

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI METANOL KULIT BATANG DAMAR MATA KUCING
(*Shorea javanica*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS
ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO***

(Skripsi)

Oleh

**RITA ANA PRISTIANI
2117011028**



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

ABSTRAK

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DARI FRAKSI METANOL KULIT BATANG DAMAR MATA KUCING (*Shorea javanica*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*

Oleh

Rita Ana Pristiani

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang terus meningkat secara global. Tanaman obat tradisional menjadi salah satu alternatif pengobatan yang potensial, termasuk tanaman *S. javanica* dari famili *dipterocarpaceae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder pada fraksi metanol kulit batang *S. javanica* serta menguji aktivitas antidiabetes melalui inhibisi enzim α -amilase secara *in vitro*.

Proses isolasi dilakukan dengan metode maserasi, fraksinasi, dan pemurnian menggunakan Kromatografi Cair Vakum (KCV) serta Kromatografi Kolom Garvitasi (KKG). Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS), dan uji aktivitas antidiabetes menggunakan *Spectrophotometry* UV-Vis.

Sebanyak 2,0101 g fraksi 7 hasil KCV diKKG dan didapatkan sebanyak 23 botol UC, kemudian digabung menjadi 7 fraksi. Setelah itu fraksi 4 hasil KKG fraksi 7 di KKG kembali dan didapatkan sebanyak 24 botol UC yang digabung menjadi 7 fraksi. Lalu fraksi 4 (fraksi 9-13) hasil KKG fraksi 4 dikarakterisasi dan didapatkan senyawa *copalliferol* B yang berbentuk kristal berwarna coklat pekat sebanyak 150 mg dari fraksi metanol. Uji aktivitas menunjukkan bahwa *copalliferol* B memiliki aktivitas antidiabetes yang lemah, dengan nilai IC_{50} sebesar 193,402 μ g/mL.

Kata kunci : *Shorea javanica*, *copalliferol* B, metabolit sekunder, antidiabetes.

ABSTRACT

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SECONDARY METABOLITES FROM THE METHANOL FRACTION OF THE SKIN OF BARK DAMAR MATA KUCING (*Shorea javanica*) WITH ANTIDIABETIC BIOACTIVITIES DRYING IN VITRO

By

Rita Ana Pristiani

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease that continues to increase globally. Traditional medicinal plants, including *S. javanica* from the Dipterocarpaceae family, are a potential alternative treatment. This study aimed to isolate and identify secondary metabolites in the methanol fraction of *S. javanica* stem bark and to test their antidiabetic activity through in vitro inhibition of the α -amylase enzyme. The isolation process was carried out using maceration, fractionation, and purification methods using Vacuum Liquid Chromatography (VLC) and Gravity Column Chromatography (GCC). Compound identification was performed using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS), and antidiabetic activity was tested using UV-Vis Spectrophotometry. A total of 2.0101 g of fraction 7 from KCV in KKG obtained 23 bottles of UC then combined into 7 fractions, after that fraction 4 from KKG fraction 7 in KKG again and obtained 24 bottles of UC combined into 7 fractions. Then fraction 4 (fraction 9-13) from KKG fraction 4 was characterized and obtained *copalliferol* B compound in the form of dark brown crystals as much as 150 mg from the methanol fraction. Activity test showed that *copalliferol* B has weak antidiabetic activity, with an IC_{50} value of 193.402 μ g/mL.

Key words : *Shorea javanica* Koord. & Valetton, *Copalliferol* B, secondary metabolites, antidiabetic

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI METANOL KULIT BATANG DAMAR MATA KUCING
(*Shorea javanica*) SERTA UJI BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES SECARA
*IN VITRO***

Oleh

RITA ANA PRISTIANI

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

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



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

Judul Skripsi

: **ISOLASI DAN IDENTIFIKASI
SENYAWA METABOLIT SEKUNDER
DARI FRAKSI METANOL KULIT
BATANG DAMAR MATA KUCING
(*Shorea javanica*) SERTA UJI
BIOAKTIVITAS ANTIDIABETES
SECARA *IN VITRO***

Nama Mahasiswa

: Rita Ana Pristiani

Nomor Pokok Mahasiswa

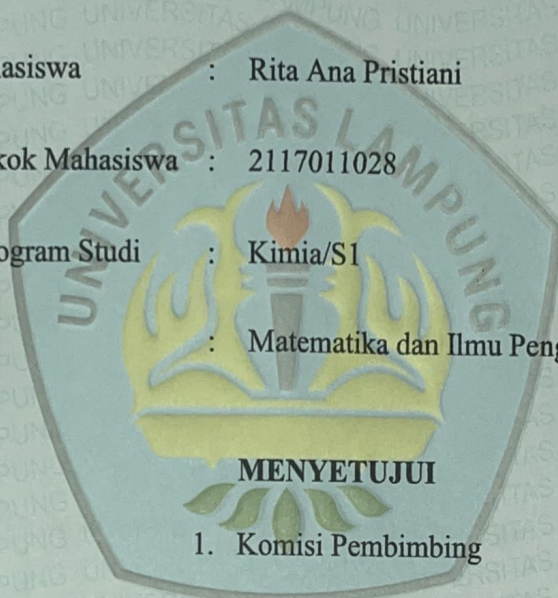
: 2117011028

Jurusan/Program Studi

: Kimia/S1

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



1. Komisi Pembimbing

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

Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D.
NIP.197104151995121001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

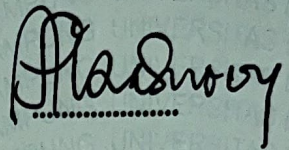
Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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



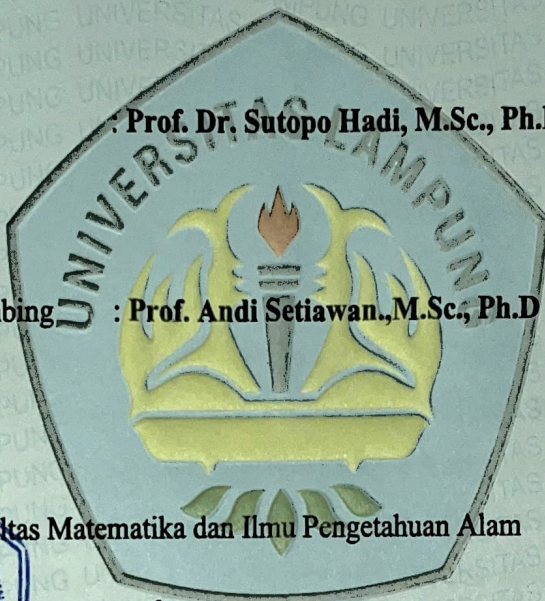
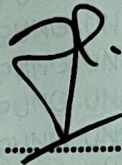
Sekretaris

: Prof. Dr. Sutopo Hadi, M.Sc., Ph.D.



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 : 14 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rita Ana Pristiani
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011028
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul **"Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Metanol Kulit Batang Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) serta Uji Bioaktivitas Antidiabetes secara *In Vitro*"** adalah benar karya saya sendiri, baik dari gagasan, hasil dan analisisnya. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data didalam skripsi ini digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 14 Agustus 2025
Yang menyatakan



Rita Ana Pristiani

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Rita Ana Pristiani, lahir di Pampangan pada tanggal 28 Januari 2003. Penulis merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara pasangan dari Bapak Mujani dan Ibu Suparmi. Penulis mengawali pendidikan formal pertama kali di TK Miftahul Ulum pada tahun 2008-2009, lalu melanjutkan pendidikan di SD N 1 Pampangan pada tahun 2009-2015, pendidikan selanjutnya yaitu di SMP N 1 Sekincau pada tahun 2015-2018, dan dilanjutkan dengan 3 tahun pendidikan di SMA N 1 Sekincau yang selesai pada tahun 2021. Pada tahun 2021 penulis diterima sebagai mahasiswa di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) sebagai anggota biro penerbitan pada tahun 2022 dan anggota Sosmas pada tahun 2023. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Daerah Rejo Mulyo 1, Jati Agung, Lampung Selatan pada 2 Januari-11 februari 2024. Pada Juli-Agustus 2024 penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis juga pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik pada Agustus-November 2024.

Pada tahun 2025 penulis telah menyelesaikan tugas akhir untuk mendapatkan gelar sarjana dengan membuat skripsi yang berjudul “Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Metanol Kulit Batang Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) serta Uji Bioaktivitas Antidiabetes secara *In Vitro*”.

MOTTO

“Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya “
(Q.S. Al-Baqarah:286)

“sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”
(Q.S. Al-Insyirah:5)

“Barang siapa bertakwa kepada Allah, maka dia akan menjadikan jalan keluar baginya dan memberikan rezeki dari jalan yang ia tidak sangka, dan barang siapa melaksanakan kehendak-Nya, sungguh Allah telah mengadakan ketentuan bagi setiap sesuatu”
(Q.S. At-talaq: 2-3)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang
Puji Syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya
dengan penuh rasa syukur dan dengan segala kerendahan hati penulis
mempersembahkan skripsi ini kepada :

Orang Tua, Saudara dan Saudari Tercinta

Terima kasih atas segala kehangatannya selama penulis pulang dari perantauan,
cinta dan kasih sayang, dukungan, dan do'a yang selalu mengiringi setiap langkah
penulis

Team Dosen pembimbing dan Pembahas

Yang senantiasa memberikan masukan dan arahan dalam menyelesaikan tugas
akhir ini

Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila

Atas segala ilmu dan pelajaran berharga yang diberikan selama menempuh
pendidikan di dunia perkuliahan

Sahabat-Sahabat Terbaik

Yang selalu menjadi pendengar terbaik, serta saksi hidup setiap langkah penulis
dalam menyelesaikan studi

Almamater Universitas Lampung

SANWACANA

Alhamdulillah bi ni'matihi tatimush-shalihat. Segala puji hanya milik Allah Rabb semesta alam, dzat yang Maha Sempurna dan tidak ada sesembahan yang berhak disembah dengan benar kecuali Allah *Azza wa Jalla*. La hawla walaa quwwata illa billah, atas berkat pertolongan dan izin Allah yang Maha Agung, penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Shalawat serta salam penulis juga haturkan kepada Rasulullah Muhammad *Shalallahu alaihi wa sallam*, beserta keluarganya, sahabatnya, para tabi'in dan para pengikut yang senantiasa istiqomah di jalan sunnahnya hingga akhir zaman. Skripsi dengan judul **“Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi Metanol Kulit Batang Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) serta Uji Bioaktivitas Antidiabetes secara *In Vitro*”** ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

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

1. Insan yang sangat amat berharga dan didalam hidup ku dan yang aku cintai karena Allah, Ibunda Suparmi dan Ayahanda Mujani yang telah mendidik dan merawatku dengan cinta yang begitu tulus serta tidak pernah sedikitpun lelah memberikan kasih sayang, pengorbanan yang tidak ternilai harganya. Terima kasih atas segala doa yang dilangitkan, arahan , dan semangat yang selalu diberikan kepadaku. Semoga Allah memberikan keberkahan umur, kebahagiaan dunia dan akhirat.

2. Saudara dan saudariku yang aku cintai, Mayeh, mas Gun, mba Mona, mba Ji, Sela, Yoga, Basir, Agung, Dema, Anggi, Bibik Sri, Lek Katiman, Lek Beson, Riana, Chessa, Kaila, Gavin, dan Gavi yang memberikan kehangatan ketika penulis pulang dari perantauan, semoga sehat selalu.
3. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing 1 yang begitu sabar dalam mendidik, membimbing, mendidik, mengarahkan dan memotivasi serta memberikan banyak pelajaran baru yang begitu berharga kepada penulis sejak awal penelitian hingga dapat menyelesaikan penelitian ini. Semoga Allah memberikan kelimpahan kebaikan kepada beliau, dimudahkan segala hajatnya, dan diberikan kesehatan serta diberkahi dalam segala hal.
4. Bapak Prof. Sutopo Hadi, M.Sc, Ph.D. selaku dosen pembimbing 2 yang telah berkenan membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan memberikan masukan serta saran yang sangat berguna bagi penulis. Semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan beliau
5. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembahas dan pembimbing akademik, terima kasih atas bantuan, saran, dan masukannya serta motivasinya selama perkuliahan dalam kemudahan akademik dan penelitian sehingga penulis dapat memperbaiki kekurangan-kekurangan dalam skripsi ini. Semoga Allah memberikan kemudahan dan keberkahan serta membalas kebaikan beliau
6. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Lampung,
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si, selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Teman-teman seperjuanganku Diah Vio Rahmadanti, Inggit Pratiwi putri Setyaningrum, Julia Putri, dan M. Govindo Ibra Pratibha yang selalu

membantu, memberikan motivasi setiap kali penulis mengalami kesulitan baik di dunia perkuliahan maupun di kehidupan sehari-hari, memberikan semangat dan meyakinkan penulis bahwa penulis mampu untuk melewati setiap masalah dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik, serta selalu mendampingi penulis selama masa penelitian. Terima kasih banyak untuk segala hal baik dan afirmasi positif yang diberikan kepada penulis semoga kalian selalu dalam perlindungan Allah SWT.

