO-	20-30
R <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	16-25
RCH <sub>3</sub>	10-15

Sumber : Sudjadi, 1985

Spektrofotometri NMR suatu teknik analisis kimia yang digunakan untuk menentukan struktur molekul. NMR mengabsorpsi dengan radiasi elektromagnetik daerah frekuensi radio, berdasarkan sifat-sifat sampel. Pergeseran kimia  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR terlampir pada Tabel 3. dan 4. NMR mengabsorpsi dengan radiasi elektromagnetik daerah frekuensi radio, berdasarkan sifat-sifat

sampel. Plot akan membentuk frekuensi puncak absorpsi dengan intensitas puncak dan muncul sebagai suatu spektrum NMR. NMR dapat digunakan untuk menentukan struktur baik komponen alami maupun sintetik (Sastroamidjojo, 1994).

### 2.7.3 Spektrofotometer *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS)

*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) merupakan metode analisis yang mengkombinasikan teknik kromatografi cair dengan spektrometri massa untuk memisahkan, dan menganalisis berbagai senyawa dalam campuran yang kompleks. Teknologi ini memiliki sensitivitas dan selektivitas yang tinggi, serta mampu mendeteksi senyawa dalam konsentrasi yang sangat kecil, bahkan hingga skala nanogram maupun pikogram (Niessen, 2006). Teknik pada LC, pemisahan senyawa dilakukan berdasarkan perbedaan tingkat afinitas senyawa terhadap fase diam dan fase gerak. Setelah pemisahan, senyawa-senyawa tersebut dianalisis lebih lanjut menggunakan spektrometri massa (MS), yang bekerja dengan mengukur rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) (Dong, 2006). Disebabkan oleh kemampuannya dalam mendeteksi senyawa yang bersifat polar, tidak mudah menguap dan sensitif terhadap suhu tinggi yang sulit dianalisis menggunakan GC-MS (Kaufmann, 2012). Dalam studi senyawa alam, LC-MS berperan penting dalam menentukan struktur senyawa hasil isolasi dan memperoleh informasi massa molekul secara presisi sebagai dasar untuk penentuan struktur molekul

Kromatografi Cair-Spektrometri Massa (LC-MS) adalah gabungan dua teknik analitik canggih: Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) atau Ultra Kinerja Tinggi (UHPLC) dan Spektrometri Massa (MS). Penggabungan ini menggabungkan kekuatan pemisahan sampel yang efisien dari kromatografi cair dengan kemampuan identifikasi dan kuantifikasi yang akurat dari spektrometri massa. Secara terpisah, kedua teknik ini memiliki keterbatasan. Sebaliknya, Spektrometri Massa unggul dalam mengidentifikasi molekul, tetapi memerlukan sampel yang relatif murni untuk analisis yang tepat. Dengan menggabungkan keduanya, LC-MS mengatasi kelemahan, yang memungkinkan pemisahan dan

identifikasi molekul secara simultan dalam sampel yang kompleks.  
(Watson dan Sparkman, 2007).

## 2.8 Uji Secara *In Vitro*

Uji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase secara *in vitro* bertujuan untuk menilai penurunan kemampuan enzim dalam mengubah pati menjadi glukosa. Enzim  $\alpha$ -amilase berperan penting dalam mengkatalisis pemecahan ikatan 1,4-glikosidik pada pati, yang kemudian diubah menjadi glukosa dan dapat diserap tubuh. Jika kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal, kondisi ini dapat menyebabkan diabetes melitus. Dalam pengobatan diabetes melitus, salah satu terapi farmakologi yang dapat digunakan adalah obat sintetik, seperti *acarbose*, yang bekerja menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase (Alfiani, 2022).

## 2.9 Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah (gula darah) melebihi batas normal, yaitu 200 mg/dl dan kadar gula saat puasa 126 mg/dl (Misnadiarly, 2006). *Silent Killer* adalah salah satu julukan yang diberikan untuk penyakit DM ini, karena penyakit ini muncul tanpa disadari oleh penderita dan saat diperiksa penderita telah menyanggang penyakit komplikasi yang mematikan. DM juga merupakan salah satu penyakit yang dapat menyerang seluruh sistem metabolit manusia dan apabila sudah menderita penyakit DM maka penderita pasti akan terserang penyakit komplikasi yang mematikan. *International Diabetes Federation* (IDF) menyatakan bahwa prevalensi penyakit DM telah mencapai 1,9% dan menyebabkan DM menjadi salah satu penyakit yang dapat menyebabkan kematian terbesar ke-7 dunia. Pada tahun 2013 sebanyak 382 juta jiwa mengidap penyakit DM dengan 85-90% mengidap DM tipe 2 (Hestiana, 2017).

