

**EKSTRAKSI KULIT BUAH SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*, *IN VIVO*,
DAN *IN SILICO***

***EXTRACTION OF BREADFRUIT PEEL (*Artocarpus altilis*) AND IT'S
BIOACTIVITY TEST AS ANTIDIABETIC IN VITRO, IN VIVO AND IN SILICO***



**ADITYARINI RAHMAYANI
H012212005**



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

**EKSTRAKSI KULIT BUAH SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*, *IN VIVO*,
DAN *IN SILICO***

**ADITYARINI RAHMAYANI
H012212005**



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

***EXTRACTION OF BREADFRUIT PEEL (*Artocarpus altilis*) AND IT'S
BIOACTIVITY TEST AS ANTIDIABETIC IN VITRO, IN VIVO AND IN SILICO***

**ADITYARINI RAHMAYANI
H012212005**



**STUDY PROGRAM OF MASTER CHEMISTRY
FACULTY OF MATHEMATIC AND NATURAL SCIENCES
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2024**

**EKSTRAKSI KULIT BUAH SUKUN (*Artocarpus altilis*) DAN UJI
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*, *IN VIVO*,
DAN *IN SILICO***

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

ADITYARINI RAHMAYANI
H012212005

kepada

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

TESIS

EKSTRAKSI KULIT BUAH SUKUN (*ARTOCARPUS ALTILIS*) DAN UJI
BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIDIABETES SECARA *IN VITRO*, *IN VIVO*, DAN *IN SILICO*

ADITYARINI RAHMAYANI

H012212005

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Magister pada 31 Juli 2024 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

pada

Program Studi Magister Kimia
Departemen Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si.
NIP. 19620320 198711 2 001

Pembimbing Pendamping

Dr. Herlina Rasyid, S.Si.
NIP. 19930414 202204 4 001

Ketua Program Studi
Magister Kimia,

Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si.
NIP. 19620320 198711 2 001



Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin,

Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si.
NIP. 19720515 199702 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Ekstraksi Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis*) dan Uji Bioaktivitasnya sebagai Antidiabetes secara *In Vitro*, *In Vivo*, dan *In Silico*" adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing (Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Herlina Rasyid, S.Si sebagai Pembimbing Pendamping). 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 tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal (Molekul) sebagai artikel dengan judul "*In Silico & In Vitro* Analysis of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) Peel Extract as α -Amylase Inhibitory". Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 31 Juli 2024



Adityarini Rahmayani
NIM. H012212005

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah *Subhaanahu wa Ta'ala* atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya, tak lupa juga kepada junjungan kita Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wa sallam yang telah menjadi suri tauladan bagi umat manusia sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "**Ekstraksi Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis*) dan Uji Bioaktivitasnya sebagai Antidiabetes secara *In Vitro*, *In Vivo*, dan *In Silico***" dengan baik sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Magister Sains, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Beragam kendala dan tantangan yang dialami penulis, namun berkat do'a, bantuan, motivasi, dan dukungan dari berbagai pihak hingga akhirnya tesis ini dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang tulus kepada Ibu **Prof. Dr. Hasnah Natsir, M.Si** dan Ibu **Dr. Herlina Rasyid, S.Si** selaku pembimbing yang selama ini telah banyak meluangkan waktu, dengan sabar memberikan ilmu, pemikiran, motivasi, serta bimbingan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian maupun proses penyelesaian skripsi ini. Tak lupa penulis ucapkan terimakasih kepada **Prof. Dr. Abdul Wahid Wahab, M.Sc**, Ibu **Prof. Dr. Paulina Taba, M.Phill** dan Ibu **Dr. Rugaiyah A. Arfah, M.Si** selaku tim penguji yang telah banyak memberikan arahan dan masukan untuk penulis seta berkenan meluangkan waktu dan pikiran dalam membimbing dan memotivasi penulis hingga selesainya penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada pimpinan Universitas Hasanuddin serta seluruh pimpinan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin yang telah memfasilitasi saya menempuh program magister serta para dosen dan rekan-rekan dalam tim penelitian.

Kepada kedua orang tua tercinta saya Ayahanda Abdullah dan Ibunda Jumriah yang telah percaya atas semua keputusan yang telah penulis ambil untuk melanjutkan mimpinya serta cinta dan dukungan yang tanpa batas. Kepada saudara saya Ahrani Rahmaniar dan kedua adik saya Nurul Annisaa dan Muhammad Ichwan terima kasih atas segala semangat, dukungan serta selalu meluangkan waktunya untuk menjadi tempat dan pendengar terbaik terhadap penulis. Terima kasih juga kepada Ayah Fauzi, Bunda Asma, Fadlan, Fauzan dan yang lainnya yang tidak dapat Penulis tuliskan satu per satu, terimakasih atas dukungan yang luar biasa selama ini baik secara moril, materil maupun spiritual. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Mochamad Satria Anugerah yang selalu menemani dan memberikan dukungan tanpa henti kepada penulis setiap harinya, mendengarkan keluh kesah, meluangkan waktunya serta senantiasa sabar menghadapi penulis. Teman-teman seperjuangan Zaskia, Nudia, Kak Intan dan Kak Lia terima kasih karena senantiasa membantu penulis dalam suka maupun duka selama masa penelitian hingga penyusunan tesis. Tak lupa penulis ucapkan terimakasih kepada seluruh keluarga, teman-teman serta kerabat yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kata sempurna, baik dari segi materi maupun teknik penulisannya. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun dari semua pihak sangat diharapkan untuk perbaikannya dimasa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap semoga tesis ini bisa memberikan manfaat untuk kita semua, terutama untuk peneliti-peneliti selanjutnya. Aamiin.