9. Temanku sahabatku selama masa perkuliahan Ni Luh Indrya Kusuma Dewi terima kasih sudah menemani, kebersamaan penulis selama ini, memberikan banyak motivasi kepada penulis, memberikan banyak bantuan serta selalu merayakan hal-hal kecil kepada penulis. Bahagia selalu dan terima kasih banyak Indri semoga banyak hal-hal baik selalu menyertai kamu.
10. Kepada Apriadi Yustiawan yang selalu menemani penulis dari awal perkuliahan hingga skripsi ini selesai, dan memberikan banyak bantuan dengan penuh ketulusan. Terima kasih atas segala dukungan yang tidak ternilai.
11. Teman-teman perkuliahanku Eny ratnawati, Anggun Marchella, Marshanda Nur Wahyu Ningtyas, Nida Roufiqoh, dan Nur Khasanah terima kasih untuk setiap motivasi dan bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
12. Kepada teman-teman remaja halal ku, Pina Pitri, Anisatul Mahmudah dan Putri Fadilah yaang telah yang selalu menghibur dan menemani penulis selama ini. Semoga persahabatan kita tetap terjaga dengan baik.
13. Partner Lab Organik, Mba Armi, Mba Rista, Kak Bayu, Kak Dilla, Kak Angel, Kak Vio, dan Kak Muti yang telah membantu penulis ketika mengalami kesulitan saat melakukan penelitian di dalam lab.
14. Seluruh *Chemistry*'21 terima kasih atas segala kebersamaan dan kenangan nya selama 4 tahun, semoga kesuksesan dan keberkahan selalu mengiringi kalian.
15. Semua rekan-rekan penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu atas do'a, motivasi, dan semangatnya sehingga penulis bisa menyelesaikan study dan skripsi ini dengan baik.
16. Terakhir, teruntuk diriku sendiri terima kasih sudah bertahan dan berjuang sejauh ini serta mampu menyelesaikan apa yang telah dimulai. Semoga ilmunya bermanfaat dan dapat membanggakan orang-orang tersayang.

Penulis menyadari bahwa penelitian ini masih terdapat kekurangan ataupun kesalahan. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan saran yang bersifat membangun agar penelitian ini dapat dikembangkan lebih baik lagi kedepannya. Semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang membutuhkan dalam peningkatan wawasan dan keterampilan.

Bandar Lampung, 14 Agustus 2025

Rita Ana Pristiani
NPM. 2117011028

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI.....	xvi
DAFTAR TABEL	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
2.1. <i>Dipterocarpaceae</i>	5
2.2 <i>Shorea javanica</i>	6
2.3 Senyawa Metabolit Sekunder	8
2.3.1 Alkaloid	9
2.3.2 Steroid.....	11
2.3.3 Flavonoid	11
2.3.4 Saponin	13
2.3.5 Terpenoid.....	13
2.3.5 Fenolik	15
2.4 Ekstraksi	17
2.4.1 Ekstraksi Padat Cair.....	17
2.4.2. Ekstraksi Cair-Cair	21

2.5 Fraksinasi.....	21
2.6 Kromatografi	22
2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	22
2.6.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	23
2.6.2 Kromatografi Kolom (KK).....	25
2.7 Spektroskopi.....	25
2.7.1 Spektrofotometri UV-Vis	26
2.7.2 LCMS	27
2.8 Diabetes Melitus (DM).....	28
2.9 Pengujian secara <i>In Vitro</i>	29
III. METODE PENELITIAN	32
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.2. Alat dan Bahan	32
3.3. Prosedur Penelitian.....	33
3.3.1. Preparasi sampel	33
3.3.2. Ekstraksi	33
3.3.4 Fraksinasi.....	33
3.3.5 . Kromatografi Cair Vakum (KCV).....	34
3.3.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	34
3.3.7. Kromatografi Kolom (KK).....	35
3.5 Analisis Senyawa dengan LC-MS/MS.....	36
3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes	36
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.2 Ekstraksi Sampel	37
4.3 Kromatografi Cair Vakum (KCV)	38
4.4 Kromatografi Kolom Gravitasi (KKG)	41

4.5 Analisis Spektrum LC-MS/MS	49
4.6 Fragmentasi ion <i>copalliferol</i> B.....	53
4.5 Antidiabetes.....	55
V. SIMPULAN DAN SARAN	57
5.1 Kesimpulan.....	57
5.2 Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN.....	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pohon <i>Shorea javanica</i> Koord & Valetton	7
2. Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman dari tanaman <i>Shorea maxwelliana King</i>	10
3 Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman <i>Shorea roxburghi</i>	11
4 Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman <i>Shorea robusta</i>	13
5 Stuktur senyawa hasil isolasi dari tanaman <i>Shorea teysmanniana</i>	15
6. Struktur senyawa hasil isolasi dari kulit batang <i>Shorea seminis</i> V.Sl	16
7. KCV fraksi metanol	39
8. KLT hasil KCV (a) UV 366 nm, (b) UV 254 nm (c) KLT setelah disemprot serum sulfat	40
9. KLT hasil penggabungan KCV (a) UV panjang gelombang 366 nm, (b). UV panjang gelombang 254 nm, (c) setelah disemprot serum sulfat	41
10 Proses kromatografi kolom gravitasi (KKG)	42
11. KLT hasil KKG fraksi 3,4, dan 5 (a) UV 366 nm (b) UV 254 nm (c) setelah disemprot serum sulfat	42
12. KLT penggabungan KKG pertama hasil KCV (a). UV 366 nm (b). UV 254 nm (c). setelah disemprot serum sulfat	43
13. KLT penggabungan fraksi 8 dan 9 (a). UV 366 nm (b) UV 254 nm (c) setelah disemprot serum sulfat	43
14. KLT hasil KKG pemurnian fraksi 8 dan 9 (a UV 366 nm -fraksi 5 (b) UV 254 nm (c) setelah disemprot serum sulfat	44
15. KLT hasil KKG fraksi KCV (Fraksi 7) (a). UV 366 nm (b) UV 254 nm (c)	

setelah disemprot serum sulfat.....	45
16. KLT penggabungan hasil KKG fraksi KCV (fraksi 7) (a). UV 366 nm (b) UV254 nm (c). Setelah disemprot serum sulfat.....	46
17. KLT hasil KKG fraksi 5 (a) UV 366 nm (b) UV 254 nm (c) setelah disemprot serum sulfat.....	47
18. KLT hasil penggabungan fraksi 9-13 (a). UV 366 nm (b) UV 254 nm (c) setelah disemprot serum sulfat.....	48
19. Kristal copalliferol B.....	48
20. <i>Base Peak Intensity</i> (BPI)	49
21. Kromatogram ID Sampel NVR.....	50
22. Informasi Kromatogram ID Sampel NVR pada website hmdb.ca.....	51
23. Senyawa copalliferol B	52
24. Mekanisme fragmentasi senyawa copalliferol B	54
25. Kurva % inhibisi α amilase	56

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penggabungan Fraksi Hasil KCV	41
2. Penggabungan Fraksi Hasil KKG.....	46
3. Penggabungan Hasil KKG Ketiga.....	47
4. Puncak Kromatogram BPI dengan %fit Tertinggi.....	51
5. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Determinasi Tumbuhan Damar Mata Kucing.....	65
2. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder.....	67
3 Uji Aktivitas Antidiabetes.....	70
4. Instrumen LC-MS/MS serta spesifikasi	71
5. Kemungkinan Senyawa berdasarkan Puncak Tertinggi.....	72
6. Perhitungan % inhibisi dan IC_{50}	74

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penderita diabetes melitus (DM) di Indonesia saat ini berada di peringkat keempat, setelah negara-negara besar seperti Amerika Serikat, China, dan India. Selain itu, diperkirakan bahwa jumlah penderita diabetes melitus (DM) di Indonesia akan mengalami peningkatan yang sangat signifikan, mencapai dua hingga tiga kali lipat pada tahun 2030 jika dibandingkan dengan jumlah pada tahun 2000. Data dari Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) juga menunjukkan bahwa pada tahun 2000, terdapat sekitar 171 juta orang yang hidup dengan diabetes di seluruh dunia, dan angka ini diperkirakan akan meningkat dua kali lipat menjadi 366 juta pada tahun 2030. Lebih jauh lagi, laporan terbaru dari Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia merujuk pada estimasi dari Federasi Diabetes Internasional (IDF) yang memperkirakan bahwa pada tahun 2035, jumlah orang yang hidup dengan diabetes di seluruh dunia akan mencapai 592 juta (Muliani, 2015). Menurut data yang dikeluarkan oleh *International Diabetes Federation* (IDF), diperkirakan satu dari setiap dua belas individu di seluruh dunia menderita DM. Lebih mengkhawatirkan, banyak penderita DM yang tidak menyadari bahwa mereka mengidap penyakit ini, dan kebanyakan dari mereka baru menyadari kondisinya setelah penyakit telah berlangsung cukup lama, sering kali dengan komplikasi yang sudah sangat jelas dan terlihat (Sartika, 2019).

Diabetes melitus (DM) disebabkan karena adanya gangguan metabolisme yang berasal dari sistem endokrin. Penyakit ini tersebar di seluruh dunia dan jumlah penderitanya terus meningkat dengan cepat. Para penderita DM tidak mampu

memproduksi atau memanfaatkan insulin dengan baik, sehingga kadar glukosa dalam darah menjadi tinggi (Pratama dkk., 2014). Diabetes melitus dibagi menjadi beberapa jenis, diantaranya diabetes melitus tipe I, diabetes melitus tipe II, DM tipe II menjadi menjadi penyakit yang paling banyak diderita, hamper 80% kejadian DM tipe II terjadi di negara-negara berkembang yang memiliki penghasilan menengah kebawah (Saputri, 2020).

Saat ini, penggunaan terapi farmakologis untuk pengobatan DM sering melibatkan obat-obatan sintetis seperti akarbosa dan *butylhydroxyanisole* (BHA) yang memiliki efek samping yang kurang diinginkan. Efek negatif di saluran pencernaan yang dapat timbul akibat akarbosa meliputi perut kembung, mual, diare, dan rasa kembung, sedangkan BHA diketahui bersifat toksik dan karsinogenik. Kondisi tersebut mendorong banyak penelitian untuk mencari obat alami yang bersumber dari tanaman (Sinulingga dkk., 2020). Obat sintetis biasanya hanya memiliki satu target dan bekerja pada reseptor tertentu untuk mengobati satu penyakit. Sebaliknya, obat dari tanaman tradisional menjadi produk multikomponen, di mana berbagai senyawa aktif bekerja pada banyak senyawa target, memberikan efek pengobatan yang lebih holistik dan dinilai lebih unggul dari segi farmakologis. Oleh karena itu, tanaman tradisional diharapkan dapat dikembangkan menjadi fitofarmaka, yakni obat berbahan alami dengan khasiat yang teruji dan bahan baku yang terstandar (Anugrahini dan Wahyuni, 2021). Tumbuhan mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder, yang membuat para peneliti tertarik untuk meneliti lebih dalam. Senyawa-senyawa ini dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, seperti melindungi diri dengan senyawa beracun, menarik perhatian sesama dengan zat tertentu, pewarna alami, atau bahkan untuk mengobati penyakit. Hingga saat ini, lebih dari 400 jenis tumbuhan telah terbukti memiliki aktivitas sebagai obat tradisional (Hasan dkk., 2022).

Pengobatan tradisional yang berbasis tanaman masih menjadi andalan utama, yaitu sekitar 75-80%, terutama di negara-negara berkembang yang kaya akan keanekaragaman hayati, seperti Indonesia. Obat tradisional sering menjadi pilihan

pertama dalam pengobatan di negara berkembang karena diterima secara budaya, lebih cocok untuk tubuh, dan memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan terapi modern. Beberapa tanaman obat diketahui memiliki manfaat untuk diabetes dan telah digunakan secara turun-temurun sebagai obat antidiabetes. Penelitian tentang obat antidiabetes dari tanaman masih terus dilakukan karena setiap tanaman mengandung fitokimia yang dapat memberikan efek alternatif dan aman untuk terapi pengobatan diabetes (Utami dkk., 2023). Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antidiabetes adalah tanaman *S. Javanica* dari famili *Dipterocarpaceae*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Tim PKM Prathiba dkk pada tahun 2024, famili *Dipterocarpaceae*, diketahui mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti saponin, terpenoid, alkaloid, dan flavonoid. Dan tanaman *Hopea mengarawan* yang merupakan salah satu tanaman dari famili *Dipterocarpaceae* diketahui mengandung nilai IC_{50} yang telah diperoleh ekstrak etil asetat kulit kayu *Hopea mengarawan* mempunyai aktivitas antidiabetes yang kuat. Spesies dalam genus *Shorea* telah lama diketahui menghasilkan beragam metabolit sekunder, termasuk stilbena dan oligomer resveratrol, kumarin, serta terpenoid. Selanjutnya, menurut penelitian yang dilakukan oleh Mulyono dkk 2012, melaporkan ekstrak damar mata kucing mempunyai aktivitas sebagai antirayap dan antijamur. Dimana komponen terbanyak dalam damar mata kucing adalah brasikasterol, senyawa ini memiliki struktur yang sama dengan β -sitosterol dan stigmasterol yang memiliki aktivitas sebagai antikolesterol. Damar mata kucing salah satu tanaman dari genus *Shorea* yang dianggap memiliki potensi sebagai antidiabetes berbasis herbal karena diyakini mengandung senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut. Senyawa-senyawa ini diduga mampu membantu mengobati penyakit DM. Namun, Sejauh yang diketahui, belum ada penelitian yang dilakukan mengenai senyawa metabolit sekunder sebagai antidiabetes dari tanaman damar mata kucing.