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit kelainan heterogen yang menyebabkan terjadinya kenaikan kadar gula dalam darah atau sering disebut juga

dengan hiperglikemia. Saat kondisi tubuh normal glukosa yang masuk dan bersumber dari makanan akan disirkulasikan dalam darah, dan diatur oleh insulin. Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh pankreas yang digunakan sebagai pengontrol penyimpanan dan pembentukan glukosa. Dalam tubuh penderita DM sel-sel yang seharusnya memproduksi insulin berhenti dan tidak lagi merespon sehingga mengakibatkan kadar gula meningkat atau hiperglikemia, jika dibiarkan terus-menerus kondisi seperti ini akan mengakibatkan muncul penyakit komplikasi lain dan neuropatik (Damayanti, 2015).

Diabetes melitus dibagi kedalam dua tipe yaitu DM tipe 1 (*Insulin Dependent Diabetes Melitus/IDDM*) dan DM tipe 2 (*Non-Insulin Dependent Diabetes Melitus/NIDDM*). Dan diabetes tipe lain yaitu DM Gestasional. Umumnya DM tipe 1 disebabkan karena faktor genetik yang sudah dimiliki sejak kecil. DM tipe 1 merupakan suatu gangguan autoimun yang menyebabkan munculnya kerusakan sel-sel  $\beta$ -Langerhans Pankreas. Kerusakan sel ini menyebabkan pankreas kurang mampu menghasilkan insulin, sehingga jumlah insulin dalam tubuh berkurang atau bahkan tidak ada sama sekali. Kurangnya insulin dalam tubuh mengakibatkan kadar gula tidak dapat dikontrol dengan baik sehingga jumlahnya meningkat dalam darah atau hiperglikemia. Penderita DM tipe 1 memerlukan insulin dari luar (eksogen), yang diberikan melalui suntikan (Bustan, 2015). Diabetes melitus tipe 2 banyak diderita pada orang dewasa, hal ini disebabkan oleh kerusakan atau degenerasi organ dan juga faktor gaya hidup yang tidak sehat. dari fungsi sel  $\beta$ -pankreas dan juga kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, efek samping obat atau zat kimia, infeksi, dan sindrom genetik lainnya. DM Gestasional dapat menyerang pada saat masa kehamilan dan banyak menyerang pada saat trisemester kedua dan ketiga (*American Diabetes Association, 2010*).

Obat oral dan terapi insulin banyak digunakan sebagai pertolongan pertama kondisi hiperglikemia atau diabetes. Akan tetapi penggunaan obat secara terus menerus dapat menyebabkan efek samping. Obat tradisional merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan oleh penderita DM karena obat herbal lebih memiliki efek samping yang minim dan diperoleh dari bahan alami sehingga aman

digunakan pada jangka panjang (Prameswari dan Wijanarko, 2014).

Salah satu cara yang dapat dilakukan untuk pengobatan diabetes melitus adalah dengan menghambat enzim yang terlibat dalam hidrolisis karbohidrat disaluran pencernaan. Beberapa senyawa aktif tanaman obat telah banyak ditemukan dan diteliti dan terbukti memiliki kemampuan untuk menghambat enzim  $\alpha$ -amilase. Enzim  $\alpha$ -amilase dapat memecah molekul pati yang besar dan tidak larut menjadi disakarida menjadi monosakarida. Inhibitor enzim membatasi terjadinya pencernaan karbohidrat makanan, sehingga penyerapan gula sederhana yang menyebabkan rendahnya kadar glukosa postprandial dalam darah. Selain itu ekstrak herbal lain pun banyak yang memiliki antioksidan yang dapat digunakan sebagai obat diabetes (Rahimi *et al.*, 2016).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober-Maret 2025, yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Determinasi sampel dilakukan di Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Analisis Spektroskopi UV-Vis, serta uji bioaktivitas antidiabetes dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Analisis Spektroskopi NMR dilakukan di Laboratorium NMR, Institut Teknologi Bandung. Dan analisis LC-MS dilakukan di Laboratorium Forensik, Sentul, Bogor.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, alat-alat gelas, peralatan destilasi, *rotary vaccum evaporator*, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Kolom (KK), lampu UV, pipa kapiler, neraca analitik, penangas air, mikropipet, inkubator, mikrotip, Spektrofotometer Uv-VIS, spektrofotometer NMR dan LC-MS.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, sampel kulit kayu damar mata kucing yang diperoleh di Pesisir Barat, Krui, Lampung Selatan pada tanggal 22 November 2023. Kulit batang ini kemudian dihaluskan dan dikeringkan sampai berbentuk serbuk. Pelarut yang digunakan untuk

