

**EKSPLORASI DAN POTENSI SENYAWA BIOAKTIF DAUN
DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans* L) SEBAGAI AGEN
ANTIDIABETES**

**EXPLORATION AND POTENTIAL OF THE BIOACTIVE COMPOUNDS
OF DANDANG GENDIS LEAVES (*Clinacanthus nutans* L)
AS ANTIDIABETIC AGENT**



**Hj. ARTATI
H013201002**



**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EKSPLORASI DAN POTENSI SENYAWA BIOAKTIF DAUN
DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans* L.) SEBAGAI AGEN
ANTIDIABETES**

Disertasi

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar doktor

Program Studi Ilmu Kimia

Disusun dan diajukan oleh

Hj. ARTATI
H013201002

kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

HASIL PENELITIAN DISERTASI

**EKSPLORASI DAN POTENSI SENYAWA BIOAKTIF DAUN
DANDANG GENDIS (*Clinacanthus nutans* L.) SEBAGAI AGEN
ANTIDIABETES**

Disusun dan diajukan oleh:

Hj. ARTATI
H013201002

Telah diperiksa dan dinyatakan memenuhi syarat untuk melaksanakan

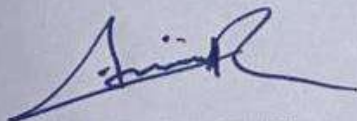
Seminar Hasil Penelitian

Menyetujui,

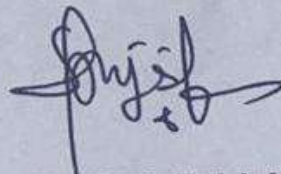
Tim Promotor



Prof. Dr. Ahyar Ahmad
Promotor



Dr. Abdul Karim, M. Si
Ko-promotor 1



Dr. Sofa Fairiah
Ko-Promotor 2

Ketua Program Studi Ilmu Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin




Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, disertasi berjudul "Eksplorasi dan Potensi Senyawa Bioaktif Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) sebagai Agen Antidiabetes" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Ahyar Ahmad, M.Si sebagai Promotor dan Dr. Abdul Karim, M. Si sebagai ko- promotor-1 serta Dr. Sofa Fajriah sebagai ko- promotor-2. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka disertasi ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa disertasi ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 01 April 2024




Nj. ARTATI
NIM H013201002

PRAKATA



Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala atas berkat, Rahmat, taufik dan hidayahNya, sehingga penulisan disertasi dengan judul **“Eksplorasi dan Potensi Senyawa Bioaktif Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) sebagai Agen Antidiabetes”** dapat diselesaikan dalam rangka memenuhi sebagian persyaratan penyelesaian Program Doktor (S3) pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Segala puji hanya bagi Allah, kita memuji-Nya, memohon pertolongan dan ampunan kepada-Nya. Kita berlindung kepada Allah dari kejahatan diri kita dan kejelekan amal perbuatan kita. Barangsiapa yang Allah beri petunjuk, maka tidak ada yang dapat menyesatkannya. Dan barangsiapa yang Allah sesatkan, maka tidak ada yang dapat memberinya petunjuk. Aku bersaksi bahwa tidak ada sesembahan yang berhak disembah kecuali Allah, tidak ada sekutu bagi-Nya, dan aku bersaksi bahwa Muhammad adalah hamba dan Rasul-Nya.

Penulisan disertasi ini merupakan bentuk pengabdian kecil penulisan kepada Allah Subhanahu wa Ta'ala, dalam penyusunan disertasi ini penulis mendapatkan banyak kendala, kesulitan dan hambatan dalam proses penelitian, pengolahan data hingga penyusunan hasil penelitian. Namun berkat pertolongan Allah melalui perantara berbagai pihak maka kendala tersebut dapat teratasi. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis hanturkan terima kasih paling agung kepada kedua orangtua penulis, Ayahanda **Almarhum Andi Abbas, BA** dan Ibunda **Syamsiah** yang telah mengasuh, mendidik, membesarkan dan mengajarkan kata pertama kepada penulis, sehingga saat ini dapat menuliskan ribuan kata dalam disertasi ini. Rabbighfirlii waliwalidayya warhamhu maa kamaa rabbayanii shagiiraan, Permohonan maaf dan ucapan terima kasih kepada suami tercinta penulis **H. Hamzah, SE** yang senantiasa sabar memberi dorongan, dukungan dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Kepada putra-putri penulis **Muhammad Gilland Ghazali** dan **Ghina Ghaniyah** terima kasih atas celoteh dan senyumannya yang menjadi bagian tak terpisahkan dari penyusunan disertasi ini. Semoga Allah meridhoi kalian menjadi anak yang shaleh dan shalehah.

Ucapan terima kasih kepada mertua saya bapak **Tompo** dan **Hj. Nurhana** serta saudara penulis **Etta Nono, Etta Hero, Etta Nani** dan **Etta Appank** yang telah memberi semangat dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Tidak lupa pula penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada kepada bapak **Prof. Dr. Ahyar Ahmad** sebagai promotor, bapak **Dr. Abdul Karim, M.Si** dan Ibu **Dr. Sofa Fajriah** sebagai ko-promotor yang telah meluangkan waktu, tenaga, pikiran dan memberi motivasi hingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Ucapan terima kasih kepada Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Makassar bapak **Dr. Drs. Rusli, Apt.,Sp.FRS**, dan **Rahman, S.Si.,M.Si** sebagai ketua Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang setinggi-tingginya kepada:

1. **Prof. Dr. Jamaluddin Jompa, M.Sc.** selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar yang telah memberikan kesempatan bagi penulis untuk mengikuti program Pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin.
2. **Dr. Eng Amiruddin, S.Si., M.Si.** selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti program Pendidikan Doktor di Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.
3. **Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phil** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kimia Universitas Hasanuddin yang telah memberikan pelayanan yang baik selama penulis menempuh pendidikan.
4. Staff pengajar prodi S3 Ilmu Kimia Universitas Hasanuddin yang telah memberikan bekal ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis selama menempuh pendidikan di prodi S3 Ilmu Kimia.
5. Seluruh staff dan dosen di lingkungan Politeknik Kesehatan Kemenkes Makassar yang telah memberi dukungan selama menempuh jenjang pendidikan doktor.
6. Tenaga kesehatan dan karyawan Klinik GG Makassar, adinda **Dahriani, Amd. AK** dan **Muh. Arif** atas dukungan selama penulis menyelesaikan disertasi ini.
7. Rekan-rekan seperjuangan program S3 Ilmu Kimia, kakanda **Dije** dan **Syamsidar** serta adinda **Arfiani Nur** atas segala bantuan, motivasi dan kebersamaannya.