Berdasarkan informasi diatas, maka dilakukan penelitian ini untuk mengisolasi kandungan senyawa metabolit sekunder pada kulit batang damar mata kucing dan uji bioaktivitasnya sebagai agen antidiabetes. Senyawa yang telah murni,

kemudian dilakukan identifikasi kemurniannya dengan menggunakan KLT serta dilakukan karakterisasi struktur dengan menggunakan LC-MS/MS lalu dilakukan uji antidiabetes menggunakan metode inhibisi enzim α -amilase secara *in vitro*.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan senyawa hasil isolasi pada fraksi metanol kulit batang *S. javanica*
2. Menguji senyawa metabolit sekunder pada senyawa hasil isolasi sebagai agen antidiabetes secara *in vitro*.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat didalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Memberikan informasi tentang kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi metanol kulit batang *S. javanica*
2. Memberikan informasi tentang potensi antidiabetes dari senyawa metabolit sekunder hasil isolasi fraksi metanol kulit batang *S. javanica*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Dipterocarpaceae*

Famili *dipterocarpaceae* merupakan kelompok tumbuhan berkayu besar yang dikenal memiliki kualitas kayu yang tinggi dan daya tahan yang kuat, sehingga sering dimanfaatkan sebagai bahan konstruksi. Tumbuhan dari famili ini banyak tumbuh di kawasan tropis Asia, terutama di negara Indonesia, Malaysia, dan Filipina. Di Indonesia, keberadaan tumbuhan *dipterocarpaceae* banyak ditemukan di wilayah Sumatera dan Kalimantan, dengan beberapa genus yang umum dijumpai seperti *Anisoptera*, *Cotylelobium*, *Dipterocarpus*, *Dryobalanops*, *Hopea*, *Parashorea*, *Shorea*, *Vatica*, dan *Upuna*. Ciri khas pohonnya memiliki ukurannya yang besar mencapai lebih dari 50 meter, menghasilkan damar, memiliki kulit batang bersisik, dan mudah mengelupas. Berdasarkan daftar merah IUCN/SSC (Species Survival Commission), banyak spesies dari famili *Dipterocarpaceae* yang hidup di hutan kini tergolong dalam status sangat terancam atau berisiko tinggi terhadap kepunahan (Pratibha dkk., 2025).

Genus *Shorea*, yang sering disebut sebagai meranti secara lokal, merupakan genus utama dalam famili ini dengan sekitar 190 spesies. Genus ini menjadi salah satu fokus utama penelitian dalam famili *dipterocarpaceae* karena mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder seperti kumarin, terpenoid, dan oligostilbenoid. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa oligostilbenoid, polifenol stilbena yang hadir dalam bentuk di-, tri-, dan tetra-, memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antioksidan, kemopreventif, antiinflamasi, antihepatotoksik, antitumor, hepatoprotektif, antimikroba, serta efek sitotoksik. Spesies dalam genus *Shorea* telah lama diketahui menghasilkan beragam

metabolit sekunder, termasuk stilbena dan oligomer resveratrol, kumarin, serta terpenoid. Dari berbagai penelitian, telah diidentifikasi 113 senyawa berbeda dari berbagai spesies *Shorea*, yang meliputi 83 stilbena dan oligomer resveratrol, 18 triterpena atau terpenoid, 7 kumarin, 3 flavonoid, dan 2 steroid (Musa dkk., 2024).

2.2 *Shorea javanica*

Damar kaca, yang juga dikenal secara lokal sebagai damar mata kucing dan memiliki nama ilmiah *Shorea javanica*, adalah jenis pohon yang termasuk dalam famili *dipterocarpaceae*. Tumbuhan ini merupakan bagian dari ekosistem hutan hujan tropis, sehingga secara teoretis tidak seharusnya menghadapi banyak tantangan dalam proses regenerasi buatan atau pembibitan. Iklim di Provinsi Lampung yang beriklim tropis, dengan suhu yang umumnya berkisar antara 22 hingga 30 derajat Celsius dan curah hujan tahunan sekitar 2500 hingga 3500 milimeter, mendukung keberhasilan penanaman bibit damar kaca. Berdasarkan kondisi iklim ini, pembibitan damar kaca di wilayah Bandar Lampung diharapkan berjalan tanpa kendala yang berarti. Damar mata kucing (*Shorea javanica*) termasuk dalam famili *dipterocarpaceae*, yang dapat dilihat pada Gambar 1 dengan klasifikasi sebagai berikut:

Divisi	: Spermatophyta
Fillum	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledone
Sub Kelas	: Dialypetalae
Ordo	: Theales/Guttiferales
Famili	: <i>Dipterocarpaceae</i>
Genus	: <i>Shorea</i>
Species	: <i>Shorea javanica</i> Koord & Valetton (Bintoro, 2020).



Gambar 1. Pohon *Shorea javanica*

Secara alami, damar mata-kucing (*Shorea javanica*) hanya menyebar di beberapa wilayah terbatas di Sumatra. Pada sisi barat pulau, pohon ini ditemukan mulai dari bagian selatan Aceh hingga ke wilayah paling selatan Sumatra. Di sisi timur, penyebarannya dimulai dari daerah Palembang dan menjulur ke arah selatan menuju Lampung. Habitatnya meliputi hutan primer maupun sekunder. Pohon ini tumbuh di berbagai tipe lahan, termasuk tanah kering maupun yang memperoleh genangan air secara berkala. Area tumbuhnya tidak terbatas pada dataran, tetapi juga mencakup lereng-lereng dengan ketinggian antara 300 hingga 500 m di atas permukaan laut. Di wilayah Krui, Lampung Barat, damar mata-kucing berkembang paling baik pada tanah lempung yang dalam, dengan kondisi curah hujan tahunan sebesar 3.300 mm, dan tanpa periode kemarau yang signifikan. Pada fase pembibitan, semai damar membutuhkan lingkungan yang teduh. Namun, setelah mencapai ketinggian sekitar 1 meter, tanaman ini sudah cukup kuat untuk bertahan di area yang lebih terbuka. Pada fase pertumbuhan lanjutan, yakni ketika tingginya mencapai 3–4 meter, damar mata-kucing memerlukan sinar matahari penuh agar dapat tumbuh besar secara sehat dan optimal (Bintoro, 2020).

S. javanica adalah tumbuhan endemik Indonesia. Tanaman ini hanya tumbuh secara alami di wilayah Indonesia dan tidak ditemukan di tempat lain di dunia. Populasinya yang semakin menurun akibat deforestasi dan eksploitasi berlebihan, spesies ini telah diusulkan sebagai kandidat dalam daftar merah IUCN, yaitu

daftar spesies tumbuhan dan hewan yang terancam punah secara global. Pohon ini dikenal sebagai penghasil damar mata kucing, yaitu sejenis getah resin berkualitas tinggi yang telah menjadi komoditas penting di Indonesia selama lebih dari satu abad. Damar ini banyak digunakan untuk berbagai keperluan, seperti bahan industri vernis, kosmetik, hingga farmasi. Sebagian besar populasi *S. javanica* di Provinsi Lampung ditemukan di Repong Damar, yaitu sistem agroforestri tradisional yang dikelola oleh masyarakat adat. Repong Damar tidak hanya berfungsi sebagai sumber ekonomi, tetapi juga sebagai bentuk konservasi berbasis kearifan lokal. Di dalam sistem ini, pohon-pohon damar ditanam bersama dengan tanaman lain secara lestari. Selain di Repong Damar, *S. javanica* juga tumbuh secara alami di kawasan konservasi, terutama di Taman Nasional Bukit Barisan Selatan. Keberadaan pohon ini di taman nasional menegaskan pentingnya perlindungan habitat alamnya agar spesies ini tetap lestari. Repong Damar sendiri banyak dijumpai di wilayah Krui, Lampung Barat, dan telah menjadi bagian integral dari kehidupan masyarakat setempat. Sistem ini mencerminkan hubungan harmonis antara manusia dan alam, di mana pohon damar tidak hanya menjadi sumber penghidupan tetapi juga warisan budaya yang dijaga lintas generasi. (Damayanti dkk., 2021).

2.3 Senyawa Metabolit Sekunder

Tumbuhan menghasilkan dua jenis senyawa metabolit, yaitu primer dan sekunder. Pada tanaman, metabolit primer digunakan dalam proses pertumbuhan, sedangkan metabolit sekunder tidak memiliki berperan langsung dalam pertumbuhan tanaman, tetapi diproduksi oleh tanaman dalam jumlah tertentu dalam kondisi cekaman. Adapun contoh dari metabolit sekunder diantaranya adalah antibiotik, pigmen, racun, efektor kompetisi ekologi dan simbiosis, feromon, inhibitor enzim, agen imunomodulasi, antagonis reseptor dan agonis, pestisida, agen antitumor, dan stimulan untuk pertumbuhan tanaman. Dari setiap jenis senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman memiliki fungsi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang dihasilkan ini tidak esensial untuk kelangsungan hidup tanaman, tetapi dapat memberikan beberapa manfaat yang sangat berguna. Metabolit

sekunder dapat digunakan sebagai mekanisme pertahanan tumbuhan, baik dari cekaman biotik maupun cekaman abiotik serta dapat juga berfungsi sebagai atraktan. Manusia juga memanfaatkan senyawa metabolit sekunder tertentu sebagai bahan pengobatan dan antioksidan (Angin dkk., 2019).

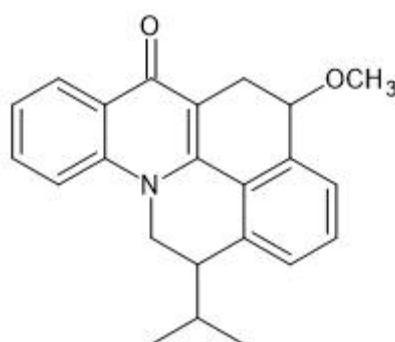
Tumbuhan berevolusi dengan berbagai cara untuk bertahan dari berbagai cekaman, salah satunya dengan menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat toksik. Metabolit toksik umumnya terakumulasi dalam vakuola, rongga ekstraseluler trikoma, atau disekresikan dalam sel ekstra. Glikosilasi merupakan modifikasi penting yang terjadi pada berbagai metabolit sekunder. Berdasarkan asal usul biosintesis, produk metabolit tumbuhan alami dibedakan menjadi tiga kelompok utama yaitu terpenoid, alkaloid, dan fenilpropanoid serta kelompok senyawa antioksidan fenolik. Sumber antioksidan terdapat dua kelompok, yaitu antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari sintesis reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan yang diekstrak dari bahan alami atau yang terkandung dalam bahan alami). Antioksidan alami berasal dari senyawa fenolik seperti golongan flavonoid. Flavonoid adalah kelas metabolit sekunder yang diproduksi oleh tumbuhan. Senyawa ini bisa menjadi racun bagi organisme lain, bekerja dengan cara mengganggu fungsi protein sel. Beberapa metabolit berinteraksi dengan molekul yang memiliki fungsi seluler fundamental, seperti DNA dan protein yang terlibat dalam pembelahan sel menyatakan bahwa pembentukan metabolit sekunder diatur oleh nutrisi, penurunan laju pertumbuhan, kontrol umpan balik, inaktivasi enzim, dan induksi enzim (Angin dkk., 2019).

2.3.1 Alkaloid

Sepanjang abad ke-19 dan ke-20, perkembangan signifikan dalam bidang kimia dan farmakologi mendorong penemuan serta sintesis sejumlah alkaloid baru, seperti atropin, efedrin, dan nikotin, yang kemudian terbukti memiliki berbagai manfaat medis. Alkaloid tersebut berfungsi dalam berbagai kapasitas, antara lain sebagai pereda rasa sakit, stimulan, dan relaksan, sehingga memberikan kontribusi yang berarti bagi pengembangan terapi medis. Selain itu, penemuan alkaloid

dengan efek psikedelik, seperti *psilocybin* dan LSD, berperan dalam meningkatkan minat dan popularitas alkaloid di kalangan peneliti dan masyarakat selama pertengahan abad ke-20. Karena manfaatnya dalam farmakologi, alkaloid menjadi fokus banyak penelitian untuk mengeksplorasi potensi dan aplikasinya di bidang kesehatan. (Tanfil dkk., 2023).

Alkaloid adalah senyawa kimia yang memiliki setidaknya satu atom nitrogen dan bersifat basa, dimana sebagian besar atom nitrogen tersebut merupakan bagian dari struktur cincin heterosiklik. Senyawa ini umumnya ditemukan dalam berbagai bagian tanaman, termasuk daun, biji, ranting, akar, bunga, dan batang, yang memiliki aktivitas fisiologis tertentu. Alkaloid biasanya muncul dalam bentuk garam organik, berbentuk padat, berkrystal, dan tidak berwarna. Tanaman yang memiliki rasa pahit cenderung mengandung alkaloid. Senyawa ini dapat memicu berbagai respons dalam tubuh, termasuk stimulasi sistem saraf, pengurangan tekanan darah, efek analgetik, sifat antimikroba, serta digunakan sebagai obat penenang dan untuk pengobatan penyakit jantung (Karim dkk., 2022). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zawawi dan Khairunnisa (2012) dilaporkan bahwa berhasil diisolasi beberapa senyawa alkaloid golongan oxoaporphinoid (1) dari *Shorea maxwelliana* King. Senyawa ini merupakan turunan alkaloid aporfin yang ditandai dengan adanya gugus karbonil ($C=O$) pada kerangka intinya, dan dikenal memiliki aktivitas biologis penting.