mengekstraksi sampel adalah Metanol, bahan kimia lain yang digunakan adalah *n*-heksana, etil asetat, metanol, aseton, aquades, silika gel Merk G-60 . Bahan yang digunakan dalam uji antidiabetes yaitu enzim  $\alpha$ -amilase, *acarbose*, larutan pati, larutan iodine, HCl, dan pelarut *Dimethyl sulfoxide* (DMSO).

### **3.3 Prosedur Penelitian**

#### **3.3.1 Preparasi Sampel**

Sampel kulit kayu damar mata kucing (*S. javanica*) dideterminasi di Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Sampel yang telah diperoleh kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (jangan sampai terpapar sinar matahari secara langsung) pengeringan dengan cara diangin-anginkan ini bertujuan agar kandungan metabolit sekunder yang didalamnya tidak rusak. Sampel kulit kayu yang telah kering kemudian dihaluskan dengan cara diblender hingga berbentuk serbuk halus. Penghalusan ini dilakukan agar permukaan sampel lebih kecil sehingga memudahkan saat proses ekstraksi.

#### **3.3.2 Ekstraksi Menggunakan Metode Maserasi**

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan penggunaan sampel sebanyak 2 kg, sampel halus diekstraksi dengan pelarut metanol selama 24 jam dengan tiga kali pengulangan. Filtrat hasil maserasi kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring lalu diukur volume filtrat yang didapat dengan gelas ukur. Filtrat yang telah disaring kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary vaccum evaporator* dengan suhu 55°C hingga berbentuk kental lalu ditimbang untuk menentukan berat sampel. Kemudian sampel pekat dipartisi menggunakan pelarut *n*-heksana untuk mendapatkan fraksi metanol-air dan fraksi *n*-heksana. Kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotary vaccum evaporator*.

### 3.3.3 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara melarutkan ekstrak yang telah dipekatkan dengan metanol, lalu kemudian hasil larutan dimasukkan kedalam corong pisah. Selanjutnya ditambahkan pelarut *n*-heksana kedalam corong pisah. Goncangkan labu sambil sesekali buka kran untuk mengeluarkan gas yang ada pada campuran larutan. Terakhir buka penutup corong agar kedua lapisan terbentuk dan kemudian didiamkan 10 menit. Setelah 10 menit buka kran dan tampung larutan fraksi kedalam vial, lapisan yang memiliki berat jenis besar akan berada dilapisan bawah.

### 3.3.4 Kromatografi Cair Vakum

Ekstrak pekat yang telah ditimbang kemudian difraksinasi melalui proses metode Kromatografi Cair Vakum (KCV). Tujuan dari metode KCV ini adalah untuk memisahkan ekstrak sampel dalam jumlah yang besar. KCV sendiri memiliki prinsip dasar dengan cara mendistribusi partikel lain dalam fase diam. Pada penelitian ini fase diam yang digunakan adalah silika gel halus dengan berat 10 kali dari berat sampel. Silika gel halus kemudian dimasukkan kedalam kolom yang sudah dalam kondisi vakum dengan alat *vaccum evaporator*, hingga silika menjadi memadat tanpa ada rongga. Kemudian ditambahkan eluen yang memiliki kepolaran rendah gunanya untuk melumasi silika, lalu kemudian divakum kembali. Ekstrak pekat dilarutkan dengan menggunakan pelarut aseton, lalu kemudian diimpregnasi dengan silika gel kasar dengan berat dua kali dari berat sampel awal. Lalu hasil impregnasi sampel dimasukkan kedalam kolom yang sebelumnya telah dimasukkan silika gel halus (fase diam), kolom siap digunakan. Pengelusian sampel dilakukan dengan eluen etil asetat atau *n*-heksana, lalu kolom dihisap dengan vakum hingga kering setiap kali eluen ditambahkan tujuannya untuk memisahkan fraksi-fraksi yang ada pada sampel. Proses fraksinasi ini dilakukan berulang kali dengan cara kerja yang sama. Fraksi-fraksi yang terpisah kemudian dipisahkan dengan pola pemisahan yang dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (Dianti dkk., 2021).