Terakhir kepada semua pihak yang telah membantu dan tidak sempat dituliskan namanya satu persatu, penulis haturkan Jazaakumullahu khairan katsira, semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala melimpahkan balasan kebaikan kepada semuanya. Aamiin.

Penulis menyadari banyak kesalahan dalam disertasi ini yang merupakan kekhilafan penulis, namun kebenaran dalam disertasi ini adalah dari Allah Subhanahu Wa Ta'ala semata. Penulis mengharapkan kepada para pembaca yang Budiman dapat menyampaikan kritikan dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan disertasi ini.

Akhirul kalam, hanya do'a dan harapan yang senantiasa terpancar dalam proses penulisan disertasi ini. Semoga karya ini dicatat sebagai amal shalih dan menjadi ilmu yang bermanfaat yang tiada putus pahalanya. Semoga Allah berkenan menerima pengabdian ini, melimpahkan pahala, serta menjauhkan diri penulis dari sifat buruk seperti ujub, riya', sum'ah, dan takabbur. Sehingga yang tertinggal adalah Ikhlas semata-mata. Aamiin.

Makassar, 01 April 2024

Hj. Artati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xi
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN UMUM	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Kegunaan Penelitian.....	6
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	7
1.6 Kebaruan Penelitian	7
1.7 Daftar Pustaka.....	7
BAB II PENENTUAN GOLONGAN SENYAWA DENGAN MENGGUNAKAN METODE FITOKIMIA DAN LC-MS/MS PADA EDDG	9
2.1 Abstrak.....	9
2.2 Pendahuluan	9
2.3 Metode.....	10
2.4 Kesimpulan	49
2.5 Daftar Pustaka.....	49
BAB III AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI KETIGA PRAKSI PELARUT PADA EDDG	52
3.1 Abstrak.....	52
3.2 Pendahuluan	52
3.3 Metode.....	53
3.4 Hasil dan Pembahasan.....	53
3.5 Kesimpulan	57
3.6 Daftar Pustaka.....	57
BAB IV AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM α-GLUKOSIDASE	59
4.1 Abstrak.....	59
4.2 Pendahuluan	59
4.3 Metode.....	60
4.4 Hasil dan Pembahasan.....	61
4.5 Kesimpulan	66
4.6 Daftar Pustaka.....	66
BAB V ANALISIS <i>IN SILICO</i> PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α- GLUKOSIDASE	69
5.1 Abstrak.....	69
5.2 Pendahuluan	69
5.3 Metode.....	70
5.4 Hasil dan Pembahasan.....	70
5.5 Kesimpulan	83

5.6 Daftar Pustaka.....	83
BAB VI TOKSISITAS AKUT DAN <i>LETHAL DOSE</i> (LD₅₀).....	84
6.1 Abstrak.....	84
6.2 Pendahuluan.....	84
6.3 Metode.....	85
6.4 Hasil dan Pembahasan.....	87
6.5 Kesimpulan.....	91
6.6 Daftar Pustaka.....	91
BAB VII PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN DANDANG GENDIS (<i>Clinacanthus nutans</i> L.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH.....	94
7.1 Abstrak.....	94
7.2 Pendahuluan.....	94
7.3 Metode.....	96
7.4 Hasil dan Pembahasan.....	98
7.5 Kesimpulan.....	105
7.6 Daftar Pustaka.....	105
BAB VIII ANALISIS EKSPRESI GLUT-2 PADA KELOMPOK MENCIT DAN HASIL RERATA JUMLAH SEL β PANKREAS.....	109
8.1 Abstrak.....	109
8.2 Pendahuluan.....	109
8.3 Metode.....	110
8.4 Hasil dan Pembahasan.....	112
8.5 Kesimpulan.....	121
8.6 Daftar Pustaka.....	121
BAB IX PEMBAHASAN UMUM.....	124
9.1 Penentuan Golongan Senyawa Dengan Menggunakan Metode Fitokimia dan LC- MS/MS Pada EDDG.....	124
9.2 Aktivitas Antioksidan Dari Ketiga Fraksi Pelarut pada EDDG.....	127
9.3 Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase.....	128
9.4 Toksisitas Akut Dan <i>Lethal Dose</i> (LD ₅₀).....	130
9.5 Pengaruh Pemberian Ekstrak Dandang Gendis (<i>Clinacanthus nutans</i> L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah.....	132
9.6 Analisis Ekspresi Glut-2 Pada Kelompok Mencit Dan Hasil Rerata Jumlah Sel β Pankreas.....	134
BAB X KESIMPULAN UMUM.....	138
DAFTAR PUSTAKA.....	139
LAMPIRAN.....	158

DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	Halaman
1. Hasil Skrining Fitokimia EDDG	13
2. Hasil Analisis LC-MS/MS dari Ekstrak Heksana DDG	13
3. Golongan Senyawa metabolik sekunder yang Terdapat pada Ekstrak Heksana DDG Dianalisis Dengan LC-MS/MS.....	22
4. Hasil Analisis LC-MS/MS dari Ekstrak Etil Asetat DDG	22
5. Golongan Senyawa Metabolik Sekunder Yang Terdapat pada Ekstrak Etil Asetat DDG Dianalisis LC-MS/MS.....	31
6. Hasil Analisis LC-MS/MS dari Ekstrak Etanol DDG	32
7. Golongan Senyawa Metabolik Sekunder Yang Terdapat Pada Ekstrak Etanol DDG Dianalisis Dengan LC-MS/MS.....	41
8. Perbandingan Hasil Golongan Senyawa Kimia dari Uji Fitokimia dan LC-MS/MS ..	42
9. Hasil Uji aktivitas antioksidan dengan DPPH.....	53
10. Hasil Inhibisi Aktivitas Enzim α -Glukosidase	61
11. Hasil <i>in silico</i> molekuler ligan standar dan ligan uji dengan reseptor α -glukosidase	71
12. Ligan-ligan uji	72
13. Perbandingan interaksi hasil <i>in silico</i> antara ligan standar dan ligan uji	81
14. Hasil uji toksisitas akut (dosis lethal 50) ekstrak etil asetat daun dandang gendis (<i>Clinachantus Nutans</i> L.)	88
15. Rerata kadar glukosa darah Mencit yang diinduksi Aloksan setelah perlakuan....	101
16. Hasil Persentase Penurunan Glukosa Darah Mencit yang diinduksi Aloksan Setelah Perlakuan.....	101
17. Rerata jumlah sel β Pankreas.....	116
18. Rata-rata hasil perhitungan jumlah sel β pankreas dengan nilai standar deviasi..	116