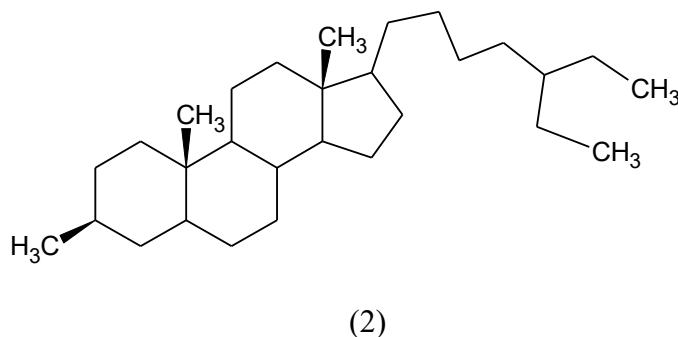


(1)

Gambar 2. Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman *Shorea maxwelliana* King

2.3.2 Steroid

Steroid merupakan jenis triterpenoid dari inti siklopentana perhidrofenantrena, yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Steroid sangat penting untuk mempertahankan keseimbangan garam, mengontrol metabolisme, dan meningkatkan fungsi organ seksual serta fungsi biologis lainnya antara jenis kelamin. Tanaman yang di dalamnya mengandung steroid menunjukkan efek untuk menurunkan kolesterol dan antikanker (Nola dkk., 2021). Steroid umumnya larut dalam pelarut nonpolar. Senyawa steroid dapat ditemukan pada hewan dan tumbuhan. Ketika dilakukan uji positif terhadap steroid, warna larutan akan berubah menjadi hijau kebiruan. Perubahan warna ini disebabkan oleh reaksi antara steroid dan asetat anhidridat, yang dikenal sebagai reaksi asetilasi pada gugus OH dalam steroid, menghasilkan kompleks asetil steroid (Ningtias dan Rani, 2023). Salah satu contoh senyawa steroid yang berhasil diisolasi dari tanaman *Shorea roxburghi* yaitu senyawa β -sitosterol (2) yang dapat dilihat pada Gambar 3 (Zhang *et al.*, 2020).



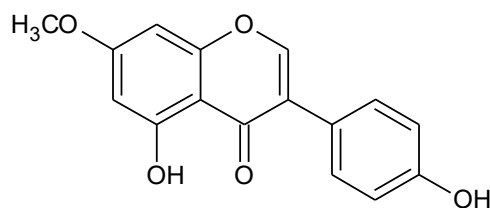
Gambar 3. Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman *Shorea roxburghi*

2.3.3 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok senyawa fenol dengan struktur benzena yang disubstitusi oleh gugus OH. Senyawa ini merupakan salah satu senyawa paling melimpah di alam dan dapat ditemukan di berbagai bagian tumbuhan, seperti akar, kayu, kulit, daun, batang,

buah, serta bunga. Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi. Sekitar 5-10% dari total senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan merupakan flavonoid. Senyawa ini adalah turunan dari 2-fenil-benzil- γ -piron yang biosintesisnya berlangsung melalui jalur fenilpropanoid. Flavonoid memiliki peran dalam memberikan warna, rasa pada biji, bunga, buah, serta aroma. Senyawa ini mudah teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak tahan terhadap panas (Ningsih dkk., 2023).

Flavonoid menunjukkan berbagai efek farmakologi, termasuk sebagai antioksidan, pencegah penuaan, anti-inflamasi, dan antivirus, serta manfaat lainnya (Hepni, 2019). Hingga tahun 2011, telah diidentifikasi lebih dari 9000 jenis flavonoid yang digunakan dalam suplemen kesehatan. Kesehatan manusia sangat bergantung pada flavonoid sebagai antioksidan untuk mencegah kanker. Fungsi utama flavonoid adalah melindungi struktur sel, mendukung efektivitas vitamin C, mencegah keropos tulang, serta bertindak sebagai antibiotik dan antiinflamasi. Banyak mikroorganisme, seperti virus dan bakteri, terancam keberadaannya oleh flavonoid yang berfungsi langsung sebagai antibiotik, dan fenomena ini sering terjadi. Selain itu, flavonoid terbukti dapat mengurangi kekuatan virus HIV, yang menyebabkan AIDS. Virus herpes juga dapat terpengaruh oleh flavonoid. Lebih jauh lagi, flavonoid memiliki peran dalam pencegahan dan pengobatan berbagai penyakit umum, seperti periodontitis, ambeien, migrain, encok, rematik, diabetes mellitus, katarak, dan asma. Istilah flavanoida merujuk pada senyawa fenolik yang berasal dari kata "flavon," yang merupakan salah satu jenis flavonoid dengan jumlah terbanyak dalam tumbuhan (Fikayuniar, 2023). Salah satu contoh senyawa flavonoid yang berhasil diisolasi dari tanaman *Shorea robusta* yaitu senyawa dihidroksiisoflavon (3) yang dapat dilihat pada Gambar 4 (Chauhan *et al* 2002).



(3)

Gambar 4. Struktur senyawa hasil isolasi dari tanaman *Shorea robusta*

2.3.4 Saponin

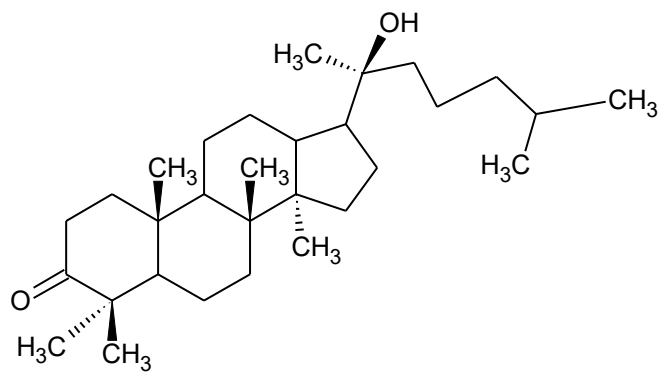
Saponin adalah senyawa glikosida dengan berat molekul tinggi, terdiri dari gugus gula yang terikat pada triterpen atau steroid aglikon. Saponin dikenal memiliki sifat permukaan seperti deterjen, menghasilkan busa stabil, hemolitik, pahit, dan beracun bagi ikan. Senyawa ini memiliki berat molekul sekitar 414,62 g/mol, titik didih 158°C, dan densitas 0,5 g/cm³ pada suhu 20°C. Saponin larut dalam pelarut polar seperti air, etanol, dan metanol, serta sebagian larut dalam pelarut organik lain seperti kloroform dan etil asetat. Saponin banyak ditemukan dalam tanaman, termasuk daun dan akar pohon waru (*Hibiscus tiliaceus*) dengan kadar hingga 12,9 mg/g. Senyawa ini dimanfaatkan di berbagai bidang seperti perikanan (sebagai pembasmi hama), tekstil (deterjen), kosmetik (pembentuk busa), dan kesehatan (agen antikanker). Isolasi saponin cukup menantang karena polaritas tinggi dan adanya senyawa lain yang mirip. Umumnya, isolasi dilakukan melalui ekstraksi dan kromatografi, terutama dengan metode kromatografi kolom dan lapisan tipis (TLC) (Santosa dkk., 2018).

2.3.5 Terpenoid

Terpenoid adalah senyawa yang terdiri dari karbon dan hidrogen, atau kombinasi karbon, hidrogen, dan oksigen, serta memiliki sifat aromatis. Beberapa terpenoid mengandung jumlah atom karbon kelipatan lima. Penelitian lebih lanjut menunjukkan sebagian terpenoid memiliki kerangka karbon dalam terpenoid

tersusun dari dua atau lebih unit C₅ yang dikenal sebagai isopren. Unit isopren ini umumnya terhubung secara teratur dengan pola kepala-ke-ekor, di mana "kepala" mengacu pada ujung dekat cabang metil, dan "ekor" adalah ujung sebaliknya. Pola ini disebut kaidah isopren dan menjadi dasar penentuan struktur terpenoid. Sebagian besar terpenoid bersifat larut lemak, ditemukan di sitoplasma sel tumbuhan, dan memiliki struktur siklik dengan satu atau lebih gugus fungsional (Frafela, 2024).

Terpenoid mencakup banyak senyawa tumbuhan, dengan istilah ini digunakan untuk menunjukkan bahwa secara biosintesis, semua senyawa tersebut berasal dari sumber yang sama, yaitu molekul isopren $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2$. Struktur karbon terpenoid terbentuk dari penyatuan dua atau lebih unit C₅. Berdasarkan jumlah unit C₅, terpenoid dibagi menjadi beberapa golongan, seperti monoterpena (C₁₀), seskuiterpena (C₁₅), diterpena (C₂₀), triterpenoid dan sterol (C₃₀), serta karotenoid (C₄₀). Setiap golongan terpenoid memiliki pita serapan yang kuat di spektrum cahaya dan berperan penting dalam pertumbuhan, metabolisme, dan ekologi tumbuhan (Frafela, 2024). Syahri dkk. (2013) berhasil mengisolasi senyawa hydroxydammarone-II. dari kulit batang *Shorea teysmanniana* Dier. Kulit Tumbuhan *S.teysmanniana* Dier sering dikenal dengan nama daerah Riau yaitu Meranti Lilin, adalah salah satu spesies yang termasuk genus utama dari tumbuhan famili *dipterocarpaceae* yang merupakan tanaman langka di Indonesia. batang tumbuhan ini biasa digunakan masyarakat lokal sebagai obat luka bakar, terutama luka yang sudah terinfeksi. Kulit batang tumbuhan *Shorea teysmanniana* Dier mengandung senyawa antibiotic. Adapun struktur dari hydroxydammarone-II (4) dapat dilihat pada Gambar 5.



(4)

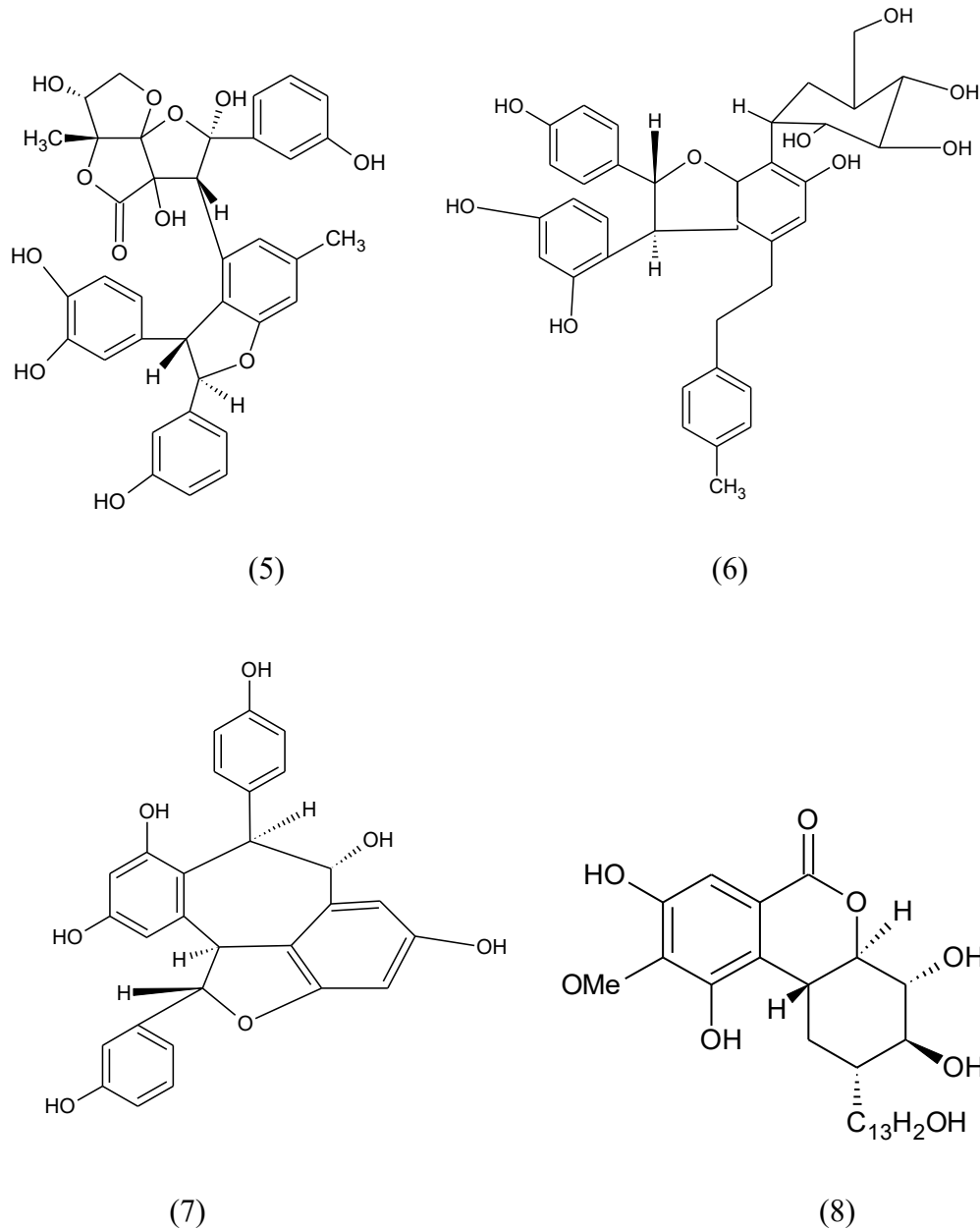
Gambar 5. Stuktur senyawa hasil isolasi dari tanaman *Shorea teysmanniana*

2.3.5 Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang terdiri dari cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Ini berarti bahwa setiap senyawa fenolik setidaknya memiliki satu gugus fenol. Ada sekitar 8.000 jenis senyawa fenolik, mulai dari yang sederhana dengan berat molekul rendah hingga senyawa kompleks dengan berat molekul lebih dari 30.000 Da. Fenol dihasilkan sebagai metabolit sekunder melalui jalur pentosa fosfat, shikimat, dan fenilpropanoid pada tanaman. Senyawa ini memiliki peran penting dalam proses pertumbuhan dan reproduksi tumbuhan, serta melindungi tanaman dari patogen dan predator. Fenolik juga merupakan komponen umum dalam makanan manusia, yang bisa ditemukan pada buah-buahan, sayuran, kopi, teh, bir, anggur, dan coklat, meskipun senyawa ini sangat peka terhadap kondisi pengolahan. Beberapa kelompok fenolik yang banyak terdapat dalam tumbuhan meliputi flavonoid, asam fenolat, asam hidroksisinamat, dan lignan. Senyawa ini memberikan berbagai manfaat kesehatan bagi manusia, seperti sifat antioksidan, tanin, galotanin, atau asam galotanat. Tanin memiliki titik leleh 305°C, titik didih 127°C, dan kelarutannya dalam air adalah 0,656 g dalam 1 ml pada suhu 70°C (Kusnadi, 2018).