### 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis dilakukan untuk menentukan dan melihat pola pemisahan suatu senyawa yang ada pada ekstrak kasar dan juga fraksi-fraksi hasil KCV. Pemisahan dengan KLT dilakukan pada plat silika sebagai fase diam dan fase gerak nya dapat disesuaikan dengan hasil yang didapat saat KCV. Fraksi hasil KCV kemudian ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler. Lalu plat yang telah ditotol sampel dielusi dengan eluen *n*-heksana dan etil asetat dengan perbandingan tertentu. Setelah itu plat yang telah dielusi diamati dengan menggunakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pada Panjang gelombang 254 nm biasanya lebih efektif menunjukkan atau mendeteksi senyawa non polar, sedangkan pada panjang gelombang 366 nm lebih efektif mendeteksi senyawa polar dan senyawa kompleks (Wulandari, 2011).

Hasil noda yang telah disinari lampu UV, disemprot dengan reagen Serium sulfat, setelah itu nilai RF (*Reterdatin factor*). Fraksi yang memiliki pola pemisahan dan RF yang sama kemudian digabungkan untuk dilakukan tahap fraksinasi berikutnya dengan menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG).

### 3.3.6 Kromatografi Kolom

Fraksi-fraksi yang telah dikelompokkan menjadi lebih sedikit kemudian dipisahkan dengan kromatografi kolom. Pada penelitian ini digunakan fase diam dan fase gerak, dengan fase diamnya adalah silika gel Merck (35-40 Mesh). Sebelum digunakan silika gel dilarutkan dengan pelarut untuk proses elusi, campuran dari silika gel dan pelarut disebut *slurry* (Pratiwi dan Ersan, 2013). Sampel hasil impregnasi dengan silika kasar sebanyak 2 kali berat sampel kemudian dimasukkan kedalam kolom yang telah berisi fase diam. Saat sampel didalam kolom, kondisi silika fase diam tidak boleh kering, hal ini dikarenakan dapat mengganggu fase diam yang telah mencapai kerapatan dan proses elusi pun menjadi terganggu. Kolom yang telah berisi sampel dan fase diam dielusi dengan eluen yang sesuai, hasil yang diperoleh ditampung ke dalam vial-vial.

### 3.3.7 Analisis Kemurnian

Analisis kemurnian pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode KLT dengan beberapa campuran eluen. Suatu senyawa dikatakan murni apabila noda yang muncul pada plat KLT hanya satu noda setelah melalui pengelusan dan juga telah disemprot reagen serium sulfat, penyemprotan reagen serium sulfat bertujuan untuk memperjelas dan melihat besar tidaknya konsentrasi senyawa.

### 3.3.8 Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer

Alat yang digunakan untuk analisis spektrofotometri yaitu, spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometri Resonansi Magnetik Nuklir (NMR), dan Spektrofotometri *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS).

#### a. Spektrometer Resonansi Magnetik Nuklir (NMR)

Kristal murni dari sampel dilarutkan dengan aseton dan ditambahkan dengan senyawa acuan. Lalu dimasukkan larutan kedalam tabung gelas dengan ketebalan sekitar 5 mm yang berada diantara tengah-tengah kumparan frekuensi radio (rf). Kemudian energi yang dihasilkan dari medan magnet radio frekuensi (rf) diterapkan terus menerus. Energi yang diserap sampel dengan frekuensi tertentu dari medan magnet radio frekuensi akan direkam dan menghasilkan spektrum NMR.

#### b. Spektrofotometer LC-MS

Analit dipisahkan dalam kolom kromatografi cair kemudian diionisasi dan dipisahkan lagi berdasarkan perbandingan massa dengan muatan ( $m/z$ ) dari masing-masing ion, sebelum diteruskan pada spektrometer massa yang selanjutnya akan dibaca oleh detektor.

#### c. Spektrofotometer UV-Vis

Sebanyak 0,2 mg kristal murni hasil isolasi dilarutkan dengan 20 mL metanol, larutan ini dapat digunakan dalam beberapakali pengukuran. Dibuat larutan

standar dengan konsentrasi tertentu sebagai larutan acuan atau sebagai larutan pembanding.