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	Halaman
Gambar 1 Daun Dandang Gendis (<i>Clinacanthus nutans</i> L.)	11
Gambar 2 Reaksi Flavonoid dengan Logam Mg dan HCl.....	44
Gambar 3 Reaksi Alkaloid dengan Uji Mayer.....	45
Gambar 4 Reaksi Hidrolisis Bismut	45
Gambar 5 Reaksi Uji Dragendorff	46
Gambar 6 Reaksi Terpenoid dengan Pereaksi Liebermann Burchard.....	47
Gambar 7 Reaksi Hidrolisis Saponin dalam air.....	47
Gambar 8 Reaksi antara Tanin dan FeCl ₃	48
Gambar 9 Reaksi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan.....	55
Gambar 10 Mekanisme peredaman radikal oleh flavonoid	57
Gambar 11 Grafik hubungan persentase inhibisi Enzim α -Glukosidase	64
Gambar 12 Residu asam amino (a) Coumarin dan (b) (+)-[6]-Gingerol.....	74
Gambar 13 Residu asam amino (a) (2 ¹ ±,5 ¹ ±,17 ¹ ±)-17-Hydroxy-2- (hydroxymethyl)-17-methylandrostan-3-one dan (b) 4-Coumaric Acid	75
Gambar 14 Residu asam amino (a) Vanilin dan (b) Ferulik Acid.....	76
Gambar 15 Residu asam amino (a) Sinapinic Acid dan (b) Caffeic Acid	77
Gambar 16 Residu asam amino (a) Luteolin dan (b) Zingerol	78
Gambar 17 Residu asam amino (a) Curcumene (b) 13-apo-beta-carotenone	79
Gambar 18 Residu asam amino (a) Apigenin (b) Quercetin (c) Glibenclamide.....	81
Gambar 19 Hasil pewarnaan IHC GLUT-2 pada kelompok mencit. Tanda panah menunjukkan adanya Ekspresi GLUT-2 ditandai dengan adanya warna coklat.....	113
Gambar 20 Hasil ekspresi sel β pancreas	120

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
et al	Dan kawan kawan
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration</i>
EDDG	Ekstrak Daun Dandang Gendis
DDG	Daun Dandang Gendis
UV	Ultra Violet
ESI	<i>Electrospray Ionization</i>
PG	Panjang gelombang
UV-VIS	Ultra violet-visible
CN	Cetana Number
NM	Nanometer
HVS	<i>Herpes Simplex</i>
VVZ	<i>Virus Varicella Zoster</i>
ML	Mililiter
IDF	<i>Individual Distribution Frame</i>
ppm	<i>part per million</i>
DMSO	Dimetil Sulfoksida
pH	<i>Potential of hydrogen</i>
p-NPG	para-Nitrofenil- α -D-glukopiranosida
C3	<i>Computatiolan chemistry Corsortium</i>
GLU	Glutamat
GLA	Gamma Linolenat
ASP	Asam Aspartat
DM	Diabetes Mellitus
λ	Lamda (Panjang gelombang)
DPPH	<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>
BHA	Butil Hidroksi Anisol
BHT	Butil Hidroksi Toluena
TBHQ	Tert-butil hidroksi quinon
FI-OH	Flavonoid
FI-OH•	Flavonoid radikal
R•	Senyawa radikal bebas
μ g/L	Mikrogram per liter
b/v	Bobot per volume
b/b	Bobot per Bobot
LD ₅₀	<i>Lethal Dose 50</i>
W/V	Berat per volume
<i>Clinachantus nutans</i> L.	<i>Clinachantus nutans</i> Lindau
Na-CMC	Natrium Carboxymethylcellulose
GLUT-1	<i>Glukosa Transporter 1</i>
GLUT-2	<i>Glukosa Transporter 2</i>
GLUT-3	<i>Glukosa Transporter 3</i>
GLUT-4	<i>Glukosa Transporter 4</i>
GLUT-5	<i>Glukosa Transporter 5</i>
NS	Normal Salin
BNF	<i>Buffer Neutral Formalin</i>
PI3K	<i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
p38 MAPK	<i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
G-6P	Glukosa 6-Fosfatase

KLT	Kromatografi Lapis Tipis
IHC	<i>Immunohistochemistry</i>
HE	Hematoxylin Eosin
DAB	Diaminobenzidine
mg/kgBB	Miligram per kilogram Berat Badan
H0, H3, H7, H14	Hari ke-0, Hari ke-3, Hari ke-7, Hari ke-14
ATP	<i>Adenosine Triphosphate</i>
ADP	<i>Adenosine Diphosphate</i>
VDCC	<i>Voltage Dependent Calcium Channels</i>
SOD	<i>Superoxide Dismutase</i> (enzim antioksidan)
GPx	<i>Glutathione Peroxidase</i> (enzim antioksidan)
MH	Mencit Kelompok Sehat
MS	Mencit Kelompok Sakit
MG	Mencit terapi Glibenclamide
M50	Mencit terapi EDDG 50 mg
M100	Mencit terapi EDDG 100 mg
M150	Mencit terapi EDDG 150 mg
GC – MS	<i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i>
LC-MS	<i>Liquid Chromatography – Mass Spectrometry</i>
LC-MS/MS	<i>Liquid Chromatography tandem – Mass Spectrometry</i>
d2sp3	Hibridisasi untuk Geometri Oktahedral
α -glukosidase	alfa glukosidase
GLN 279	Glutamin pada posisi 279
GLU 277	Glutamat pada posisi 277
ASP 352	Aspartat pada posisi 352
HIS 351	Histidin pada posisi 351
TYR 24	Tirosin pada posisi 24
MET 70	Metionin pada posisi 70
ASP 69	Aspartat pada posisi 69
ARG 442	Arginin pada posisi 442
PHE 303	Fenilalanin pada posisi 303
GLN 279	Glutamin pada posisi 279
GLU 411	Glutamat pada posisi 411
PHE 159	Fenilalanin pada posisi 159
ARG 446	Arginin pada posisi 446
ASP 352	Aspartat pada posisi 352
ARG 442	Arginin pada posisi 442 .
ARG 213	Arginin pada posisi 213 .
ASP 215	Aspartat pada posisi 215 .
GLU 277	Glutamat pada posisi 277
ASP 69	Aspartat pada posisi 69
HIS 112	Histidin pada posisi 112
PHE 178	Fenilalanin pada posisi 178
GLN 182	Glutamin pada di posisi 182
VAL 109	Valin pada posisi 109
VAL 216	Valin pada posisi 216
VAL 410	Valin pada posisi 410
TYR 158	Tirosin pada posisi 158.
CYS 179	Sistein pada posisi 179.
ASP 73	Aspartat pada posisi 73.
PDB	Protein Data Bank
3A4A	Kode untuk struktur Oligo-1,6-glucosidaseLigan

ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
GOD-PAP	<i>Glukosa Oksi- dase Para Amino Phenazone</i>
mRNA	<i>Messenger Ribo Nucleic Acid</i>
PKA	<i>Kinase protein A</i>
EDD	<i>Enhanced Due Diligence</i>
PI3-K	<i>Fosfoinositida 3-kinase</i>

ABSTRAK

ARTATI. Eksplorasi dan Potensi Senyawa Bioaktif Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) sebagai Agen Antidiabetes (dibimbing oleh Ahyar Ahmad, Abdul Karim dan Sofa Fajriah).

Diabetes mellitus diduga berperan dalam peningkatan radikal bebas, penurunan antioksidan dan memicu stress oksidatif serta mengakibatkan rusaknya GLUT-2. GLUT-2 pada membran sel β pankreas bertanggung jawab pada transport glukosa yang akan menstimulasi sekresi insulin. Diabetes mellitus dianggap sebagai salah satu ancaman utama bagi kesehatan manusia di abad ke-21. Daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) berpotensi sebagai antidiabetes karena kandungan senyawa bioaktif antioksidan yang tinggi. Daun Dandang Gendis dilarutkan dengan 3 pelarut yaitu *n*-heksana, etil asetat, dan etanol. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan golongan senyawa kimia berdasarkan uji fitokimia dan LC-MS/MS dari ketiga pelarut, uji antioksidan, uji antidiabetes secara *in vitro*, uji *in silico*, uji toksisitas akut, menentukan respon kadar glukosa darah dan ekspresi GLUT 2 serta jumlah sel beta pankreas pada model hewan diabetes secara *in vivo*. Metode penelitian ini adalah eksperimen dengan model hewan diabetes dan terbagi enam kelompok serta diinduksi dengan aloksan. Hasil penelitian Golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak *n*-heksana dan etanol DDG dengan uji fitokimia dan LC-MS/MS adalah flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik sedangkan untuk ekstrak etil asetat adalah flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, saponin dan tannin. Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH secara *in vitro*, fraksi etil asetat EDDG berpotensi sebagai antioksidan aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 160 μ g/ml. Aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase secara *in vitro* untuk fraksi etil asetat EDDG berpotensi dan memiliki nilai aktivitas penghambatan dalam kategori sangat aktif dengan nilai IC_{50} 7,27 ppm. Pada penghambatan enzim α -glukosidase metode *in silico* ada dua senyawa yang mempunyai afinitas yang tinggi yaitu senyawa flavanoid 13-*apo*-beta-karoten dan fenolik yaitu kurkumin dengan afinitas ikatan masing-masing sebesar -5,73 kkal.mol. Nilai LD_{50} fraksi etil asetat EDDG metode Thompson-Weil adalah 6,15 g/kg BB dalam kategori toksik ringan. Pemberian EDDG dengan dosis 100 mg/kgBB memiliki aktivitas penurunan kadar gula darah mencit sebesar 51,6%, mampu meningkatkan ekspresi GLUT-2 serta peningkatan jumlah sel β pankreas. Kesimpulan ekstrak Daun Dandang Gendis dengan pelarut etil asetat berpotensi sebagai antidiabetes.

Kata kunci : Antidiabetes, Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.), *In vitro*, *In vivo*

ABSTRACT

ARTATI. Exploration and Potential of Bioactive Compounds in Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.) Leaves as Antidiabetic Agents (supervised by Ahyar Ahmad, Abdul Karim and Sofa Fajriah).

Diabetes mellitus is thought to play a role in increasing free radicals, decreasing antioxidants and triggering oxidative stress and resulting in the destruction of GLUT-2. GLUT-2 in the pancreatic β cell membrane is responsible for glucose transport which will stimulate insulin secretion. Diabetes mellitus is considered one of the main threats to human health in the 21st century. The leaves of dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) have the potential to be anti-diabetic due to their high content of antioxidant bioactive compounds. Dandang Gendis leaves were dissolved in 3 solvents, namely *n*-hexane, ethyl acetate and ethanol. This research aims to determine the class of chemical compounds based on phytochemical and LC-MS/MS tests from three solvents, antioxidant tests, *in vitro* anti-diabetic tests, *in silico* tests, acute toxicity tests, determining the response to blood glucose levels and GLUT 2 expression and cell counts. pancreatic beta in animal models of diabetes *in vivo*. This research method was an experiment using a diabetes animal model and was divided into six groups and induced with alloxan. Research results: The groups of compounds found in *n*-hexane and ethanol DDG extracts using phytochemical and LC-MS/MS tests are flavonoids, alkaloids, steroids, terpenoids, phenolics, while for ethyl acetate extracts they are flavonoids, alkaloids, steroids, terpenoids, phenolics, saponins and tannins. Antioxidant activity using the DPPH method *in vitro*, the EDDG ethyl acetate fraction has the potential to be an active antioxidant with an IC_{50} value of 160 $\mu\text{g/ml}$. The *in vitro* inhibitory activity of the α -glucosidase enzyme for the EDDG ethyl acetate fraction is potential and has an inhibitory activity value in the very active category with an IC_{50} value of 7.27 ppm. In inhibiting the α -glucosidase enzyme using the *in silico* method, there are two compounds that have high affinity, namely the flavonoid compound 13-apo-beta-carotene and the phenolic compound, namely curcumin, with a binding affinity of -5.73 kcal.mol each. The LD_{50} value of the EDDG ethyl acetate fraction using the Thompson-Weil method is 6.15 g/kg BW in the mild toxic category. Giving EDDG at a dose of 100 mg/kgBB had the activity of reducing blood sugar levels in mice by 51.6%, was able to increase GLUT-2 expression and increase the number of pancreatic β cells. Conclusion: Dandang Gendis Leaf extract with ethyl acetate solvent has potential as an antidiabetic.