Penelitian yang telah dilaporkan yaitu penelitian terhadap kulit batang *Shorea seminis* V.Sl dan berhasil mengisolasi senyawa laevifonol (5), diptoindonesin A (6), ampelopsin A (7), dan bergenin (8), yang memiliki bioaktivitas sebagai

antibakteri. Semua senyawa yang ditemukan ini merupakan senyawa fenolik dan tergolong kedalam oligostilbenoid. Karena senyawa golongan fenolik memiliki aktivitas yang sangat banyak, dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan dasar obat . adapun senyawa hasil isolasi dari tanaman *Shorea seminis* V.Sl dapat dilihat pada Gambar 6 (Syahri dkk., 2012).



Gambar 6. Struktur senyawa hasil isolasi dari kulit batang *Shorea seminis* V.Sl

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan senyawa yang larut dari serbuk simplisia, memisahkannya dari komponen yang tidak larut. Ekstraksi juga didefinisikan sebagai teknik pemisahan suatu zat dari campurannya dengan bantuan pelarut yang mampu melarutkan zat yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya. Proses ekstraksi melibatkan pemisahan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan menggunakan pelarut tertentu. Hasil dari ekstraksi ini berupa ekstrak, yaitu sediaan pekat yang diperoleh setelah zat aktif diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut tersebut diuapkan hampir sepenuhnya hingga tersisa massa atau serbuk yang memenuhi standar tertentu. Tujuan utama ekstraksi bahan alam adalah untuk mengambil komponen kimia yang terkandung di dalamnya. Zat aktif seperti senyawa antimikroba dan antioksidan yang ada pada tumbuhan umumnya diekstraksi menggunakan pelarut. Dalam proses ekstraksi ini, jenis dan jumlah senyawa yang terlarut dalam pelarut bergantung pada jenis pelarut yang digunakan, dan berlangsung dalam dua tahap: fase pembilasan dan fase ekstraksi. Pada fase pembilasan, pelarut membersihkan komponen sel yang sudah rusak selama proses penghancuran. Fase ekstraksi dimulai dengan pembengkakan dinding sel dan pelonggaran struktur selulosa, yang memperluas pori-pori dinding sel sehingga pelarut dapat menembus sel. Selanjutnya, isi sel larut dalam pelarut sesuai dengan kelarutannya dan kemudian berdifusi keluar karena perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel (Anto dan Prasetyani, 2022). Adapun jenis-jenis ekstraksi adalah sebagai berikut:

2.4.1 Ekstraksi Padat Cair

Ekstraksi padat-cair adalah metode untuk memisahkan senyawa atau komponen (zat terlarut) dari campuran yang ada dalam padatan tidak larut (inert) dengan menggunakan pelarut berbentuk cair. Prinsip dari metode ini didasarkan pada perbedaan konsentrasi antara zat terlarut dalam padatan dan pelarut, serta perbedaan kelarutan senyawa dalam campuran. Dalam proses ini, pelarut pertama-tama terserap di permukaan sampel, kemudian meresap ke dalamnya sehingga zat

analit dapat larut dan berinteraksi dengan pelarut. Proses yang terjadi didalam ekstraksi padat-cair (*leaching*) ini biasanya disebut dengan difusi. Beberapa faktor yang sangat berpengaruh terhadap kecepatan difusi pada proses *leaching*, adalah sebagai berikut :

1. Jenis pelarut
2. Kecepatan dan durasi pengadukan
3. Luas permukaan partikel/sampel
4. Ukuran partikel
5. Suhu (Prayudo dkk., 2015).

Metode ekstraksi padat cair merupakan metode ekstraksi yang didasarkan ada atau tidaknya proses pemanasan dan dibagi menjadi dua macam yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

2.4.1.1 Ekstraksi Cara Dingin

Ekstraksi cara dingin dilakukan tanpa melibatkan pemanasan selama proses berlangsung, dengan tujuan utama untuk menjaga senyawa yang diekstraksi agar tidak rusak akibat panas (Harahap dkk., 2024). Adapun jenis-jenis ekstraksi cara dingin adalah sebagai berikut :

a. Maserasi

Metode maserasi adalah teknik ekstraksi pada suhu ruangan yang sederhana, di mana pelarut akan meresap melalui dinding sel tanaman dan masuk ke dalam ruang sel yang mengandung senyawa aktif. Proses ini mendorong senyawa aktif keluar sel karena perbedaan konsentrasi larutan di dalam dan luar sel. (Hasnaeni dkk., 2019). Keuntungan utama dari metode ekstraksi maserasi adalah menggunakan cara dingin baik prosedur dan peralatannya serta menggunakan peralatan yang sederhana dan tidak dipanaskan, sehingga bahan alam tidak terurai. Banyak senyawa dapat diekstraksi melalui ekstraksi dingin, tetapi beberapa senyawa hanya dapat larut dalam pelarut pada suhu kamar (Mawarda dkk., 2020).

b. Perkolasi

Perkolasi merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk ekstraksi tanaman karena tidak memerlukan banyak manipulasi dan waktu. Proses perkolasi berlangsung secara berkelanjutan, di mana pelarut jenuh terus-menerus digantikan oleh pelarut segar. Perkolasi biasanya dilakukan dengan merendam sampel dalam pelarut di perkolator selama 24 jam (hingga tiga kali), lalu ekstrak dikumpulkan. Sampel dibasahi pelarut dan dibiarkan 4 jam dalam wadah tertutup untuk menghasilkan tingtur dan ekstrak cair. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam perkolator dan ditutup. Pelarut ditambahkan hingga menutupi sampel dengan lapisan tipis dan dibiarkan selama 24 jam. Katup perkolator kemudian diatur agar cairan keluar secara perlahan. Pelarut ditambahkan secara bertahap sampai tiga perempat dari volume ekstrak yang diinginkan tercapai. Residu sampel kemudian diperas dan cairan ditambahkan kembali ke perkolator. Proses ini diulangi sampai pelarut yang menetes tidak meninggalkan residu saat diuapkan. Keunggulan perkolasi adalah lebih cepat dibandingkan dengan maserasi, cocok untuk bahan yang mudah rusak oleh panas, serta efisien untuk bahan obat yang mahal. Namun, kekurangannya adalah waktu yang lebih lama dibandingkan metode Sokhlet, penggunaan pelarut yang lebih banyak, memerlukan keahlian operator, dan perhatian pada ukuran partikel bahan (Mun'im dan Ahmad, 2023).

2 4.1.2 Ekstraksi Cara Panas

Ekstraksi cara panas melibatkan pemanasan selama proses berlangsung, dengan tujuan untuk mempercepat proses ekstraksi dan meningkatkan efisiensi pemisahan komponen yang diinginkan (Harahap dkk., 2024).

a. Refluks

Refluks adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut pada suhu titik didihnya selama jangka waktu tertentu, dengan jumlah pelarut yang relatif tetap, berkat adanya pendingin balik. Umumnya, proses ini dilakukan berulang pada

residu yang tersisa hingga 3-5 kali agar ekstraksi dapat dilakukan secara optimal. Prinsip kerja refluks adalah penarikan komponen kimia dengan cara memanaskan sampel yang ditempatkan di dalam labu alas bulat bersama pelarut. Uap pelarut tersebut kemudian terkondensasi di kondensor, berubah kembali menjadi bentuk cair, dan mengalir kembali ke dalam labu untuk kembali bersentuhan dengan sampel. Proses ini berulang terus-menerus hingga komponen yang diinginkan terestraksi secara maksimal. Penggantian pelarut biasanya dilakukan tiga kali dalam interval 3-4 jam. Filtrat yang dihasilkan dari proses ini dikumpulkan dan kemudian dipekatkan (Fikayuniar, 2023).

b. Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi yang menggunakan pelarut baru dan biasanya dilakukan dengan alat khusus yang memungkinkan ekstraksi berlangsung secara konstan, didukung oleh adanya pendingin balik. Proses pemanasan menyebabkan pelarut menguap ke atas, kemudian uap tersebut akan dikondensasi oleh pendingin udara menjadi tetesan cairan yang akan kembali terkumpul. Ketika tetesan tersebut melewati batas lubang pipa samping alat soklet, proses sirkulasi akan terjadi berulang kali, sehingga menghasilkan ekstraksi yang optimal. Dalam proses ekstraksi ini, pemilihan pelarut yang tepat sangat penting. Pelarut yang ideal untuk ekstraksi adalah pelarut yang memiliki kemampuan larut yang tinggi terhadap zat yang ingin diekstraksi. Kemampuan larut ini berkaitan erat dengan polaritas pelarut dan polaritas senyawa yang diekstraksi. Salah satu keuntungan dari metode sokletasi adalah bahwa proses ekstraksi dapat berlangsung secara kontinu, yang membuat waktu ekstraksi menjadi lebih singkat dan jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Namun, kelemahan dari metode ini adalah dapat merusak zat terlarut atau komponen lain yang tidak tahan terhadap panas, karena proses pemanasan ekstraksi dilakukan secara terus-menerus (Harahap dkk., 2024).

2.4.2. Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair adalah metode pemisahan kimia-fisika di mana zat yang diekstraksi dipisahkan dari fase air menggunakan pelarut organik yang tidak larut dalam air. Proses ini dapat dilakukan secara kontinu maupun diskontinu. Salah satu keunggulan ekstraksi cair-cair adalah pelarut organik yang digunakan dapat didaur ulang dan digunakan berulang kali. Metode ini juga dapat memisahkan asam karboksilat satu sama lain dengan kemurnian yang tinggi. Ekstraksi cair-cair dianggap sebagai teknik pemisahan yang unggul ketika larutan yang akan dipisahkan memiliki sifat fisika yang serupa, terutama ketika perbedaan titik didihnya relatif kecil. Prinsip dasar dari metode ini adalah larutan yang akan dipisahkan dikontakkan dengan pelarut lain yang tidak dapat bercampur dengan pelarut asal dan memiliki perbedaan densitas. Hal ini menyebabkan terbentuknya dua fase setelah penambahan pelarut. Dalam kolom, tetesan cairan akan bergerak naik dan mengalami proses perpecahan atau penggabungan. Perpecahan terjadi ketika tetesan mengenai isian di dalam kolom, yang memperluas area kontak antar cairan dan memperpanjang waktu kontak di antara kedua cairan (Wahyuni dkk., 2024).

2.5 Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode pemisahan dan pengelompokan komponen kimia dalam ekstrak berdasarkan tingkat kepolarannya. Dalam proses fraksinasi, digunakan dua jenis pelarut yang tidak dapat bercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda. Fraksinasi bertingkat melibatkan penggunaan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda, sehingga menghasilkan ekstrak alami yang bervariasi. Dengan cara ini, senyawa metabolit sekunder dapat diekstraksi secara optimal oleh pelarut (Putri dkk., 2023). Proses fraksinasi ini diperlukan untuk memisahkan kelompok utama kandungan berdasarkan variasi kepolaran di antara mereka. Ekstraksi flavonoid yang bersifat lebih polar, seperti glikosida dan aglikon, dapat dilakukan menggunakan pelarut seperti air, alkohol (misalnya metanol dan etanol), atau kombinasi keduanya. Untuk flavonoid semi-polar, etil

asetat sering digunakan karena merupakan pelarut yang efektif untuk melarutkan senyawa-senyawa flavonoid (Suhaenah dkk., 2021).

2.6 Kromatografi

Kromatografi adalah proses yang digunakan untuk memisahkan berbagai komponen dalam suatu campuran. Proses ini menjadi salah satu metode utama dalam analisis untuk mengenali (analisis kualitatif) dan mengukur jumlah (analisis kuantitatif) senyawa-senyawa obat. Prinsip dasar kromatografi melibatkan perbedaan konsentrasi komponen yang ingin dipisahkan, antara dua fase yang tidak saling bercampur. Fase pertama disebut fase diam karena tidak bergerak, biasanya berada dalam kolom atau terikat pada bahan pendukung. Fase kedua disebut fase gerak karena bergerak melalui fase diam. Kedua fase ini dipilih dengan hati-hati, agar setiap komponen sampel memiliki kelarutan atau kecenderungan yang berbeda pada masing-masing fase. Perbedaan kecepatan migrasi komponen inilah yang membantu memisahkan senyawa-senyawa tersebut. Di antara berbagai teknik analisis instrumental, kromatografi adalah salah satu yang paling sering digunakan. Teknik ini sangat populer sehingga hampir semua laboratorium yang bekerja di dalam bidang analisis obat-obatan menggunakan kromatografi (Rohman, 2020). Kromatografi adalah metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan distribusi komponen-komponen dalam campuran tersebut antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Roni dan Minarsih, 2021).