Penulis

Adityarini Rahmayani

ABSTRAK

ADITYARINI RAHMAYANI. **Ekstraksi kulit buah sukun (*Artocarpus altilis*) dan uji bioaktivitasnya sebagai antidiabetes secara *in vitro*, *in vivo* dan *in silico*** (dibimbing oleh Hasnah Natsir dan Herlina Rasyid)

Latar Belakang. *Artocarpus altilis* merupakan tanaman yang memiliki banyak senyawa bioaktif yang dapat digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit, termasuk diabetes melitus. **Tujuan.** penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa yang terkandung dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah sukun (KBS), mengevaluasi aktivitas antidiabetes ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS secara *in vitro*, *in vivo* dan *in silico*. **Metode.** Penelitian secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode DNS untuk mengukur kadar gula pereduksi dengan empat variasi konsentrasi (1000 ppm; 3000 ppm; 5000 ppm and 10000 ppm) ekstrak dan akar bosa dan *in vivo* dengan metode aloksan, serta *in silico* menggunakan metode penambatan molekul. **Hasil.** Uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak KBS *n*-heksana hanya mengandung alkaloid, etil asetat mengandung alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid, serta ekstrak metanol mengandung alkaloid dan flavonoid. Hasil pengujian secara *in vitro* menunjukkan bahwa ketiga ekstrak KBS dan akar bosa memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 57.44 mg/mL, 38.71 mg/mL, 51.21 mg/mL dan 49,69 mg/mL. Hasil pengujian ekstrak etil asetat KBS dengan tiga dosis berbeda (100 mg/kgBB; 200 mg/kgBB and 300 mg/kgBB) dan akar bosa secara *in vivo* mampu menurunkan kadar gula darah mencit masing-masing sebesar 16,8%; 23,69%; 51,46% dan 48,06%. Hasil penambatan enzim α -amilase dengan sikloartenol (steroid) sebagai ligan menunjukkan energi ikatan yang lebih rendah (-8,8 kkal/mol) dibandingkan dengan akar bosa (-8,2 kkal/mol) yang berarti interaksinya sebagai inhibitor enzim α -amilase lebih baik. **Kesimpulan.** Ekstrak kulit buah sukun berpotensi sebagai alternatif obat antidiabetes alami.

Kata Kunci: *Artocarpus altilis*, antidiabetes, inhibitor α -amilase, *in vivo*, *in silico*

ABSTRACT

ADITYARINI RAHMAYANI. **Extraction of breadfruit peel (*artocarpus altilis*) and its bioactivity test as antidiabetic *in vitro*, *in vivo* and *in silico*** (supervised by Hasnah Natsir dan Herlina Rasyid)

Background. *Artocarpus Altilis* is a plant that has many bioactive compounds which can be used to treat various diseases, including diabetes mellitus. **Aim.** This research aim was to determine the compounds contained in *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of breadfruit peel (KBS), evaluate the antidiabetic activity of *n*-hexane, ethyl acetate and methanol extracts of KBS *in vitro*, *in vivo* and *in silico*. **Method.** *In vitro* research was carried out using the DNS method to measure reducing sugar levels with four different concentrations (1000 ppm; 3000 ppm; 5000 ppm and 10000 ppm) of extract and *acarbose* and *in vivo* using the alloxan method, as well as *in silico* using the molecular docking method. **Result.** Phytochemical test results show that breadfruit peel *n*-hexane extract only contains alkaloids, ethyl acetate contains alkaloids, flavonoids, steroids and terpenoids, and methanol extract contains alkaloids and flavonoids. *In vitro* test results showed the three KBS extracts and *acarbose* had inhibitory activity against the α -amylase enzyme with IC₅₀ values of 57.44 mg/mL, 38.71 mg/mL and 51.21 mg/mL, 49.69 mg/mL, respectively. The results of *in vivo* testing KBS ethyl acetate extract with three different doses (100 mg/kgBB; 200 mg/kgBB and 300 mg/kgBB) and *acarbose* were able to reduce blood sugar levels in mice by 16.8% each; 23.69%; 51.46% and 48.06%. The docking results of the α -amylase enzyme with cycloartenol (steroid) as a ligand show a lower binding energy (-8.8 kcal/mol) compared to *acarbose* (-8.2 kcal/mol), which means the interaction as an inhibitor of the α -amylase enzyme is stronger. **Conclusion.** Breadfruit peel has the potential to be an alternative natural anti-diabetic drug.