Keywords : Antidiabetes, Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* L.), *In vitro*, *In vivo*

A. BAB I

B. PENDAHULUAN UMUM

1.1 Latar Belakang

Pusat data dan informasi Kementerian Kesehatan RI 2018 negara Indonesia berada di urutan ke-4 dari 20 negara dengan jumlah kasus diabetes mellitus terbanyak untuk tahun 2000 sampai 2030. Permasalahan tersebut mendorong pencarian obat antidiabetes dari bahan alam yang lebih efektif dan memiliki efek samping yang minim dengan cara pendekatan etnofarmasi dan etnobotani (Hartanti dan Budipramana, 2020).

Penyakit diabetes mellitus merupakan penyakit kronis yang muncul ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak mampu secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan. Insulin merupakan hormon yang terdiri atas rangkaian asam amino, dihasilkan oleh sel beta kelenjar pankreas. Dalam keadaan normal, bila ada rangsangan dari sel beta, insulin disintesis dan kemudian disekresikan ke dalam darah sesuai dengan kebutuhan tubuh untuk keperluan regulasi darah (Widyasti *et al.*, 2016). Ada beberapa tahapan dalam sekresi insulin, salah satunya yaitu melewati membran sel dan membutuhkan senyawa lain yaitu alat angkut yang terdiri atas sejenis asam amino yang disebut *glucose transporter* (GLUT). Di dalam tubuh, sesuai tempat kerjanya, berbagai jenis GLUT dikenal yaitu GLUT 1 sampai dengan GLUT 5.

GLUT 1 terdapat dimana-mana, merupakan pengangkut utama di dalam otak. Sel endotel memiliki *vesikel pinocytotic*. Yang banyak terdapat pada mitokondria dan *specific carrier mediated transport proteins* merupakan fitur dari kedua *vasculatures*. Transportasi ini membentuk mekanisme yang berperan penting dalam metabolisme komponen dari sawar darah otak dan sawar darah retina dan system transportasi protein asam amino spesifik. Ini merupakan penanda metabolik sawar endotel yang merupakan *specific carrier mediated transport proteins* beberapa nutrisi seperti glukosa dan asam amino melintasi *tight junctions*, serta degradasi enzimatis molekul-molekul saat

melintasi sawar darah otak dan sawar darah retina. Terdapat postulat bahwa distribusi asimetris membrane plasma protein pada endotel (luminal vs abluminal) menyebabkan endotelium terpolarisasi, yang menciptakan resistensi listrik untuk permeabilitas. Aktivitas metabolik normal jaringan neural dipengaruhi transportasi glukosa secara konstan. Akibat tuntutan metabolik yang tinggi, transport glukosa dari darah melintasi sawar darah otak ke dalam sel otak dimediasi oleh transport terfasilitasi cepat. Protein transporter glukosa (GLUT), terutama GLUT 1 memastikan pasokan glukosa. Protein GLUT 1 banyak terekspresi pada sawar darah otak. Ekspresi GLUT 1 dikendalikan oleh level glukosa darah, untuk mempertahankan distribusi yang memadai untuk fungsi neuronal yang optimal. Diabetes mellitus menyebabkan ketidakseimbangan metabolisme glukosa, mengakibatkan perubahan transport glukosa ke dalam otak. Wong *et al.*,(2014) menunjukkan adanya penurunan ekspresi dan aktivitas GLUT 1 pada tikus diabetic yang menimbulkan reduksi transport glukosa pada diabetes yang tak terkontrol.

GLUT 2 terdapat pada sel hati, pankreas, usus halus dan ginjal. terdapat transporter glukosa yang tidak bergantung-natrium, GLUT 2, yang memfasilitasi transpor gula keluar sel menuju darah kapiler (kontralumen/tunika serosa). GLUT 2 digunakan untuk glukosa, galaktosa, dan fruktosa yang selanjutnya diteruskan ke vena porta menuju hati dan sirkulasi sistemik. Ada beberapa tahapan dalam proses sekresi insulin, setelah adanya rangsangan oleh molekul glukosa. Tahap pertama adalah proses glukosa melewati membran sel. *Glucose transporter 2* (GLUT 2) yang terdapat dalam sel beta merupakan “kendaraan” pengangkut glukosa dari dalam darah melewati membrane ke dalam sel. Molekul glukosa akan mengalami proses glikolisis dan fosforilasi di dalam sel kemudian membebaskan molekul ATP. Molekul ATP yang terbentuk dibutuhkan untuk proses pengaktifkan penutupan kanal K^+ pada membran sel. Penutupan ini berakibat pada terhambatnya pengeluaran ion K^+ dari dalam sel yang menyebabkan terjadinya tahap depolarisasi membran sel, yang diikuti oleh tahap pembukaan kanal Ca^{2+} . Keadaan inilah yang memungkinkan masuknya ion Ca^{2+} sehingga menyebabkan peningkatan kadar ion Ca^{2+} intrasel. Suasana ini dibutuhkan dalam proses sekresi insulin (Manaf, 2006).