### 3.3.9 Uji Aktivitas Antidiabetes

Pada penelitian ini uji antidiabetes dilakukan dengan cara mengukur aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase dengan sampel ekstrak yang diuji secara *in vitro*. Sampel ekstrak sebanyak 4 mg sampel dilarutkan dengan 2 mL pelarut DMSO 5% dengan beberapa variasi konsentrasi (20, 40, 80, dan 100 ppm). Dibuat larutan pati 1% dengan cara melarutkan 0,15 g pati dalam 15 mL aquades kemudian dipanaskan dan larutan menjadi berwarna bening. Terdapat 4 jenis larutan yaitu larutan uji sampel ( $A_1$ ) yang dibuat dengan cara 0,25 mL larutan sampel ditambahkan dengan beberapa variasi konsentrasi (20, 40, 60, 80, dan 100 ppm) dan ditambahkan enzim  $\alpha$ -amilase dalam tabung reaksi lalu dihomogenkan. Larutan blanko sampel ( $A_2$ ) dibuat dengan cara 0,25 mL larutan sampel dengan beberapa variasi konsentrasi ditambahkan dengan 0,25 mL H<sub>2</sub>O kedalam tabung reaksi. Larutan kontrol ( $A_3$ ) dibuat dengan cara dimasukkan 0,25 mL enzim  $\alpha$ -amilase dan 0,25 mL H<sub>2</sub>O kedalam tabung reaksi lalu dihomogenkan. Larutan blanko ( $A_4$ ) dibuat dengan cara dimasukkan H<sub>2</sub>O 0,5 mL. Kemudian seluruh larutan ini didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit, lalu setelah didiamkan larutan tersebut ditambahkan dengan larutan pati 1% sebanyak 0,25 mL dan diinkubasi selama kurang lebih 30 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi semua larutan tersebut ditambahkan dengan larutan HCl 1 N, 0,25 mL larutan iodide, dan 4 mL H<sub>2</sub>O. Kemudian diukur absorbansi seluruh larutan dengan spektrofotometri Uv-Vis dengan Panjang gelombang 600 nm. Kontrol positif yang dapat digunakan pada penelitian ini adalah akarbosa, dengan langkah dan cara kerja sama seperti pengujian (Mwakalukwa *et al.*, 2020).

Perhitungan inhibisi dapat dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = \left[ 1 - \frac{(A_2 - A_1)}{(A_4 - A_3)} \right] \times 100\%$$

Keterangan :

A1 = Absorbansi rata-rata dari larutan sampel + pati + enzim

A2 = Absorbansi rata-rata dari larutan sampel + pati tanpa enzim

A3 = Absorbansi rata-rata dari larutan pati + enzim

A4 = Absorbansi rata-rata dari larutan pati tanpa enzim

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

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

1. Telah berhasil diisolasi senyawa D<sub>4</sub>-Stigmasterone sampel NVJ F21A dari fraksi *n*-heksana kulit batang tumbuhan damar mata kucing (*S. Javanica*) dengan kristal berwarna putih sebanyak 20 mg dan dikarakterisasi dengan spektrofotometer <sup>1</sup>H-NMR dan LC-MS.
2. Berdasarkan hasil uji antidiabetes menunjukkan bahwa senyawa NVJ F21A dari fraksi *n*-heksana memiliki potensi aktivitas antidiabetes kuat dengan nilai *IC*<sub>50</sub> 51,58 µg/mL.