Keyword: *Artocarpus altilis*, antidiabetic, α -amylase inhibitory effect, *in vivo*, *in silico*

DAFTAR ISI

	Halaman
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xv
DAFTAR ISTILAH	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II ANALISIS KULIT BUAH SUKUN SECARA <i>IN VITRO</i> DAN <i>IN SILICO</i> SEBAGAI INHIBITOR ENZIM α -AMILASE	5
2.1 Abstrak	5
2.2 Pendahuluan	5
2.3 Metode	7
2.4 Hasil dan Pembahasan	11
2.5 Kesimpulan	25
2.6 Daftar Pustaka.....	25
BAB III POTENSI EKSTRAK ETIL ASETAT DARI KULIT BUAH SUKUN (<i>Artocarpus altilis</i>) SECARA <i>IN VIVO</i> TERHADAP MENCIT DIABETES.	33
3.1 Abstrak	33
3.2 Pendahuluan	33
3.3 Metode	34
3.4 Hasil dan Pembahasan	35
3.5 Kesimpulan	41
3.6 Daftar Pustaka.....	41
BAB IV PEMBAHASAN UMUM	
4.1 Analisis secara <i>In Vitro</i> dan <i>In Silico</i> Kulit Buah Sukun sebagai Inhibitor Enzim α -Amilase.....	44

4.2 Potensi Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Sukun (<i>Artocarpus Altilis</i>) secara <i>In Vivo</i> terhadap Mencit Diabetes.....	46
BAB V KESIMPULAN UMUM	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
2.1 Persentase Rendemen Ekstrak KBS	12
2.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak KBS.....	13
2.3 Serapan FTIR Ekstak KBS	15
2.4 Fitokomponen Ekstrak <i>n</i> -Heksana KBS menggunakan GC-MS	18
2.5 Fitokomponen Ekstrak Etil Asetat KBS menggunakan GC-MS	19
2.6 Fitokomponen Ekstrak Metanol KBS menggunakan GC-MS.....	19
2.7 Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase	21
2.8 Kategori Kekuatan Aktivitas Antidiabetes	22
2.9 Hasil Penambatan Senyawa Inhibitor Enzim α -Amilase	24
2.10 Parameter Sifat Fisikokimia Senyawa Sikloartenol dan Akarbosa	24
3.1 Pengelompokkan Hewan Uji.....	35
3.2 Perbandingan KGD Mencit Sebelum & Sesudah Pemberian Aloksan.....	37
3.3 Hasil Pengukuran KGD Mencit untuk Tiap Kelompok.....	39

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
2.1(a) Buah sukun; (b) KBS Kering; (c) Serbuk KBS	11
2.2 Ekstrak Kental KBS.....	12
2.3 Mekanisme Reaksi Uji Dragendroff.....	13
2.4 Mekanisme Reaksi Uji Flavonoid	14
2.5 Mekanisme Reaksi Uji Terpenoid/Steroid	14
2.6 Spektrum Infra-Red Ekstrak KBS	16
2.7 Kromatogram GC-MS Ekstrak <i>n</i> -Heksana KBS	17
2.8 Kromatogram GC-MS Ekstrak Etil Asetat KBS	18
2.9 Kromatogram GC-MS Ekstrak Metanol KBS	20
2.10 Reaksi Reduksi DNS oleh Glukosa.....	21
2.11 Struktur Kimia: (a) Enzim α -Amilase; (b) sikloartenol; (c) akarbosa	22
2.12 Visualisasi Interaksi α -Amilase dengan Sikloartenol: (a) 3D; (b) 2D	23
2.13 Visualisasi Interaksi α -Amilase dengan Akarbosa: (a) 3D; (b) 2D	23
3.1 Pengukuran Kadar Gula Darah Puasa.....	36
3.2 Pemberian Sediaan Uji Secara Oral	36
3.3 Diagram Batang KGD Mencit Terhadap Ekstrak Etil Asetat KBS	40

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Diagram Alir Penelitian	54
2. Bagan Kerja	55
3. Tempat Pengambilan Sampel.....	62
4. Data Hasil Penelitian.....	63
5. Perhitungan Data Hasil Penelitian	74
6. Dokumentasi Penelitian	83

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Lambang/singkatan	Arti dan penjelasan
KBS	Kulit buah sukun
GC-MS	<i>Gas chromatography and mass spectroscopy</i>
FTIR	<i>Four transform infra-red</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet visibel</i>
DNS	Dinitrosalisilat
DMSO	Dimetil sulfoksida
CMC	<i>Carboxymethyl cellulosa</i>
DM	Diabetes melitus
KGD	Kadar gula darah
KGDP	Kadar gula darah puasa
ADME	Adsorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi
U	Unit
IC ₅₀	<i>Inhibition concentration</i>
PDB	<i>Protein data bank</i>
GLUT2	<i>Glucose transporters 2</i>
BB	Berat badan