GLUT 3 berfungsi pada sel otak, ginjal dan plasenta. GLUT 3

terutama ditemukan di neuron. GLUT 3 (untuk transportasi glukosa) dan system transportasi protein asam amino spesifik GLUT 4 terletak di jaringan adiposa, otot jantung dan otot skeletal. Insulin meningkatkan transpor glukosa dari darah ke dalam sel target di jaringan perifer (otot, otak, jaringan lemak, hati, dan lain-lain) melalui transporter glukosa (GLUT 4). Jaringan adiposa berfungsi sebagai organ endokrin yang memproduksi adipokin, seperti leptin dan adinopektin, yang mengatur homeostasis lipid dan glukosa. Keduanya mempengaruhi metabolisme energi pada jaringan lain seperti hepar dan otot, serta perilaku yang berkaitan dengan makan melalui efek pada jalur neuroendokrin. Pada tahap molekuler, TNF- α meningkatkan serin fosforilasi dari IRS-1 dan menurunkan regulasi ekspresi dari GLUT 4, sehingga memberikan kontribusi pada resistensi insulin. Adinopektin memiliki efek insulin sensitizing, yang berfungsi meningkatkan penghambatan produksi glukosa hepatic sekaligus penyerapan glukosa dan pemanfaatan lemak dan otot. Ekspresi adinopektin ini berkurang pada manusia dan mencit yang mengalami obesitas. Produksi adinopektin distimulasi oleh PPAR γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma*) (Saini, 2010).

GLUT 4 memiliki peran dalam respon peningkatan glukosa darah. Pada jaringan otot skelet, otot jantung dan sel adiposa, insulin merangsang translokasi GLUT 4 dari vesikel intraseluler ke permukaan membran plasma dari sel. Peningkatan translokasi ini akan meningkatkan transporter glukosa pada permukaan sel yang akan meningkatkan kapasitas ambilan glukosa. Di sisi lain, insulin akan menyebabkan percepatan dari redistribusi GLUT 4 ke membran plasma dari vesikel intraseluler. Sehingga kondisi puasa dan makan akan mempengaruhi ekspresi dari gen GLUT 4 (Stipanuk, 2000). Kekurangan insulin atau resistensi insulin maka akan menyebabkan kegagalan fosforilasi kompleks IRS, penurunan translokasi GLUT-4 dan penurunan oksidasi glukosa sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan akan terjadi kondisi hiperglikemia. Semakin banyak ekspresi GLUT-4 maka dapat dikatakan bahwa penggunaan glukosa oleh jaringan semakin baik, sehingga jumlah glukosa dalam darah menjadi berkurang karena diangkut ke jaringan. Di dalam jaringan glukosa akan diubah menjadi ATP (energi) yang bermanfaat bagi tubuh.

GLUT 5 bertanggung jawab terhadap absorpsi glukosa dari usus halus. Absorpsi monosakarida dilakukan di dalam jejunum ke dalam

darah sistem vena porta, terutama untuk heksosa (glukosa, galaktosa, manosa, dan fruktosa) dan sebagai gula pentosa (ribosa). Mekanisme absorpsi monosakarida yaitu transpor aktif untuk glukosa dan galaktosa serta difusi fasilitasi untuk fruktosa yang absorpsinya lebih lambat dari glukosa dan galaktosa. Difusi fasilitasi ini menggunakan bantuan dari transporter fasilitatif bergantung natrium (GLUT 5). Transporter ini juga dapat digunakan oleh glukosa dan galaktosa jika gradien konsentrasi mendukung. Normalnya, di dalam darah hanya terdapat sedikit fruktosa di luar fruktosa yang berasal dari diet.

Penelitian yang sangat berhubungan dengan sel beta pankreas adalah GLUT 2, sesuai dengan penjelasan diatas. Transporter GLUT 2 terdapat pada sel hati, pankreas, usus halus dan ginjal. Transporter ini memfasilitasi transport gula keluar sel menuju darah kapiler. Transporter GLUT 2 digunakan untuk glukosa, galaktosa, dan fruktosa yang selanjutnya diteruskan ke vena porta menuju hati dan sirkulasi sistemik (Vinayagam *et al.*, 2015).

Diabetes mellitus dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga radikal bebas dalam tubuh meningkat. Radikal bebas atau ROS (*reactive oxygen spesies*) dapat merusak berbagai jaringan tubuh. Keadaan hiperglikemia pada DM memicu terjadinya auto oksidasi glukosa yang menghasilkan ROS (Ayodeji *et al.*, 2019). Penelitian telah dilaporkan dengan menggunakan hewan coba dan memberikan agen penghasil ROS seperti Streptozotosin dan aloksan, produksi ROS tidak diimbangi dengan produksi antioksidan sehingga sel beta pankreas mengalami kematian (Ayodeji *et al.*, 2019 & Triandita *et al.*, 2016). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa level ekspresi protein GLUT 2 menurun (*down-regulation*) pada sel beta pankreas karena induksi streptozotocin nikotin amida menimbulkan toksisitas pada sel beta pankreas sehingga sel tersebut mengalami kerusakan dan menurunkan sekresi insulin dan meningkatkan kadar glukosa darah dimana persentase densitas warna coklat protein GLUT 2 pada kelompok tikus induksi hasilnya adalah 32,31%, sedangkan pada kontrol normal densitas warna coklat protein GLUT 2 tinggi dianggap 100% (Arya *et al.*, 2014). Radikal ROS dalam tubuh harus seimbang sehingga antioksidan diperlukan untuk memerangi ROS yang berlebihan. Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan coba. Pemberian aloksan adalah cara yang tepat untuk menghasilkan kondisi diabetes eksperimental

(diabetes melitus) pada hewan coba (Watkins *et al.*, 2018). Aloksan dapat menyebabkan diabetes melitus bergantung pada insulin hewan coba tersebut. Zat ini bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui GLUT 2 (Watkins *et al.*, 2018). Mekanisme aloksan yang dapat menyebabkan terjadinya diabetes adalah aloksan yang memiliki bentuk molekul yang mirip dengan glukosa (glukomimetik), sehingga pada saat aloksan diinduksikan ke tubuh tikus, maka GLUT 2 yang ada di dalam sel beta pankreas akan mengenali aloksan sebagai glukosa, dan aloksan akan dibawa menuju sitosol. Terbentuknya ROS akan menyebabkan depolarisasi membran sel beta dan peningkatan Ca^{2+} sehingga sitosol akan mengaktifkan berbagai enzim yang menyebabkan peroksidasi lipid, fragmentasi DNA, dan fragmentasi protein, akibatnya sel beta pankreas menjadi nekrosis sehingga fungsinya untuk sintesis dan sekresi insulin menurun (Ighodaro *et al.*, 2017).

Antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam atau menonaktifkan serangan ROS yaitu hasil dari reaksi-reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Dwimayasanti, 2018). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung (Muaja *et al.*, 2017).