### 5.2 Saran

Untuk penelitian mendatang, disarankan untuk mengoptimalkan proses ekstraksi dengan meningkatkan jumlah serbuk kulit batang *Shorea javanica*. Peningkatan skala ekstraksi ini diharapkan dapat menghasilkan jumlah senyawa murni yang lebih substansial, yang akan sangat mendukung upaya karakterisasi lebih lanjut atau pengujian aktivitas biologis pada skala yang lebih besar. Selain itu, peningkatan ketelitian dalam tahap pencucian kristal sangat direkomendasikan untuk menjamin kemurnian senyawa yang lebih tinggi, yang krusial untuk validitas data bioaktivitas.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S. A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam, Materi 4: Ilmu Kimia Flavonoid*. Karunia Universitas Terbuka. Jakarta.
- Anjum, A., Kuddus, M. R., Al Mansur, A., Hasan, M. C., and Haque, M. E. 2021. Phytochemical and Biological Investigation of *Bridelia tomentosa* Blume Growing in Bangladesh. *Dhaka University J. Phar. Sci.* **20**(2): 213–218.
- Alfiani, L. A. 2022. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim  $\alpha$ -amilase oleh Ekstrak Herba Ciplukan (*Physalis Angulate* L) Secara *In Vitro*. *J. Ilm. Wahana. Pend.* **8**(15): 335-346.
- American Diabetes Association (ADA). 2010. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care.* 24-62.
- Aminah, N. S., Achmad, S. A., Aimi, N., Ghisalberti, E. L., Hakim, E. H., Kitajima, M., dan Takayama, H. (2002). Diptoindonesin A, a new C-glucoside of  $\epsilon$ -viniferin from *Shorea seminis* (*Dipterocarpaceae*). *Fitoterapia.* **73**(6): 501–507.
- Anasis, M. A. dan Sari, M. Y. A. R. 2015. Perlindungan Indikasi Geografisterhadap Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) sebagai Upaya Pelestarian Hutan (Studi di Kabupaten Pesisir Barat Provinsi Lampung). *J. Hum.* **22**(4): 566-539.
- Bhattacharjee, I., Chatterjee, S. K., and Chandra, G. 2010. Isolation and Identification Of Antibacterial Components In Seed Extracts Of *Argemone Mexicana* L. (*Papaveraceae*). *Asian Pac. J. Trop. Med.* **3**(7):547551.
- Bintoro, A. 2020. Analisis Kondisi Tegakan Damar (*Shorea javanica*) Di Universitas Lampung Pada Masa Penanaman 2005. *Talenta Conference Series: Agricultural and Natural Resources (ANR).* **3**(1): 25-31.
- Birbi, N. 2008. Pharmalogical Activity of Alkaloids: A review. *Asian J. Botany.* **1**(1):1-6.
- BPOM. 2019. *Peraturan BPOM Nomor 32 Tahun 2019 Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional*. BPOM. Jakarta.

- Bustan, M. N. 2015. *Manajemen Pengendalian Penyakit Tidak Menular*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Unand Press. Padang.
- Darwati, D., Tsamrotul, A., Herlina, T., Mayanti, T., Nurlelasari, N., Haikal, K., & Supratman, U. 2019. Triterpenoids from the Bark of *Garcinia porecta* and Their Cytotoxic Activity against MCF-7 Breast Cancer Lines. *Alchem: J. Riset Saintek*. **15**(1): 1–9.
- Damayanti, S. 2015. *Diabetes melitus dan penatalaksanaan keperawatan Nuha Medika*. Yogyakarta.
- Dephut. 2010. *Peraturan Menteri Kehutanan Nomor P.6/Menhut-II/2010, tanggal 26 januari 2010 tentang Norma Standar, Prosedur dan Kriteria Pengelolaan Hutan Pada Kesatuan Pengelolaan Hutan Lindung (KPHL) dan Kesatuan Pengelolaan Hutan Produksi (KPHP) (Dephut, Ed.)*. Departemen Kehutanan. Jakarta.
- Dianti, P., Dila, Q. N., Elsyah, M., Putri, W., dan Syfa, D. A. 2021. Isolasi senyawa kumarin pada tanaman. *Syntax Idea*. **3**(1): 1576–1585.
- Dong, M. W. 2006. *Modern HPLC for Practicing Scientists*. NJ: John Wiley & Sons. Hoboken.
- Ergina, N., dan Pursitasari, P. I. 2014. Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J Akad Kim*. **3**(3). 165–172.
- Erwan, E., Fitra, D., Irawati, E., Putra, N. S., dan Fauza, F. A. 2024. *Tanin pada Pakan Unggas*. Mega Press Nusantara. Sumedang.
- Evilina, D. 2020. *Materi dan Kimia Unsur*. Alprin. Semarang.
- Fessenden, R. J. dan Fessenden, J. S. 1986. *Kimia Organik, Jilid 2. Edisi Ketiga*. Erlangga. Jakarta.
- Gandjar, I. G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Analisis Farmasi*. Pustaka Belajar. Yogyakarta.
- Gritter, R. J., Bobbit, J. M., and Schwarting, A. E. 1991. *Pengantar Kromatografi*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. ITB. 266.
- Harborne, J. B. 1972. *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall Ltd. USA.