DAFTAR ISTILAH

Istilah	Arti dan Penjelasan
<i>In Vitro</i>	Kultur suatu sel, jaringan, atau bagian organ tertentu di dalam laboratorium
<i>In Vivo</i>	Pengujian pengaruh berbagai entitas biologis terhadap organisme atau sel hidup secara keseluruhan; biasanya hewan, manusia, dan tumbuhan, dibandingkan dengan ekstrak jaringan atau organisme mati.
<i>In Silico</i>	Pendekatan relatif baru dalam penelitian secara luas dalam bidang kedokteran dan kesehatan menggunakan komputer
Preparasi	Persiapan, perlakuan yang dilakukan sebelum bahan dasar digunakan untuk tahap selanjutnya
Ekstraksi	Proses pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan penyari tertentu.
Metabolik	Sekumpulan kondisi yang dapat meningkatkan risiko penyakit jantung, stroke, dan diabetes pada seseorang
Hiperglikemia	Kondisi dimana kadar gula dalam darah meningkat secara berlebihan
Mikrovaskuler	Komplikasi yang menyerang pembuluh darah kecil.
Makrovaskuler	Komplikasi yang menyerang pembuluh darah besar
Postprandial	Keadaan setelah makan
Maserasi	Proses perendaman sampel menggunakan pelarut organik pada temperatur ruangan

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman sukun merupakan salah satu tanaman dari golongan *Moraceae* dan dikembangkan di berbagai negara kawasan Pasifik karena adaptasinya yang tinggi sehingga mampu tumbuh di berbagai daerah salah satunya Indonesia (Jamil et al., 2018). Indonesia yang beriklim tropis dengan kondisi tanah basah hingga yang sangat kering pada musim kemarau sukun tetap dapat tumbuh dan berbuah dengan lebat (Mursyidin & Setiawan, 2023). Hal ini terbukti dengan adanya sebaran tanaman sukun mulai dari Aceh sampai dengan Papua (Raihandhany, 2022). Sejak dahulu sukun banyak dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai keperluan misalnya sebagai penghasil buah dan kayu yang memiliki nilai ekonomi (Sarangi & Sneha, 2023). Selain itu, seluruh bagian dari tanaman ini telah dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa metabolit sekunder (Carmen et al., 2019).

Secara umum daun, kulit dan buah sukun mengandung senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, glikosida, antrakuinon, tannin, karbohidrat dan saponin (Goyanna et al., 2020). Yumni et al. (2021) melaporkan bahwa tanaman sukun telah banyak digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit seperti, diabetes, sakit gigi, sariawan, tekanan darah tinggi, asma, hepatitis, pembesaran limfa, kencing manis, dan kusta. Bagian tanaman yang paling sering digunakan adalah daun serta buahnya yang diolah dengan cara direbus (Ghosh et al., 2021). Selain pemanfaatannya sebagai obat, sukun juga dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sumber karbohidrat. Namun pemanfaatannya hanya pada buahnya saja sehingga kulit buahnya menjadi limbah padahal di dalam kulitnya juga banyak mengandung senyawa bioaktif. Selain itu, Silva & Narain (2021) menyatakan bahwa sebagian besar nutrisi serta senyawa antioksidan terkandung pada kulit dan biji buah, yang jika dikonsumsi akan memberikan manfaat pada kesehatan seperti mengurangi risiko kanker, Alzheimer dan katarak.

Kulit buah sukun (KBS) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, polifenolat, kuinon, steroid, monoterpen, triterpen, dan sesquiterpen (Dyah et al., 2020). Kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid pada KBS memiliki peran sebagai antioksidan yang mampu menunda atau menghambat kerusakan oksidatif pada molekul target yang disebabkan oleh radikal bebas (Buddhisuharto et al., 2021). Selain sebagai antioksidan, flavonoid juga dapat berperan sebagai antidiabetes yang bersifat protektif terhadap kerusakan sel β -pankreas sebagai penghasil insulin dan mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel dan meningkatkan sensitivitas insulin (Shamsudin et al., 2022).

Kulit buah sukun memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri, antimalaria, dan antioksidan. Sidik & Mambang (2021) menyatakan bahwa ekstrak metanol KBS memiliki aktivitas antibakteri yang kuat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 100 mg/mL dengan zona hambatan sebesar 11,95 mm dan 10,23 mm. Penelitian oleh Yusantri (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol KBS menunjukkan aktivitas antimalaria dengan nilai IC_{50} sebesar 26,67 μ g/mL secara *in vitro*. Wibowo & Fitrianiingsih (2017) menunjukkan bahwa ekstrak etanol KBS memiliki aktivitas

antioksidan dengan nilai IC_{50} sebesar 57,43%. Peredaman radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) oleh ekstrak etanol KBS meningkatkan persen inhibisi seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak, yang berarti semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula persen inhibisinya terhadap DPPH. Sejalan dengan penelitian Lismiati et al. (2021) uji fraksi ekstrak KBS menggunakan diklorometan menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 13,34 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan vitamin E sebesar 30,32 $\mu\text{g/mL}$ sebagai pembanding. Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak KBS memiliki peluang untuk uji bioaktivitas lebih lanjut misalnya sebagai antidiabetes.