Ada berbagai mekanisme antioksidan dalam menangkal adanya ROS di dalam tubuh, mekanisme tersebut memerlukan beberapa enzim sehingga antioksidan mampu berperan dalam meredam radikal bebas. Flavonoid memenuhi kriteria sebagai antioksidan karena dapat menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida misalnya xantin oksidase dan protein kinase. Selain itu flavonoid mengikat logam kelumit yang terlibat dalam reaksi yang menghasilkan ROS. Flavonoid mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil dan hidroksil (Aslam *et al.*, 2016).

Flavonoid menjadi agen anti diabetes dengan menjadi inhibitor enzim alpha glukosidase (Budiarso *et al.*, 2017). Pada penderita diabetes mellitus terhambatnya aktivitas enzim ini menyebabkan berkurangnya glukosa yang diserap oleh usus sehingga berkurang pula glukosa yang masuk ke dalam aliran darah. Peristiwa ini dapat menurunkan keadaan hiperglikemia (Anggraini *et al.*, 2019).

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa antioksidan yang tinggi adalah dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) (Dewinta *et al.*, 2020), sehingga tumbuhan ini menjadi daya tarik peneliti dalam mencari sediaan fitofarmaka anti diabetes yang mudah diperoleh, murah dan dapat diperbaharui secara berkelanjutan (Rupeskhumar *et al.*, 2014). Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) merupakan spesies tumbuhan yang masuk dalam famili Acanthaceae yang digunakan sebagai tumbuhan obat di lima negara seperti Indonesia, China, Thailand, Malaysia dan Vietnam (Arya *et al.*, 2014). Negara Thailand memberikan urutan yang ke 5 untuk daun dandang gendis sebagai obat tradisional yang terbaik (Diez *et al.*, 2015). Daun dandang gendis mengandung gizi tinggi serta menghasilkan senyawa antioksidan yang berkhasiat sebagai obat.

Senyawa metabolit yang ada pada daun dandang gendis, diantaranya adalah terpenoid, flavonoid, flavon sulfur, minyak atsiri dan saponin (Haetrakul *et al.*, 2018 & Yahaya *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, daun dandang gendis mengandung flavanoid, tanin, alkaloid, saponin, steroid (Haetrakul *et al.*, 2018), terpenoid, flavonsulfur (Yahaya *et al.*, 2015), minyak atsiri (Zulkipli *et al.*, 2017) glycosides, glycolipids, cerebrosides dan acylmonogalatosylgl cerol (Alam *et al.*, 2016 & Nugraheni *et al.*, 2021).

Berdasarkan data, daun dandang gendis dapat digunakan sebagai referensi obat antidiabetes. Hasil penelitian dari Haetrakul *et al.*,(2018) &Yahaya *et al.*,(2015) menunjukkan senyawa yang terkandung pada daun dandang gendis bermanfaat sebagai anti diabetes. Hal ini disebabkan oleh senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun dandang gendis yang mengandung metabolit primer dan sekunder yakni senyawa terpenoid, flavonoid, flavon sulfur, minyak atsiri dan saponin (Yahaya *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini, golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi polar, semipolar dan nonpolar pada daun dandang gendis telah ditentukan senyawanya secara *in vitro* (uji fitokimia, LC-MS/MS, antioksidan, *in silico* dan antidiabetes) untuk melihat bagaimana potensi daun dandang gendis sebagai penghambat atau inhibitor terhadap enzim α - glukosidase. Setelah uji *in vitro* diperoleh fraksi paling optimal dari ketiga fraksi tersebut, penelitian dilanjutkan ke uji *in vivo* yaitu uji toksisitas akut, uji kadar glukosa darah dengan model hewan diabetes

melitus dengan 6 perlakuan terhadap mencit yaitu mencit sehat, sakit (induksi aloksan), diberi obat sintetik (glibenklamid), diberi terapi ekstrak daun dandang gendis (EDDG) 50, 100 dan 150 mg. Dari 6 perlakuan terhadap mencit, setelah uji kadar glukosa darah dilakukan pada setiap perlakuan dilanjutkan dengan pembedahan organ pankreas untuk mengamati morfologi sel dan mempelajari level ekspresi gen GLUT 2 dengan pewarnaan HE dan IHC. Oleh karena itu, pada penelitian ini perlu dilakukan eksplorasi dan potensi senyawa bioaktif dan antioksidan daun dandang gendis sebagai agent anti diabetes secara *in vitro* dan *in vivo*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

1. Golongan senyawa apa yang terdapat pada EDDG melalui uji fitokimia dan LC-MS/MS dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG?
3. Bagaimana potensi aktivitas dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG sebagai agen antidiabetes secara *in vitro* (aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase)?
4. Bagaimana potensi EDDG pada uji *in silico* terhadap penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase)?
5. Bagaimana potensi toksisitas dan nilai LD₅₀ dari fraksi potensial EDDG secara *in vitro*?
6. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi potensial EDDG secara *in vivo* terhadap kadar glukosa darah, jumlah sel β pankreas dan ekspresi gen GLUT 2 pada mencit ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Menentukan golongan senyawa apa yang terdapat pada EDDG melalui uji fitokimia dan LC-MS/MS dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG
2. Menentukan aktivitas antioksidan dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG
3. Menentukan potensi aktivitas dari ketiga fraksi pelarut (polar, semipolar, dan non polar) pada EDDG sebagai agent antidiabetes secara *in vitro* (aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase)
4. Menentukan potensi EDDG pada *in silico* terhadap penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase
5. Menentukan potensi toksisitas dan nilai LD₅₀ dari fraksi potensial EDDG secara *in*

vivo

6. Menganalisis pengaruh pemberian fraksi potensial EDDG secara *in vivo* terhadap kadar glukosa darah, jumlah sel β pankreas dan ekspresi gen GLUT 2 pada mencit.