- Hakim, P. E., Siahaan, M. J., dan Anto, J. E. 2023. *Potensi Antidiabetes Dan Poliferasi Jaringan Ekstrak Daun Suruhan (Peperomia Pellucida L.Kunth)*. PT Arr rad Pratama. Cirebon.
- Hakim, E.H. (2002). Oligostilbenoids dari tumbuh-tumbuhan Dipterocarpaceae. *Bulletin of Indonesian Society on Natural Product Chemistry*. **2**(1): 1-19.
- Hestiana, D. W. 2017. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan Kepatuhan dalam Pengelolaan Diet Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus Tipe 2 di Kota Semarang. *J. Health Edu*. **2**(2): 138-145.
- Hostettman, K., Hostettman, M., dan Manson, A. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Senyawa Bahan Alam*. Alih Bahasa oleh Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung. 27-34.
- Ibrahim. 2009. *Ekstraksi*. Sekolah Farmasi. ITB. Bandung.
- Ilyas. 2013. Senyawa Golongan 2-arylbenzofuran dan Stilben dari Ekstrak Metilen Klorida (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) daun *Artocarpus fretessi* Hassk. *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*. **7**(1): 1–9.
- Kamariah, A.S., Ozek, T., Demirci, B., and Baser, K.H.C. 2012. Chemical composition of leaf and seed oils of *Dryobalanops aromatica* Gaertn, (*Dipterocarpaceae*). *ASEAN J. Sci. Tech. Dev*. **29**(2): 105-114.
- Karina, I. Y., dan Sirait S. M. 2016. Kadar Tanin Biji Pinang (*Areca catechu* L.) Berdasarkan Lama Pemanasan dan Ukuran Serbuk. *J Hut. Lestari*. **4**(1): 119–127.
- Kaufmann, A. 2012. The current role of high-resolution mass spectrometry in food analysis. *J. Anal. Bioanal. Chem*. **403**(5): 1233–1249.
- Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, C. A., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S.W. A., dan Nurchayati, Y. 2023. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. *J. Buletin Anat. Fisiol*. **8**(1): 61-70.
- Khairunissa, N., and Zawawi.N.A. 2012. *Phytochemical studies and bioactivities of Xylopia ferruginea* Hook. (*Annonaceae*) and *Shorea maxwelliana* King (*Dipterocarpaceae*). Master's thesis. Universiti Teknologi MARA.
- Koirewoa, Y. A., Fatimawali, dan Indayany, W. 2012. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (Pluchea indica L.)*. Universitas Samratulangi. Manado.
- Kusmiyati, M., Sudaryat, Y., Rismiarti, Z., dan Dewita Sari, E. (2023). Uji Aktivitas Ekstrak Daun dan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antidiabetes melalui Inhibisi  $\alpha$ -Amilase. *J. Riset Kes. Poltekkes*

*Depkes Bandung*. **15**(1): 163–171.

- Lotulung, P. D. N., Mozef, T., Risdian, C., and Darmawan, A. 2014. In Vitro antidiabetic activities of extract and isolated Flavonoid compounds from *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg. *Ind. J. Chem.* **14**(1):7–11.
- Mahardina, O. T., dan Yunita L. 2021. Efek metode pengolahan dan penyimpanan terhadap kadar senyawa fenolik dan aktivitas antioksidan. *Unesa J. Chem.* **1**(10): 64-78.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Alih Bahasa Kosasih Padmawinata. ITB. Bandung. 39-53.
- Makakalag, K. A., Sangi, M., dan Kumaunang, M. 2015. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol dari daun Turi (*Sesbania grandiflorapers*). *Chem. Prog.* **8**(1): 38–46.
- Misnadiarly. 2006. *Diabetes mellitus, Mengenali Gejala, Menanggulangi, Mencegah Komplikasi*. Pustaka Populer Obor. Jakarta.
- Mulyono, N., Wijaya, C. H., Fardiaz, D., dan Rahayu, W. S. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Damar mata kucing (*Shorea javanica*) dengan Metode Pirolisi GC/MS. *J. Natur In.* **14**(2): 155-159.
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., and Shimizu, K. 2020. Postprandial Hyperglycemia Lowering Effect of the Isolated Compouds from Olive Millwastes an Inhibitory Activity and Kinetics Studies on  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase Enzymes. *ACS Omega*. **5**. 20070-20079.
- Nasrudin, N. 2017. Isolasi Senyawa Steroid dari kulit akar Senggugu (*Clerodendrum Serratum* L. Moon). *J. Pharmacoon.* **6**(3): 332-340.
- Niessen, W. M. A. 2006. *Liquid Chromatography–Mass Spectrometry* Third Edition. FL: CRC Press. Boca Raton
- Prameswari, O. M. dan Widjanarko, S.B. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. *J. Pangan Argoin.* **2**(2): 16-27.
- Pratiwi, A., dan Ersan, T. 2013. Uji Kemurnian Dua Senyawa dari Ekstrak Metanol Kayu Batang *Garcinia cylindrocarpa*. *J. Sains Seni.* **2**(1): 1–4.
- Rahimi, M. M., Malekpour-Tehrani A, Bahmani, M., and Rafieian, M. 2016. The Research and Development on the Antioxidants in Prevention of Diabetic Complications. *Asian Pacific J. Trop. Med.* **6**(9): 825–831.