Penelitian ini dilakukan dengan ekstraksi bertingkat dan metode maserasi menggunakan dua atau lebih pelarut sehingga senyawa akan terkestrak secara spesifik pada tiap pelarut yang digunakan (Xia et al., 2023). Jiang et al. (2023) menyatakan bahwa ekstraksi bertingkat mampu menarik senyawa lebih banyak dibandingkan ekstraksi tidak bertingkat. Jenis pelarut yang digunakan berpengaruh terhadap senyawa aktif yang ikut terekstraksi dikarenakan setiap senyawa bioaktif memiliki karakteristik kimia dan polaritas yang bervariasi sehingga tidak mudah untuk larut pada pelarut tertentu (Benchaachoua et al., 2018). Oleh karena itu, pelarut yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yakni *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Pelarut *n*-heksana yang bersifat non-polar akan menarik senyawa non-polar, etil asetat yang bersifat semi polar akan menarik senyawa yang bersifat semi polar dan metanol yang bersifat polar akan menarik senyawa yang bersifat polar (Abubakar & Mainul, 2020). Berdasarkan latar belakang, ekstrak dari KBS berpeluang untuk uji bioaktivitas sebagai antidiabetes.

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah ($\text{KGDP} \geq 126 \text{ mg/dL}$) atau hiperglikemia yang biasanya disebabkan oleh abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin (sensitivitas) atau keduanya, dari faktor genetik serta faktor lingkungan yang dapat mengakibatkan komplikasi kronis termasuk mikrovasuler, makrovasuler dan neuropati kronis (Hamilton et al., 2023). Hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan kondisi seseorang menjadi pingsan, koma serta kematian (Chauhan et al., 2020). Bentuk paling umum dari penyakit diabetes melitus yaitu diabetes tipe 2 dan tipe 1. Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin atau produksi insulin yang kurang. Sedangkan diabetes melitus tipe 1 disebabkan akibat pankreas hanya memproduksi sedikit insulin atau tidak sama sekali (Kifle & Enyew, 2020). Penderita diabetes mencapai sekitar 422 juta orang di seluruh dunia dan sebanyak 1,5 juta kematian setiap tahunnya (WHO, 2023). Salah satu cara yang paling efektif untuk penyakit diabetes adalah mengurangi hiperglikemia postprandial dengan menghambat aktivitas enzim penghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase serta membatasi penyerapan glukosa dalam tubuh.

Pengobatan penyakit diabetes di Indonesia hingga saat ini masih menjadi masalah utama di bidang kesehatan. Salah satu obat yang dapat digunakan untuk menangani penyakit diabetes adalah akarbosa. Akarbosa salah satu obat sintesis yang bekerja dengan cara menghambat enzim α -amilase (Mechchate et al., 2021). Enzim α -amilase merupakan golongan enzim penting yang berperan menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa (Kaur et al., 2021). Penghambatan enzim α -amilase akan memberikan dampak pada penundaan penyerapan glukosa. Namun, penggunaan obat oral sintesis yang ada

belum sepenuhnya mampu mengatasi permasalahan pada penderita diabetes dan juga dapat memberikan efek samping yang tidak diinginkan oleh penderitanya (Dyah et al., 2020). Efek samping yang ditimbulkan seperti jantung berdebar, berkeringat secara berlebihan, nyeri kepala, respon alergi, gangguan pencernaan, kenaikan asam lambung serta hipoglikemia (Kopp et al., 2019). Oleh karena itu, dibutuhkan obat alami yang relatif aman yang dapat ditemukan dalam tanaman berkhasiat obat (Kuntal et al., 2023). Dalam penelitian ini kulit buah sukun digunakan sebagai ekstrak untuk uji aktivitasnya sebagai antidiabetes.

Pada penelitian ini, uji aktivitas antidiabetes ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS dilakukan melalui penghambatan enzim α -amilase secara *in vitro* dimana enzim yang digunakan akan berperan dalam mengkatalisis perombakan karbohidrat. Pengujian secara *in vitro* dilakukan dengan menghitung nilai persen inhibisi dan nilai IC₅₀. Ekstrak dengan aktivitas antidiabetes paling aktif dalam pengujian secara *in vitro* kemudian dilakukan pengujian secara *in silico*. Ekstrak paling aktif yang sebelumnya telah dianalisis kandungan senyawa kimianya menggunakan alat *gas chromatography spectroscopy mass* (GC-MS), dilakukan virtual *screening* terlebih dahulu untuk mempelajari mekanisme penghambatannya terhadap reseptor α -amilase secara *in silico* menggunakan metode penambatan molekul. Metode penambatan molekul terbukti efisien dalam memprediksi probabilitas interaksi antara senyawa bioaktif terhadap reseptor protein target secara molekuler (Gbore et al., 2023). Nilai afinitas yang didapatkan dari interaksi senyawa dominan dalam KBS terhadap ligan target menggunakan teknik penambatan molekul dapat memprediksi kekuatan penghambatan ligan terhadap enzim α -amilase. Kemudian dilakukan pengujian secara *in vivo* terhadap mencit (*mus musculus*). Pengujian secara *in vivo* dilakukan dengan metode induksi aloksan yang berperan untuk menaikkan kadar gula darah sedangkan ekstrak berperan untuk menghambat hidrolisis karbohidrat yang berlebihan.