1.4 Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain :

1. Memberikan informasi, pengetahuan dan pengertian lebih luas mengenai senyawa bioaktif dari daun dandang gendis yang berpotensi sebagai agen antidiabetes, sehingga dapat dikembangkan sebagai sediaan obat anti diabetes dari bahan alam yang mudah diperoleh, murah, kurang efek samping, dan dapat diperbaharui secara berkelanjutan.
2. Sebagai bahan referensi kepada para peneliti dengan cakupan yang luas tentang senyawa aktif anti-DM dari daun dandang gendis.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini terdiri dari pengujian aktivitas anti diabetes dengan menggunakan parameter uji fitokimia, LC-MS/MS, Inhibisi enzim α -Glukosidase, uji *in silico*, toksisitas akut LD₅₀ serta uji *in vivo* (pengukuran kadar glukosa darah, ekspresi GLUT 2 dan sel beta pankreas pada mencit dengan menggunakan terapi sampel daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.)

1.6 Kebaruan Penelitian

Penelitian ini menggunakan uji *in silico* dengan target protein enzim α - Glukosidase serta pengujian Ekspresi GLUT-2 dan sel beta Pankreas dengan hewan uji mencit sehingga topik penelitian ini merupakan suatu kebaruan di bidang Ilmu Kimia.

1.7 Daftar Pustaka

- Anggraini, M.D., Kusuma, E.K. 2019. Uji Efek Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Herba Sambiloto (*Andrographis paniculate* (Burm. F) Nees.) dan Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Pada Tikus Jantan YangDiinduksi Aloksan. *As-Syifa Jurnal Farmasi*. 11(1): 24-29.
- Arya A., Taha H., Khan A.K. 2014. *In vivo* Antidiabetic and antioxidant potential of *Pseudovaria macrophylla* extract. *International Journal of Medical, Health, Pharmaceutical and Biomedic Engineering* 8: 514-517.
- Aslam, M.S., Ahmad, M.S., Mamat, A.S. 2016. *Phytochemical Evaluation*

- of Polyherbal Formulation of *Clinacanthus nutans* and *Elephantopus scaber* to Identify Flavonoid. *Pharmacognosy Journal*, 8(6): 534-541.
- Ayodeji, O.D., Maryann, C.E., Samuel, C., Paul, T. 2019. Dependence Of Ageing On Reactive Oxygen Species Production and The Cushioning Effect of Antioxidants (Review). *Journal Pharmacological Online* Volume 1: 397-402.
- Budiarso, S.F., Suryanto, E., Yudishtira, A., 2017. Ekstraksi Dan Aktivitas Antioksidan Dari Biji Jagung Manado Kuning (*Zea Mays L.*). *Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi- UNSRAT*. 6(3): 2302 – 2493.
- Dewinta NR, Mukono IS, Mustika A. The Effect of Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Extracts on Blood Glucose Levels in Wistar Rats Diabetes Mellitus Model. *J Med Vet*. 2020;3(1):76-81. doi:10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.76-81
- Diez, J.M., Bauman, E., Gajardo, R. 2015. Culture of Human Mesenchymal stem cells using a candidate pharmaceutical grade xeno- free cell culture supplement derived from industrial human plasma pools, stem cell research and therapy. *Stem Cell Res Ther*. 6(1): 28.
- Dwimayasanti R. 2018. Seaweed : Natural Antioxidant Free Radical Antidote. *Oseana*. 2 13-23.
- Haetrakul, T., Dunbar, S.G., and Chansue, N. 2018. Antiviral Activities of *Clinacanthus nutans* (Burm.f.) Lindau E3xtract Against Cyprinid Herpesvirus 3 in Koi (*Cyprinus carpio koi*). *Journal Fish Diseases*. 41(4): 581-587.
- Hartanti, D. and Budipramana, K., 2020. Traditional antidiabetic plants from Indonesia. *Ethnobotany Research & Applications*, 19(34), pp.1-24. Available at: <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/2134> [Accessed 28 July 2024].
- A. Rahmawati, and T. Lestari. 2013. "Penetapan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Saliara (*Lantana Camara L.*) dengan Metode Spektrofotometri". Tasikmalaya: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya,
- Ighodaro, O.M., Adeosun, A.M., Akinloye, O.A. 2017. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina*. 53:365-374.
- Manaf, A. (2006). *Insulin : Mekanisme Sekresi dan Aspek Metabolisme* (W. dkk Aru, Ed.; 4th ed.). FK UI.
- Muaja, M.G.D., Runtuwene, M. R.J., Kamu, V.S. 2017. Antioxidant Activity of Methanol Extract From Soyogik (*Saurauia bracteosa DC*) Leaves. *Jurnal Ilmiah Sains*. 17(1): 68-72.
- Rupeskhumar, M., Kunchu, K., and Pallab K., 2014. Role Of Herbal Plants

- The Diabetes Mellitus Therapy : An Overview. *Int J App Pharm.* 6(3): 1-3.
- Saini, V. (2010). Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 1(3), 68. <https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i3.68>
- Stipanuk, M. H. (2000). *Biochemical and physiological aspects of human nutrition*. W. B. Saunders company.
- Vinayagam R., Xu B. 2015. Antidiabetic Properties of dietary Flavonoids: a cellula mechanism review. *Nutr. Metab.* 12(1): 60-79.
- Watkins D., Cooperstein S. & Lazarow A. 2018. Effect of Alloxan on Permeability of Pancreatic Islet Tissue *in vitro*. *American Physiological Society.* 207(2): 436-440
- Widyasti H.J., Marlina D., Dewi Eka. A.A.P. 2016. The Antihyperglycemic Activity of Ethanol Catappa's Leaves Extract (*Terminalia Catappa L*) In Alloxan Induced Mice. *Jurnal Farmasi Indonesia.* 13(2): 133-138
- Wong, K. C., Tan, C. P., Ho, C. W., & Cheah, Y. K. (2014). Identification of bioactive compounds in *Clinacanthus nutans* Lindau leaves using HPLC-ESI-MS/MS. *Journal of Ethnopharmacology*, 152(1), 210-218. DOI: 10.1016/j.jep.2013.08.025.
- Yahaya R., Dash, G. K., Abdullah, M. S., Mathews, A. 2015. *Clinacanthus nutans* (burm, F.) Lindau: An Useful Medicinal Plant of South-East Asia. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research.* 7(6): 1244-1250.
- Zulkipli I. N., R. Rajabalaya, A. Idris, N. A. Sulaiman and David, S.R. 2017. *Clinacanthus nutans*: A Review on Ethnomedicinal Uses, Chemical Constand Pharmacological Prorerties. *Pharmaceutical Biology* 55(1): 1093- 1113.