2.6.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisik yang menggunakan prinsip pembagian suatu zat antara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Pemisahan terjadi karena perbedaan kecepatan masing-masing komponen saat bergerak (Charismawati dkk., 2021). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode sederhana yang sering digunakan untuk memisahkan senyawa yang

terdapat di alam, baik organik maupun anorganik. Dalam metode ini, pemilihan komponen fase gerak sangat penting karena keberhasilan pemisahan bergantung pada interaksi antara zat yang dianalisis dengan fase gerak dan fase diam. Pemilihan fase gerak yang sesuai dengan sifat polaritas zat akan mempengaruhi keberhasilan pemisahan senyawa, kecepatan pergerakan fase gerak, kemampuan deteksi, dan kualitas hasil pemisahan (Dewi, 2023). Kromatografi lapis tipis (KLT) Metode ini digunakan untuk mengonfirmasi senyawa kimia dalam tumbuhan dan skrining fitokimia. Setelah pemisahan noda pada plat KLT, nilai R_f diukur untuk membantu identifikasi senyawa dalam sampel (Muhsin dan Ramandha, 2023).

Prinsip dari kromatografi lapis tipis sendiri yaitu berdasarkan pada tingkat kepolaran yang berbeda antara sampel dan pelarut yang digunakan. Kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan fase gerak yang disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan dan fase diam berupa silika gel F254. Semakin dekat kepolaran sampel dan fase gerak, semakin banyak sampel terbawa. Pada UV 254 nm, lempeng berfluoresensi sementara sampel tampak gelap. Emisi cahaya terjadi saat elektron tereksitasi dan kembali ke tingkat energi dasar sambil melepaskan energi. Nilai-nilai R_f untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai-nilai R_f standar. Sifat-sifat kimia dari senyawa standar biasanya mirip dengan senyawa yang dipisahkan pada kromatogram. Pada kromatografi lapis tipis (KLT), analisis data dilakukan dengan menghitung nilai R_f dari hasil bercak yang terlihat. Senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis kemudian diidentifikasi dengan melihat fluoresensi sinar UV dan mencari nilai R_f , yang merupakan hasil bagi antara jarak yang ditempuh senyawa dengan jarak yang ditempuh pelarut (Mosy dan Kuswandani, 2019).

2.6.2 Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Salah satu cara fraksinasi adalah kromatografi cair vakum (KCV), yang memisahkan ekstrak segar menjadi fraksi-fraksinya yang lebih sederhana. Pemisahan ini menggunakan kolom dengan fasa diam dan aliran fasa

gerakannya yang dibantu oleh pompa vakum. Dengan menggunakan silika gel sebagai absorbent dan berbagai perbandingan pelarut *n*-heksana: etil asetat: metanol (elusi gradien), kromatografi vakum cair digunakan untuk memisahkan golongan senyawa metabolit sekunder secara kasar dan digunakan pompa vakum agar penarikan eluen menjadi lebih mudah. Para ilmuwan pertama kali memperkenalkan kromatografi cair vakum (KCV) untuk mengatasi lamanya waktu yang dibutuhkan untuk separasi menggunakan kolom kromatografi klasik.

Pada dasarnya, teknik ini merupakan kromatografi lapis tipis preparatif yang berbentuk kolom. Metode ini menggunakan kondisi vakum untuk mengaktifkan aliran fase gerak. Kromatografi cair vakum dilakukan dalam corong Buchner dengan kaca masir. Corong Buchner ini diisi dengan fase diam yang memiliki tingkat kehalusannya yang sama dengan yang digunakan dalam kromatografi lapis tipis (70-230 mesh). Saat digunakan dalam kondisi vakum atau bertekanan, kromatografi cair vakum akan menghasilkan kualitas yang sama dengan kromatografi gravitasi, tetapi akan membutuhkan waktu yang lebih singkat. Sementara Targett menggunakan kolom yang lebih panjang untuk meningkatkan daya pisah sedangkan cara asli yang diperkenalkan oleh Coll menggunakan corong Buchner kaca masir atau kolom pendek (Ningrum dkk., 2023).

Kromatografi cair vakum (KCV) memiliki prinsip yaitu bekerja melalui adsorpsi dan partisi yang dipercepat melalui vakum. Kelebihan dari metode ini adalah prosesnya dapat dilakukan dengan cepat dan dapat menarik senyawa dengan sempurna. Sedangkan kekurangan dari metode KCV, yaitu pemisahannya yang kurang sempurna karena senyawa yang ditampung dapat bercampur dalam penampungan yang tidak dipisahkan seperti kolom konvensional, yang dipisahkan berdasarkan warna sehingga pemisahan yang dilakukan lebih maksimal (Irianti dkk., 2021). Dalam penelitian yang menggunakan fraksi methanol, fraksi methanol dipisahkan dengan menggunakan kromatografi vakum cair, dimana cara kerjanya terdiri dari pemisahan dan adsorpsi bagian-bagian senyawa, yang dibantu oleh tekanan alat vakum. Penelitian itu sendiri bertujuan untuk mengidentifikasi subfraksi dengan aktivitas antidiabetes tertinggi melalui pemisahan fraksi

metanol. Dalam proses elusi fraksi metanol dilakukan dengan menggunakan variasi elusi yang bergradien (Maro dkk., 2015).

2.6.2 Kromatografi Kolom (KK)

Kromatografi kolom adalah suatu metode yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen yang berada didalam sampel dengan cara mengalirkan suatu fluida menggunakan kolom yang dimana kolom tersebut mengandung matriks bahan pengisi dan substansi yang ingin dipisahkan menjadi beberapa komponen dengan daya ikat yang berbeda terhadap bahan pengisi (Manab dkk., 2017). Prinsip kerja kromatografi kolom didasarkan pada perbedaan daya serap masing-masing senyawa dalam campuran. Senyawa polar lebih mudah diserap oleh gel silika sehingga bergerak lebih lambat, sementara senyawa non-polar diserap lebih lemah dan bergerak lebih cepat. Di dalam kolom, senyawa-senyawa tersebut terpisah membentuk lapisan berdasarkan polaritasnya, kemudian keluar dari kolom bersama pelarut (fase gerak) yang memiliki polaritas serupa. Fase gerak ini bisa berupa pelarut tunggal atau campuran dua pelarut dengan perbandingan tertentu. Didalam metode ini senyawa yang lebih non polar turun lebih cepat daripada senyawa yang lebih polar. Langkah awal yang perlu dilakukan sebelum pengerjaan kromatografi kolom adalah mencari sistem pelarut. Penentuan sistem pelarut dilakukan dengan kromatografi lapis tipis secara berulang-ulang sampai diperoleh pelarut yang sesuai (Emilda dan Delvira, 2023).

2.7 Spektroskopi

Ada tiga istilah utama yang dikenal dalam kimia analisis, yaitu spektroskopi, spektrometri, dan spektrometer. Spektroskopi merupakan cabang ilmu yang mempelajari interaksi antara radiasi dan materi sebagai fungsi dari panjang gelombang. Pada awalnya, spektroskopi hanya berkaitan dengan pendispersian cahaya tampak berdasarkan panjang gelombang, seperti yang terjadi melalui

prisma. Namun, konsep ini kemudian berkembang untuk mencakup semua bentuk pengukuran kuantitatif yang bergantung pada panjang gelombang dan frekuensi, tidak terbatas pada cahaya tampak saja. Oleh karena itu, istilah ini juga dapat mencakup interaksi radiasi partikel atau respons terhadap berbagai frekuensi. Singkatnya, spektroskopi adalah istilah untuk ilmu (secara teori) yang mempelajari hubungan antara radiasi/energi/sinar (dengan fungsi panjang gelombang atau frekuensi) dengan materi. Respons frekuensi yang dihasilkan disebut spektrum (Marlina dkk., 2023).

Spektroskopi digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisis sifat-sifat suatu zat dengan cara mengamati pola serapan, emisi, atau hamburan radiasi elektromagnetik yang dipancarkan oleh sampel tersebut. Prinsip dasar spektroskopi adalah bahwa setiap atom atau molekul memiliki tingkat energi yang spesifik. Ketika atom atau molekul menyerap atau melepaskan energi dalam bentuk foton, transisi di antara tingkat energi ini menghasilkan garis spektrum yang unik. Garis-garis spektrum tersebut dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi serta menganalisis komposisi kimia dari suatu sampel. Terdapat berbagai jenis spektroskopi yang diterapkan di berbagai bidang ilmu, seperti spektroskopi atom, molekul, inframerah, Raman, massa, dan lainnya. Setiap teknik memiliki prinsip kerja serta aplikasi yang berbeda. Spektroskopi memiliki beragam kegunaan, dari analisis di bidang kimia, fisika, astronomi, biologi, hingga kedokteran. Misalnya, spektroskopi digunakan untuk mengidentifikasi senyawa organik dalam sampel biologis, menganalisis komposisi mineral, dan mendeteksi penyakit melalui biomarker dalam darah (Marlina dkk., 2023). Beberapa jenis metode spektroskopi yang digunakan didalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

2.7.1 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah metode analisis yang menggunakan gelombang Panjang UV dan visible sebagai area serapan untuk mendeteksi senyawa. Metode ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang mengandung gugus

kromofor dan gugus auksokrom . Pengujian dengan Spektrofotometri UV-Vis tergolong dan cepat jika dibandingkan dengan metode lain (Sahumena dkk., 2020). Spektrofotometri Uv-Vis atau spektrofotometri sinar tampak merupakan suatu pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia dengan Panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) memiliki Panjang gelombang 200-400 nm, dan pada sinar tampak Panjang gelombangnya antara 400-700 nm. Pengukuran pada spektrofotometer membutuhkan energi yang cukup besar pada molekul yang dianalisis. Oleh karena itu metode ini lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif daripada analisis kualitatif. Keuntungan dari spektrofotometer UV-Vis adalah dapat memberikan cara yang sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang memiliki ukuran sangat kecil, dapat memberikan hasil yang cukup akurat dengan cara mencatat langsung angka yang terbaca oleh detector dan dicetak dalam bentuk angka digital maupun grafik yang sudah diregresikan (Sari dan Hastuti, 2020).

2.7.2 LCMS

Awalnya, kombinasi antara spektrometri massa (MS) dan kromatografi gas (GC-MS) banyak digunakan untuk menganalisis senyawa volatil dan semi-volatil, seperti residu pestisida, polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), bifenil terklorinasi (PCB), serta polutan organik persisten (POP) yang bersifat kurang polar. Sementara itu, analisis senyawa yang lebih polar, mudah terurai karena panas (termolabil), dan kurang volatil menjadi tantangan hingga ditemukannya teknik ionisasi tekanan atmosfer, seperti *electrospray*, yang memungkinkan penerapan spektrometri massa dengan kromatografi cair (LC-MS). Teknologi LC-MS ini secara signifikan mempermudah analisis kualitatif dan kuantitatif langsung terhadap berbagai senyawa pencemar yang lebih polar, seperti pestisida generasi terbaru, obat-obatan, dan racun alami seperti mikotoksin. Selain itu, LC-MS juga digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisis berbagai jenis kontaminan baru, seperti akrilamida, melamin, dan pewarna Sudan (Kumoro dan Alhanif, 2022).

2.8 Diabetes Melitus (DM)

Diabetes Melitus adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak cukup menghasilkan insulin atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. Insulin sendiri adalah hormon yang berfungsi mengatur kadar gula dalam darah. Kadar gula darah yang tinggi dapat menyebabkan berbagai masalah kesehatan, seperti penyakit jantung, gangguan penglihatan, dan penyakit ginjal. Seseorang dianggap menderita diabetes jika hasil tes Gula Darah Sewaktu (GDS) menunjukkan lebih dari 200 mg/dl (11,1 mmol/L) atau hasil tes Gula Darah Puasa (GDP) lebih dari 126 mg/dl (>7.0 mmol/L). Terdapat empat jenis utama diabetes, yaitu diabetes tipe 1, diabetes tipe 2, dan diabetes gestasional (diabetes yang terjadi saat kehamilan) serta diabetes jenis lain. Sekitar 90-95% kasus diabetes adalah diabetes tipe 2. Adapun klasifikasi diabetes melitus adalah sebagai berikut :

1. Diabetes Melitus tipe I

Diabetes melitus tipe I atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) terjadi akibat kerusakan sel beta pankreas, yang umumnya disebabkan oleh reaksi autoimun dan menyebabkan kekurangan insulin yang bersifat absolut. Gejalanya baru timbul Ketika sel beta pancreas yang rusak sudah mencapai sekitar 80-90%. Pada anak-anak, kerusakan sel beta pancreas terjadi lebih cepat dibandingkan pada orang dewasa. Sebagian besar pasien yang menderita diabetes mellitus tipe I memiliki antibod yang menunjukkan adanya proses autoimun, sedangkan Sebagian kecil lainnya tidak mengalami proses autoimun (Ramadhani dkk., 2022).