Berdasarkan penelitian terkait yang telah dijelaskan sebelumnya maka penelitian tentang ekstraksi kulit buah sukun dari pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol serta uji bioaktivitasnya sebagai antidiabetes secara *in vitro*, *in vivo* dan *in silico* perlu dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun masalah yang dapat dirumuskan pada penelitian ini adalah:

1. senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol KBS?
2. apakah ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS memiliki aktivitas sebagai antidiabetes secara *in vitro* terhadap enzim α -amilase?
3. bagaimana interaksi senyawa dominan dari ekstrak KBS paling aktif terhadap enzim α -amilase secara *in silico*?
4. apakah ekstrak KBS paling aktif memiliki aktivitas sebagai antidiabetes secara *in vivo* terhadap mencit (*mus musculus*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. menentukan senyawa yang terdapat dalam ekstrak *n*-heksana, etil asetat, dan metanol KBS secara fitokimia dan GC-MS.
2. mengevaluasi aktivitas antidiabetes ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS secara *in vitro*.
3. menentukan interaksi senyawa dominan dari ekstrak KBS paling aktif terhadap enzim α -amilase secara *in silico*.
4. mengevaluasi aktivitas antidiabetes ekstrak KBS paling aktif secara *in vivo* terhadap mencit (*mus musdculus*).

1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan dan latar belakang, maka penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. mengetahui kandungan senyawa bioaktif dalam KBS.
2. memberikan informasi kepada para peneliti lainnya tentang aktivitas antidiabetes dari ekstrak KBS.
3. menjadi bahan referensi bagi peneliti selanjutnya dan bagi masyarakat tentang khasiat atau manfaat dari KBS.

BAB II

ANALISIS KULIT BUAH SUKUN SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO* SEBAGAI INHIBITOR ENZIM α -AMILASE

2.1 Abstrak

Penyakit diabetes melitus masih menjadi masalah utama di dunia, obat oral sintetis yang dikonsumsi secara berkepanjangan mampu menimbulkan efek samping yang tidak diinginkan sehingga dibutuhkan pengobatan alami seperti kulit buah sukun (KBS) karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penghambatan enzim α -amilase dari saliva manusia terhadap ekstrak KBS secara *in vitro* dan *in silico*. Metode yang digunakan yaitu maserasi bertingkat dan untuk uji *in vitro* digunakan metode DNS sedangkan metode untuk uji *in silico* yaitu penambatan molekul. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase secara *in vitro* menunjukkan bahwa ekstrak KBS *n*-heksana, etil asetat dan metanol mampu menghambat kerja enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 57,44 mg/mL, 38,71 mg/mL dan 51,21 mg/mL sedangkan nilai IC_{50} akarbosa sebesar 49,69 mg/mL. Ekstrak etil asetat KBS memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan dengan akarbosa. Uji aktivitas antidiabetes secara *in silico* digunakan ekstrak etil asetat KBS yang sebelumnya telah dianalisis kandungan senyawanya dengan menggunakan GC-MS. Persen area tertinggi dari hasil analisis ekstrak etil asetat KBS yaitu sikloartenol menunjukkan nilai energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan akarbosa dengan nilai masing-masing sebesar -8,8 kkal/mol dan -8,2 kkal/mol. Senyawa sikloartenol memenuhi kelima aturan Lipinski yang berarti kelarutannya baik di dalam tubuh. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak KBS memiliki potensi sebagai obat antidiabetes alami.

2.2 Pendahuluan

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang terkenal akan keanekaragaman hayati terbesar di dunia setelah Brazil. Indonesia memiliki kekayaan keanekaragaman hayati yang tinggi, yaitu sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mampu menyembuhkan berbagai penyakit (Idm'hand et al., 2020). Beberapa tanaman mampu menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki khasiat terapeutik yang kuat, mampu menyembuhkan berbagai penyakit, sebagai antioksidan alami serta menjadi suplemen makanan (Nabil et al., 2024). Menurut Bhatti et al. (2022) metabolit sekunder pada tanaman mampu menyembuhkan berbagai macam penyakit sehingga perlu diidentifikasi lebih lanjut bahwa metabolit sekunder benar dapat digunakan secara efektif sebagai obat alami.

Salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia yang menempati peringkat kesembilan dalam daftar adalah penyakit diabetes melitus (WHO, 2020). Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, fungsi insulin ataupun keduanya. Hal ini ditandai dengan hiperglikemia dan disfungsi vaskular persisten yang dapat berkembang seiring berjalannya waktu (Hussain et al., 2019). Hiperglikemia disebabkan oleh kenaikan kadar gula darah postprandial karena aktivitas enzim α -amilase dalam memecah karbohidrat (Khan et al., 2023). Enzim α -amilase merupakan salah satu sekresi utama kelenjar saliva dan pankreas serta membantu dalam mencerna pati dan glikogen dalam tubuh yang dapat ditemukan pada mikroba, tumbuhan, hewan maupun manusia (Mousavi et al., 2020). Enzim ini megkatalisis pati menjadi maltosa, maltotriosa dan

oligosakarida (Rahim et al., 2019). Ketika pati mulai terurai menjadi gula yang lebih sederhana setelah makan, maka kadar gula darah akan meningkat akibat aktivitas enzim α -amilase dalam memecah karbohidrat (Gong et al., 2020).

Hiperglikemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan kondisi seseorang, menjadi pingsan, koma hingga kematian (Yikna & Awgichew, 2021). Bentuk paling umum dari penyakit diabetes melitus yaitu diabetes tipe 2 dan tipe 1. Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin atau produksi insulin yang kurang. Sedangkan diabetes melitus tipe 1 disebabkan akibat pankreas hanya memproduksi sedikit insulin atau tidak sama sekali (Ahmad et al., 2023). Penderita diabetes mencapai sekitar 422 juta orang di seluruh dunia dan sebanyak 1,5 juta kematian setiap tahunnya (WHO, 2023). Salah satu cara yang paling efektif untuk penyakit diabetes adalah mengurangi hiperglikemia postprandial dengan menghambat aktivitas enzim penghidrolisis karbohidrat seperti α -amilase serta membatasi penyerapan glukosa dalam tubuh (Khan et al., 2022). Maka dari itu, penghambatan aktivitas enzim α -amilase dalam tubuh penting dilakukan.

Saat ini, pengobatan penyakit diabetes melitus masih menggunakan obat oral sintesis seperti akarbose. Namun penggunaan obat oral sintesis dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang serius, sehingga dibutuhkan alternatif pengobatan alami misalnya pada tanaman yang memiliki senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai obat alami salah satunya *Artocarpus altilis* (Andersen et al., 2019).

Artocarpus altilis atau biasa disebut dengan sukun merupakan golongan tanaman *Moroceae* yang tersebar di Kawasan pasifik salah satunya Indonesia (Carmen et al., 2019). Sukun memiliki manfaat sebagai obat tradisional karena mengandung senyawa metabolit sekunder. Senyawa metabolit sekunder memiliki aktivitas biologi yang dapat berguna bagi kelangsungan hidup manusia terutama sebagai obat (Chitra et al., 2019). Metabolit sekunder pada tumbuhan berfungsi untuk pertahanan tumbuhan terhadap bakteri, virus dan jamur. Metabolit sekunder pada tanaman diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok yang berbeda secara kimia diantaranya senyawa terpen, alkaloid dan fenolik (Mera et al., 2019). Selain pemanfaatannya sebagai obat, sukun juga dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sumber karbohidrat. Namun pemanfaatannya hanya pada buahnya saja sehingga kulit buahnya menjadi limbah padahal di dalam kulitnya juga banyak mengandung senyawa bioaktif. Selain itu Silva & Narain (2021), menyatakan bahwa sebagian besar nutrisi serta senyawa antioksidan terkandung pada kulit dan biji buah, yang jika dikonsumsi akan memberikan manfaat pada kesehatan seperti mengurangi risiko kanker, alzheimer, katarak.

Kulit buah sukun (KBS) mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, polifenolat, kuinon, steroid, monoterpen, triterpen, dan sesquiterpen (Dyah et al., 2020). Kandungan metabolit sekunder pada KBS memiliki peran sebagai antioksidan yang mampu menunda atau menghambat kerusakan oksidatif pada molekul target yang diakibatkan oleh radikal bebas dan juga dapat berperan sebagai antidiabetes yang bersifat protektif terhadap kerusakan sel β -pankreas sebagai penghasil insulin dan mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel dan meningkatkan sensitivitas insulin (Shamsudin et al., 2022). KBS memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri (Sidik & Mambang, 2021), antimalaria (Yusantri, 2017), serta antioksidan (Lismiyati et al., 2021; Wibowo & Fitriyaningsih, 2017). Efek penghambatan tanaman terhadap α -amilase dan