- Raymond, C. 2005. *Kimia dasar: Konsep-konsep Inti jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Resa, F. R. 2024. *Panduan Analisis Tumbuhan Obat*. Wawasan Indonesia. Banyumas.
- Rijai, A. J., Suganda, A. G., dan Iskandar, E. Y. 2018. Aktivitas Inhibitor Alfa-amilase Beberapa Tumbuhan Obat Indonesia. *J. Sains Kes.* **1**(10):517-524.
- Saifudin, A. 2002. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*. CV Budi Utama. Solo.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Deepublish. Yogyakarta.
- Sarker, S. D., Latif, Z., and Gray, A. 2006. *Natural Products Isolation (2nd ed.)*. Humana Press Inc. New Jersey.
- Sari, R. K. 2002. *Isolasi dan Identifikasi Komponen Bioaktif dari Damar Mata Kucing (Shorea javanica K.et.V)*. Doctoral diss Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Sastrohamidjojo, H. 1994. *Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (Nuclear Magnetic Resonance(NMR))*. Liberty. Yogyakarta.
- Setyoboedi, B., Prihaningtyas, R. A., Nesa, N. N. M., Winahyu, A. K., Hanum, S. M. F., Farahdina, Rahmah, F. N., Nuzula, T. M., dan Octariyandra, S. M. 2024. *Kajian Patofisiologi pada Atresia Bilier dan Peluang Tata Laksana Baru*. Unair Press. Surabaya.
- Silverstein, R. M., Bassler, G. C., And Morrill, T. C. 1991. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. John Wiley and Sons. New York.
- Slamet, S. 2016. *Diabetes Melitus di Indonesia Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*. PAPDI. Jakarta.
- Sotheeswaran, S., Sultanbawa, M.U.S., Surendrakumar, S., and Bladon, P., (1983). Polyphenols from *Dipterocarpaceae* species copalliferol A and stemonoporol. *J. Chem. Soc. Perkin Trans L.* **4**(1): 699-702.
- Sukendro, A., dan Aisyiyah, S. 2023. Systematic Review: Sejarah Persebaran dan Konservasi Famili *Dipterocarpaceae* Melalui Perbanyakan Vegetatif. *J. Silvikultural Trop.* **14**(2): 168-175.
- Syafitri, I. F. dan Ersam, T. 2016. Senyawa Sikloartobilosanton dari Kulit Akar *Artocarpus elasticus*. *J. Sains Seni.* **5**(2): 2337-3520.
- Tapas, A. R., Sakarkar, D. M., and Kakde, R. B. 2008. Flavonoids as Nutraceuticals : A review. *Trop. J. Pharm. Res.* **7**(3): 1089–1099.

- Watson, J. T. and Sparkman, O. D. 2007. *Introduction to Mass Spectrometry: Instrumentation, Applications, and Strategies for Data Interpretation*. John Wiley & Sons.
- Wahyuningsih, E. S., Sukmawati, I., Septiani, R. A., Winarti, S.A., dan Ikhtianingsih, W. 2023. Keefektifan pengobatan diabetes mellitus secara obat sintesis dan bahan alam :Literatur Review artikel. *J. pharmacol.* **6(1)** : 81-85.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Persindo. Jember.
- Yadav, R., Arora, P., and Chaushury, A. 2012. *Plant Secondary Metabolite: From Diseases to Health*. Bentham Science Publisher. UEA.
- Tsumura, Y., Kado, T., Yoshida, K., Abe, H., Ohtani, M., Taguchi, Y., Fukue, Y., Tani, N., Ueno, S., and Yoshimura, K. 2011. Molecular database for classifying *Shorea* species (*Dipterocarpaceae*) and techniques for checking the legitimacy of timber and wood products. *J. Plant Research.* **124(1)**: 35–48.
- Zawawi, N. A. dan Khairunissa, N. 2012. Isolation and characterization of compounds from the *Annonaceae* and *Shorea maxwelliana* King. (*Dipterocarpaceae*). *J. Trop. For. Sci.* **24(2)**: 215-220.
- Zulhijja, F., Abidin, Z., Wati, A. 2023. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak Etanol biji Alpukat (*Persea americana* Mill.) secara *In Vitro* dengan menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Makassar Pharm. Sci. J.* **1(2)**: 57-65.