2. Diabetes Melitus tipe II

Sekitar 90% kasus diabetes adalah diabetes melitus tipe II, yang sebelumnya dikenal sebagai Non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM). Diabetes mellitus tipe II ditandai dengan penurunan efektivitas insulin di jaringan perifer (resistensi insulin) serta gangguan fungsi sel beta. Pankreas tidak dapat memproduksi cukup insulin untuk mengimbangi resistensi insulin ini, yang akhirnya menyebabkan defisiensi insulin relatif. Kegemukan atau obesitas

menjadi salah satu pemicu penyakit ini, dan penderita diabetes mellitus tipe II biasanya berusia diatas 40 tahun. Pada DM tipe II, kadar insulin bisa saja tinggi ataupun rendah atau bahkan normal, sehingga penderitanya tidak selalu bergantung pada pemberian insulin (Ramadhani dkk., 2022).

2.9 Pengujian secara *In Vitro*

Metode *in vitro* merupakan dasar penting dalam perkembangan biologi molekuler dan seluler modern. Teknik ini memungkinkan untuk dilakukan eksperimen di luar tubuh organisme hidup, yaitu dalam kondisi laboratorium yang terkendali. Dengan menggunakan sistem *in vitro*, peneliti dapat mengisolasi sel, jaringan, atau biomolekul tertentu untuk mempelajari berbagai proses biologis secara lebih terfokus dan spesifik. Karena sifatnya yang terkontrol, metode ini memberikan kemudahan dalam memanipulasi variabel eksperimental, sehingga hasil penelitian menjadi lebih akurat dan dapat direproduksi. Pendekatan *in vitro* sangat krusial dalam berbagai bidang ilmiah, terutama dalam toksikologi, penemuan obat, dan penelitian dasar biologi. Studi *in vitro* memungkinkan pemahaman mendalam terhadap reaksi biologis di luar organisme utuh, seperti bagaimana sel merespons paparan senyawa kimia, obat-obatan, atau partikel asing. Peneliti juga dapat memantau perilaku sel, mempelajari jalur sinyal seluler, dan mengevaluasi interaksi antara nanopartikel dan penghalang biologis seperti membran sel atau penghalang darah-otak. Selain itu, metode ini banyak digunakan untuk memperkirakan toksisitas obat pada tahap awal, sebelum dilanjutkan ke uji *in vivo* atau klinis.

Dalam konteks penelitian preklinis, sistem evaluasi *in vitro* yang menggunakan kultur sel telah diakui secara luas sebagai alat yang efisien dan relevan. Kultur sel memberikan lingkungan yang terkendali untuk mengamati respons seluler secara spesifik, baik terhadap senyawa baru maupun kondisi lingkungan tertentu. Sistem ini membantu menggambarkan mekanisme molekuler dan interaksi antar sel tanpa dipengaruhi oleh kompleksitas sistem biologis utuh, seperti yang terjadi pada hewan atau manusia. Oleh karena itu, metode *in vitro* menjadi bagian penting

dalam pengembangan terapi baru, pemodelan penyakit, serta sebagai alternatif yang lebih etis dan hemat biaya dibandingkan uji coba pada hewan (Parisa dkk., 2024).

Adapun beberapa cara pengujian antidiabetes yang dilakukan secara *in vitro* adalah sebagai berikut :

1. Uji α -glukosidase inhibitory

Enzim α -glukosidase ditemukan di batas enterosit jejunum pada usus kecil dan memainkan peran penting dalam sintesis serta pemecahan karbohidrat, serta mengurangi hiperglikemia setelah makan. Secara prinsip, uji α -glukosidase berfungsi untuk mengubah karbohidrat menjadi glukosa, sehingga penghambatan aktivitas enzim ini akan menyebabkan penurunan kadar gula darah. hasil absorbansi uji dari inhibitor α -glukosidase dihitung aktivitas % hambatannya dengan persamaan berikut ini :

$$\% \text{ hambatan} = \frac{c-s}{c} \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan :

s = absorbansi sampel

c = absorbansi kontrol (Blanko DMSO) (Alexandra dkk., 2023).

2. Uji inhibitor α -amilase

α -amilase adalah enzim utama yang diproduksi oleh air liur dan cairan pankreas, yang berfungsi untuk memecah molekul pati yang tidak larut menjadi molekul yang dapat diserap. Penghambatan alfa-amilase di pankreas merupakan fokus utama dalam terapi untuk memastikan bahwa oligosakarida dicerna menjadi monosakarida yang dapat diserap di area brush border usus, sehingga dapat mengurangi hiperglikemia setelah makan. *Acarbose* dapat berfungsi sebagai kontrol positif karena kemampuannya dalam menghambat α -amilase. Persentase penghambatan α -amilase dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi aktivitas} = \frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs ekstrak})}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Metode lain untuk menguji α -amilase adalah dengan menggunakan metode pewarnaan pati-iodin. Pengujian menggunakan metode pewarnaan pati-iodin merupakan modifikasi dari teknik pewarnaan pati dengan iodin. Dimana dari inhibisi α -amilase dapat ditentukan dengan rumus :

Penghambatan aktivitas enzim (%) = $\frac{(C-S)}{C} \times 100\%$ (Alexandra dkk., 2023)III.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Oktober 2024 – April 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, dan Analisa Spektroskopi LC-MS/MS dilakukan di Badan Reserse Kriminal Pusat Laboratorium Forensik Bogor.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan didalam penelitian ini adalah neraca analitik, alat-alat gelas, satu set alat destilasi, *rotary vacuum evaporator*, penangas air, pipa kapiler, chamber, corong pisah, rak tabung reaksi, mikropipet, microtip, lampu UV, incubator, satu set alat kromatografi lapis tipis, satu set alat kromatografi vakum cair, satu set alat kromatografi kolom, spektrofotometer Uv-Vis dan spektrofotometri LC-MS/MS Adapun bahan-bahan yang digunakan didalam penelitian ini adalah sampel kulit batang damar mata kucing (*S. javanica*) yang diambil dari daerah Krui, Pesisir Barat. Adapun bahan-bahan kimia yang digunakan didalam penelitian ini adalah aquadest, metanol, etil asetat, n-heksana, kertas saring, plat KLT, silika gel merk G60 untuk impregnasi, silika gel G60 F254 (35-70 Mesh). Sedangkan bahan kimia yang digunakan untuk uji

antidiabetes adalah enzim, larutan pati, enzim α -amilase, *acarbose*, larutan iodine, HCl, dan DMSO.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Preparasi sampel

Sampel kulit kayu damar mata kucing dideterminasi di Laboratorium Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu ruang lalu dipotong kecil-kecil dan dihaluskan. Serbuk halus inilah yang akan digunakan sebagai sampel didalam penelitian ini.

3.3.2. Ekstraksi

Serbuk halus kulit batang damar mata kucing ditimbang sebanyak 5000 gram, kemudian serbuk halus tersebut direndam dengan menggunakan pelarut metanol yang sudah didestilasi. Proses maserasi dilakukan selama 1x24 jam dan dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Lalu maserat disaring menggunakan kertas saring kemudian diukur jumlah total maserat yang didapat dari hasil maserasi selama 3 kali. Dipekatkan maserat menggunakan *rotary evaporator* dan ditimbang ekstrak pekat metanol yang sudah pekat untuk mengetahui beratnya

3.3.4 Fraksinasi

Ekstrak kasar metanol kemudian dipartisi bertingkat dengan menggunakan corong pisah. Selanjutnya fraksi metanol diambil dan di KLT, lalu dipekatkan menggunakan vakum evaporator.

3.3.5. Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Ekstrak pekat metanol 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 vakum 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).

3.3.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Didalam penelitian ini, digunakan kromatografi lapis tipis untuk melihat pola pemisahan senyawa yang berada pada ekstrak kasar. KLT dilakukan menggunakan campuran eluen *n*-heksana dan etil asetat. Fraksi metanol hasil partisi dan hasil KCV kemudian masing-masing ditotol pada plat KLT menggunakan pipa kapiler lalu dielusi didalam chamber dengan eluen yang sesuai dan diamati dibawah sinar UV. Kemudian hasil kromatogram disemprot dengan menggunakan serum sulfat agar noda dapat tampak pada plat KLT. Selanjutnya, KLT hasil KCV dilihat setiap fraksi yang memiliki nilai R_f (*Retention factor*)

yang sama digabungkan menjadi satu dan dimurnikan lagi menggunakan kromatografi kolom.

3.3.7. Kromatografi Kolom (KK)

Setelah didapatkan hasil fraksi-fraksi yang lebih sedikit dan memiliki pola pemisahan yang terbaik yang selanjutnya dipisahkan menggunakan Teknik kromatografi kolom. Pemisahan menggunakan kromatografi kolom dilakukan dengan fase diam yang terdiri dari kombinasi silika gel kasar dan halus, yang berfungsi menahan laju elusi fase gerak. Silika kasar digunakan dalam jumlah 30 kali berat sampel, sedangkan silika halus 2 kali berat sampel. Dalam penelitian ini, fase diam yang digunakan adalah silika gel merk (35-40 Mesh), yang sebelumnya telah dilarutkan dalam pelarut yang akan digunakan untuk proses elusi. Silika gel dicampur dengan pelarut untuk membentuk slurry, yang kemudian dituangkan dengan cepat dan hati-hati ke dalam kolom hingga merata dan mencapai kepadatan maksimum. Sampel yang telah diimpregnasi dengan silika kasar dua kali berat sampel dimasukkan ke dalam kolom, yang harus tetap dalam keadaan basah untuk menjaga fase diam dan mencegah gangguan pada proses elusi. Setelah itu, kolom dielusi menggunakan eluen yang sesuai, dan hasilnya ditampung dalam vial. Hasil dari kromatografi kolom selanjutnya di KLT kembali (Valensia dkk., 2021).

3.4 Analisis Kemurnian

Didalam penelitian dilakukan analisis kemurnian dengan menggunakan KLT dengan campuran eluen yang sesuai. Suatu senyawa dikatakan murni apabila hanya menunjukkan satu noda dengan beberapa campuran eluen yang digunakan kemudian disemprot dengan larutan serum sulfat agar noda lebih tampak jelas dari komponen senyawa tersebut.

3.5 Analisis Senyawa dengan LC-MS/MS

Fraksi aktif yang dipilih kemudian dikarakterisasi menggunakan LC-MS/MS

(Lampiran 4)

3.6 Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji antidiabetes dilakukan dengan mengukur aktivitas penghambatan enzim α -amilase menggunakan ekstrak sampel secara *in vitro*. Sebanyak 4 mg sampel dilarutkan dalam 0,5 mL DMSO 5% dan 9,5 akuades dengan variasi konsentrasi 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, 1000 ppm, dan 2000 ppm. Terdapat empat jenis larutan: larutan uji sampel (A1), larutan blanko sampel (A2), larutan kontrol (A3), dan larutan blanko (A4). Pada A1, ditambahkan 0,25 mL larutan sampel dan 0,25 mL enzim α -amilase, kemudian dihomogenkan. Pada A2, larutan sampel dengan konsentrasi yang sama ditambahkan enzim. A3 berisi 0,25 mL enzim dan A4 berisi 0,5 mL. Semua larutan dibiarkan pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,25 mL amilum 0,2% dan diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Setelah inkubasi, ditambahkan 0,25 mL HCl 1 N, 0,25 mL larutan iodine, dan 4 mL lainnya, lalu diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV Vis pada panjang gelombang 600 nm. Kontrol positifnya berupa akar bosa (Mwakalukwa *et al.*, 2020).

Persen inhibisi dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = [1 - (A2 - A1)(A4 - A3)] \times 100\% \dots\dots\dots(3)$$

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

Adapun kesimpulan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Dihasilkan senyawa hasil isolasi berdasarkan karakterisasi menggunakan LC-MS/MS dari fraksi metanol kulit batang damar mata kucing yaitu senyawa *copalliferol* B yang berwarna coklat pekat sebanyak 150 mg.
2. Uji antidiabetes pada senyawa *copalliferol* B memberikan hasil berupa daya hambat yang lemah pada enzim α -amilase dengan IC_{50} sebesar 193,402 $\mu\text{g/mL}$.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk maserasi sampel dalam jumlah lebih besar agar memperoleh senyawa murni yang cukup untuk analisis lebih lanjut, serta melakukan konfirmasi struktur dengan instrumen lanjutan seperti NMR, dan IR.. Selain itu, uji bioaktivitas sebaiknya diperluas tidak hanya terbatas pada antidiabetes, tetapi juga mencakup aktivitas lain seperti antioksidan, antiinflamasi, atau uji *in vivo* sehingga potensi farmakologis senyawa dapat diketahui secara lebih komprehensif dan mendukung pengembangan menuju fitofarmaka berbasis bahan alam.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexandra, F. D., Frethernety, A., Trinovita, E., Fatmaria., dan Ysrafil. 2023. *Inventaris Tanaman Obat Antihiperglikemia pada Lahan Gambut sebagai Terapi Komplomenter (Pendekatan desain Obat secara In Vivo, In Vitro dan In Silico)*. PT. Nas Medika Indonesia. Klaten.
- Amna, U., dan Halimatussakdiah. 2016. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Tumbuhan *Alseodaphne Peduncularis* (Wall. Ex. Ness). Meissn (Medang Hitam) serta Uji Sitotoksik terhadap Sel HeLa (Kanker Servik). *Jurnal Ilmiah Jurutera*. 3(2):1-5.
- Anto, E. J., dan Prasetisni, L. D. 2022. *Monograf Khasiat Daun Kenikir (Cosmos caudatus) Hati (Liver)*. Yayasan Wiyata Bestari Samasta. Cirebon.
- Anugrahini, C. P. H., Wahyuni, A. S. 2021. Aktivitas Antioksidan Tanaman Tradisional di Pulau Jawa. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 1(2): 120-131.
- Arifin, B., dan Ibrahim, S. Struktur, 2018. Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1):21-29
- Bintoro, A. 2020. Analisis Kondisi Tegakan Damar (*Shorea javanica*) Di Universitas Lampung Pada Masa Penanaman 2005. *Jurnal Talenta Conference Series : Agricultural and Natural Resources (ANR)*. 3(1) : 1-.
- Charismawati, N, A., Erikania, S., dan Ayuwardani, N. 2021. Analisis Kadar Hidrokuinon pada Krim Pemutih yang Beredar Online dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Kartika Kimia*. 4(2): 58-65.
- Chauhan, S., Singh, M., and Narayan, L. 2002. Isolation of 3 β -hydroxyolean-12-ene, friedelin and 7-methoxy-4-5-dihydroxyisoflavone From Dry and Fresh Leaves of *Shorea robusta*. *Indian Journal of Chemistry*. 41(5): 1097-1099.
- Damayanti., Rezinda, C, F, G., Ridjayanti, S, M., and Bantara, I. 2021. Health identification of *Shorea javanica* Koord. and valetton in nursery. *Journal IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 918(012045). 1-8.
- Dewi, N, M, D P. 2023. Tinjauan Literatur : Pemisahan Asam Amino dalam Berbagai Sampel Bahan dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Multidisiplin*. 1(3): 184-189.

- Dianti, P., Dila, Q. N., Elsy, M., Putri, W., dan Syfa, D. A. 2021. Isolasi senyawa kumarin pada tanaman. *Jurnal Syntax Idea*. 3(1): 1576–1585.
- Emilda., dan Delfira, N. 2023. Pemanfaatan Silika Gel 70-230 Mesh Bekas Sebagai Pengganti Fase Diam Kromatografi Kolom pada Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*. 6(1): 45-51.
- Fadhilah, R. P., Rahma, R., Sepharni, A., Mufidah, R., Sari, B. N., dan Pangestu, A. 2022. Klasifikasi Penyakit Diabetes Mellitus berdasarkan Faktor-Faktor Penyebab Diabetes Menggunakan Algoritma C4.5. *Jurnal Ilmiah Penelitian dan Pembelajaran Informatika*. 7(4): 1265-1270.
- Fikayuniar, L. 2023. *Membedah kandungan Kimia Baik dalam Picisan*. Jejak Pustaka. Bantul.
- Frafela, R. 2024. *Panduan Analisis Tumbuhan Obat*. Wawasan Ilmu. Jawa Tengah.
- Geewanada, Y, A., Subramaniam, S., Sultanbawa, M, U, S., Surendrakumar, S., dan Bladon P. 1986. Another Polyphenol, Copalliferol B, from *Vateria copallifera* (dipterocarpaceae). *Jurnal Phytochemistry*. 25(6). 1498-1500.
- Harahap, M. R., Ariwidiani, N. N., Razali, M., dan Sari, N. 2024. *Buku Ajar Teknik Laboratorium*. Samudra Biru. Bantul.
- Hasan, H., Djuwarno, E, N., Samudi, H., Susanti, W., Abdulkadir., dan Hiola, F. 2022. Senyawa Antidiabetes Fraksi Aktif Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L.) *Jurnal Syifa Sciences and Clinical Research*. 4(2): 517-529.
- Hasnaeni., Wisdawati., dan Usman, S. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika*. 5(2): 175-182.
- Herdiana, N., Sugiharto, R., dan Winarti, D. D. T. 2024. *Rempah dan Minyak Atsiri Daun*. CV. Gita Lentera Redaksi. Padang.
- Irianti, T. T., Kuswandi., Nuranto, S., dan Purwanto. 2021. *Antioksidan dan Kesehatan*. UGM Press. Yogyakarta.
- Karim,A., Adnan, J., dan Irmawati. 2022. Penentuan kadar alkaloid total ekstrak etanol daun ungu (*Graptophyllum pictum* L.) dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Farmasi Palamonia*. 3(1): 42-47.
- Krisnatuti, D., Rasjmida, D., dan Yenrina, R. 2014. *Diet Sehat untuk Penderita Diabetes Mellitus*. Penebar Swadaya. Cibubur.
- Kusnadi, J. 2018. Fenolik : *Antioksidan dan Antimikroba Alami untuk Pangan Pengawet Alami untuk Makanan*. UB Press. Malang. .

- Manab, A., Sawitri, M. E., dan Awwaly, K. U. A. 2017. *Edible Film Protein Whey (Penambahan Lisozim Telur dan Aplikasi di Keju)*. Universitas Brawijaya Press. Malang.
- Marlina, L., Anisa, Z., Cengristitama., Sari, M. W., Sugiawati, V. A., Azizah, Z., Yetti, R. D., Maghfiroh, A. M., Sari, I., Setyaningrum, D., Asrianti., dan Efendi, M. R. S. 2023. *Kimia Fisika*. CV. Gita Lentera. Padang.
- Maro, J.P., Alimuddin, A.H., dan Harlia. 2015. Aktivitas Hasil Kromatografi Vakum Cair Fraksi Metanol Kulit Batang Ceria (*Baccaurea hooker*). *Jurnal Kedokteran Klinik*. 4(4): 35-40.
- Mawarda, A., Samsul, E., dan Sastyarina, Y. 2020. Pengaruh Berbagai Metode Ekstraksi dari Ekstrak Etanol Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana Merr*) terhadap Rendemen Ekstrak dan Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 6 (1) : 32-39.
- Megawati., Sofa, F., Lia, M., Edi, S., dan Galuh W. 2021. Kandungan Fenolik dan Flavonoid Total Daun *Macaranga hirsuta* (Blume) Mull. Arg sebagai Kandidat Obat Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Indonesia*. 11(1):1-7.
- Mosy, F. F dan Kuswandani, K. 2019. Identifikasi Senyawa Jamu Pegal Linu yang Beredar di Kabupaten Bantul dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Surya Medika. *Jurnal. Ilmiah Ilmu Keperawatan dan Ilmu Kesehatan Masyarakat*. 14(2): 80-85.
- Mu'nim, A., dan Ahmad, I. 2023. Aplikasi Teknik Ekstraksi Hijau pada Pengembangan Obat Herbal. Deepublish Digital. Sleman.
- Muhsin, L, B., dan Ramandha, M, E, P. 2023. Ekstraksi Jahe (*Zingiberis Officinale*) dan uji pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Biocity*. 1(2): 66-72.
- Mulyono, N., Wijaya, C, H., Fardiaz, D., dan Rahayu, W, S. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Damar Mata Kucing (*Shorea javanica*) dengan Metode Pirolisis-GC/MS. *Jurnal Natur Indonesia*. 14(2): 155-159.
- Musa, A., Aminah, N. S., Kristanti, A. N., Fathoni, I., Amalia, R. T., Thant, T. M., Rajasulochana, P., and Takaya, Y. 2024. Phytochemical and Pharmacological Profile of Genus Shorea: A Review of the Recent Literature. *Journal Heliyon*. 10(2): 1-23.
- Mwakalukwa, R., Amen, Y., Nagata, M., and Shimizu, K. 2020. Postprandial hyperglycemia lowering effect of the isolated compounds from olive mill wastes-an inhibitory activity and kinetics studies on α -glucosidase and α -amylase enzymes. *ACS OMEGA*. 5: 20070-20079.
- Nasrudin., Wahyono., Mustofa., dan Susidarti, R. A. 2017. Isolasi Senyawa Steroiddari Kulit Akar Segugu (*Clerodendrum serratum* L.Moon). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3):332-340.

- Nola, F., Putri, G. W., Malik, L. H., dan Andruanu, N. Isolasi senyawa metabolit sekunder steroid dan terpenoid dari 5 tanaman. *Jurnal Syntax Idea*. 3(7): 1-7.
- Ningrum, D. M. 2023. *Kimia Farmasi*. Penerbit Samudera Biru. Yogyakarta.
- Ningsih, I. S., Chatri, M., Advinda, L., dan Violita. 2023. Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat pada Tumbuhan. *Jurnal Serambi Biologi*. 8(2): 126-132.
- Ningtias, A., dan Rani, Z. 2023. Karakteristik simplisia dan skrining fitokimia buah buni (*Antidesma bunius* L. Spreng). *Jurnal Sains dan Farmasi Indonesia*. 1(1): 1-7.
- Nugraha, A. S., Nuri, P. A., dan Lestyo W. 2020. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Kepundung (*Baccaurea racemosa* muell. Agr.) secara *In vitro*. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 7(1):60-66.
- Parisa, N., Kamaludin, H. M. T., Saleh, M. I., Rosdah., Lusiana, E., dan Fatmawati. 2024. *Buku Ajar Farmakologi Eksperimental*. Uwais Inspirasi Indonesia. Jawa Timur.
- Pratibha, M, G, I., Diah, V, R., Dina , E., Muhammad, F, R., Ngankan, P, A, D, P., Rista, A, P., Noviani. 2025. Kajian Fitokimia dan Analisa Kadar Fenolik Total Ekstrak Metanol Kulit Batang Merawan (*Hopea mengarawan* Miq.). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 8(2): 753-760.
- Prayudo, A., N., Okky, N., Setyadi., dan Antaresti. 2015. Koefisien Transfer Massa Kurkumin dari Temulawak. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*. 14(01):26-31.
- Putri, F. E., Diharmi, A., dan Karnila, R. 2023. Identifikasi Senyawa Metbolit Sekunder pada Rumuput Laut Cokelat (*Sargassum plagyophyllum*) dengan Metode Fraksinasi. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. 15 (1) : 41-46.
- Ramadhani, N, F., Siregar, K, N., Adrian, V., Sari, I, R., dan Hikmahrachim,H, G. 2022. Hubungan Aktivitas Fisik dengan Diabetes Melitus Pada Wanita Usia 20-25 di DKI Jakarta (Analisis Data Posbindu PTM 2019). *Jurnal Biostatistik, Kependudukan, dan Informatika Kesehatan*. 2(2): 72-78.
- Rohman, A. 2020. *Analisis Farmasi dengan Menggunakan Kromatografi Cair*. UGM Press. Sleman.
- Santosa, H., Wisya, S., dan Handayani, N, A. 2018. Ekstraksi Saponin dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik suartu Usaha untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*.

3(2):12-16.

- Saputri, R. D. 2020. Komplikasi Sistem pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 11(1): 230-236.
- Sari, D. K., dan Hastuti, S. 2020. Analisis Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Seligi (*Phyllanthus Buxifolius* Muell. Arg) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmu Kedokteran Indonesia*. 7 (1) : 55-62.
- Sartika, F. N. H. 2019. Kadar HbA1c pada Pasien Wanita Penderita Diabetes mellitus Tipe 2 di RSUD dr. Doris Sylvanus Palangkaraya. *Borneo Journal of Medical Laboratory Technology*. 2 (1) : 47-52.
- Sinulingga, S., Subandrate., dan Safyudin. 2020. Uji Fitokimia dan Potensi Antidiabetes Fraksi Etanol Air Daun Benalu Kersen (*Dendrophthoe petandra* (L) miq). *Jurnal Kedokteran Kesehatan*. 16 (1) : 76-84.
- Syahri, J., Rullah, K., dan Siregar, S, H. 2012. Bioaktivitas Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Langka Meranti Lilin (*Shorea Teysmaniana* Dier). *Jurnal Photon*. 3(1):1-5).
- Tanfil, A., Alfianna, W., dan Situmorang, I, M, B. 2023. Alkaloid ; Golongan senyawa dengan segudang manfaat farmakologis. *Jurnal Ilmiah Pannmed*. 18(1): 37-42.
- Utami, N., Susilowati., Angelia, P, T., dan Paramesti, N, A. 2023. Profil Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Landep (*Barleria prionitis* L.) sebagai Kandidat Antidiabetes dengan Variasi Metode Ekstraksi. *Jurnal Farmasetisn*. 12(4): 431-440.
- Valensia, R., Aida, F., Hartati, H., dan Hermawan, K, A. 2021. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Beberapa Hewan Bahari. *Journal of Pharmacy, Medical and Health Science*. 2(1): 1-10.
- Wahyuni, S., Yunita, I., Sundari, U. Y., Pagalla, D. B., Kalalinggi, S. Y., Alpian., Nurmalarim, E., Suryandani, H., Ramlah., dan Nasrullah, M. 2024. *Ekstraksi Bahan Alam Buku Kolaborasi Dosen Nasional*. Gita Lentera. Padang.
- Walker, R., and Whittlesea, C. 2012. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Elseiver. Edinburgh.
- Wulandari, L., Ari, S, N., dan Ulfa, A, H. 2021. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Antidiabetes Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pennata* J. R. Forst & G. Forts.) secara *In vitro*. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 11(2): 132-141.
- Zhang, W., Meng, J., Liu, Q, Makinde, E, A., and Lin, Q. 2020. *Shorea roxburghii* Leaf Extract Ameliorates Hyperglycemia Induced Abnormalities in High Fat/Fructose and Streptozotocin Incuded Diabetic Rats. *Chemistry and Biodiversity*. 3(17).

Zawawi, N, K., dan Khairunnisa, N, K. 2012. Phytochemical Studies and Bioactivities of *Xylopia Ferruginea* Hook (annonaceae) and *Shorea maxwelliana* King (dipterocarpaceae). *Jurnal Trop. For. Sciencei*. 24(2, 215-220.