target terapeutik lainnya disebabkan oleh adanya beberapa senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai agen potensial untuk pengembangan obat terutama untuk pengobatan diabetes melitus (Bibi et al., 2019). Kandungan senyawa dari kulit buah sukun didapatkan melalui ekstraksi dengan berbagai pelarut.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat adalah proses perendaman sampel secara berulang dengan pelarut yang berbeda (Jiang et al., 2023). Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan senyawa yang akan diekstraksi dalam pelarut (Abubakar & Mainul, 2020). Waktu yang digunakan dalam maserasi berbeda-beda yakni 3-10 hari. Pelarut yang baik digunakan adalah pelarut yang dapat menarik metabolit sekunder secara maksimal. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yakni *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Pelarut *n*-heksana yang bersifat non-polar akan menarik senyawa non-polar, etil asetat yang bersifat semi polar akan menarik senyawa yang bersifat semi polar dan metanol yang bersifat polar akan menarik senyawa yang bersifat polar (Abubakar & Mainul, 2020). Untuk mengetahui potensi antidiabetes KBS perlu dilakukan identifikasi kemungkinan penghambat α -amilase pada KBS. Berdasarkan penjelasan sebelumnya, maka dalam penelitian ini akan digunakan ekstrak kulit buah sukun sebagai antidiabetes alami. Penelitian diawali dengan mengkaji potensi penghambatan ekstrak KBS dan senyawa bioaktifnya terhadap enzim α -amilase melalui studi *in vitro* dan *in silico* sebagai identifikasi agen terapeutik untuk pengobatan diabetes melitus.

Uji aktivitas antidiabetes dari ekstrak KBS secara *in vitro* dilakukan dengan menghitung nilai persen inhibisi serta nilai IC₅₀, ekstrak dengan aktivitas antidiabetes paling aktif dalam pengujian *in vitro* selanjutnya diujikan secara *in silico*, namun sebelum itu, ekstrak terlebih dahulu dianalisis kandungan senyawanya menggunakan alat kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS) kemudian dilakukan virtual *screening* dan dipelajari mekanisme penghambatannya terhadap reseptor α -amilase secara *in silico* menggunakan metode penambatan molekul. Metode penambatan molekul terbukti efisien mampu memprediksi probabilitas interaksi antara senyawa bioaktif terhadap reseptor protein target secara molekuler (Gbore et al., 2023). Prediksi penghambatan enzim α -amilase secara selektif melalui analisis nilai afinitas ikatan melalui interaksi senyawa metabolit sekunder dalam KBS terhadap reseptor α -amilase menggunakan teknik penambatan molekul.

Berdasarkan penelitian terkait yang telah dilakukan sebelumnya, maka dilakukan penelitian tentang ekstraksi KBS dan uji bioaktivitasnya sebagai antidiabetes secara *in vitro* dan *in silico*.

2.3 Metode

2.3.1 Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, kulit buah sukun yang diperoleh dari Kecamatan Enrekang Kabupaten Enrekang Provinsi Sulawesi Selatan, *n*-heksana (Teknis), etil asetat (Teknis), metanol (Teknis), pereaksi *mayer* (Nitra kimia) dan *dragendroff* (Nitra kimia) untuk uji kualitatif alkaloid, magnesium dan asam klorida 1%

untuk uji kualitatif flavonoid, pereaksi Lieberman-Buchard (Nitra kimia) untuk uji kualitatif terpenoid dan steroid, dimetil sulfoksida (Merck), buffer fosfat pH 6,8, dinitrosalisilat (Himedia), natrium kalium tartarat, NaOH, aquades, enzim α -amilase komersial berasal dari *human salivary*, akarbosa (OGB dexa), amilum (Pro analisis), tisu, label, kapas, aluminium foil dan kertas saring whatman 41.

Alat yang digunakan yaitu wadah sampel, blender (Mitho), pompa vakum (GM), *rotary evaporator* (RE100s dlab), neraca analitik (Ohaus), corong buchner (Lutou), GC-MS (QP2010 shimadzu), Uv-Vis (T60), inkubator (Memmerth), oven (Genlab), FTIR (Prestige 21 shimadzu), botol semprot, dan beberapa alat gelas yang umum digunakan di lab seperti gelas kimia, tabung reaksi dan gelas ukur.

2.3.2 Preparasi Sampel

Sampel KBS (*artocarpus altilis*) yang masih segar dicuci bersih menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran yang menempel kemudian dipotong kecil-kecil. Setelah itu, dikering-anginkan pada suhu kamar untuk menghilangkan kadar airnya. Selanjutnya sampel dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

2.3.3 Ekstraksi serbuk kulit buah sukun (KBS)

Ekstraksi KBS merujuk pada prosedur Benchaachoua et al. (2018). Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi bertingkat dengan tiga pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda yaitu pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol dengan cara maserasi. Serbuk KBS mula-mula dimaserasi dengan pelarut *n*-heksana selama 3x24 jam disertai pengadukan. Setelah 3 x 24 jam residu dipisahkan dari filtrat dan ampas simplisia dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C. Kemudian residu dimaserasi lanjut dengan etil asetat selama 3 x 24 jam disertai pengadukan. Setelah 3 x 24 jam residu dipisahkan dari filtrat lalu residu dikeringkan. Kemudian dimaserasi lebih lanjut dengan metanol selama 3 x 24 jam disertai pengadukan. Lalu ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh kira-kira seperempat dari volume awal (ekstrak kental).

2.3.4 Uji Fitokimia

Skrining fitokimia adalah teknik analisis kualitatif yang bertujuan untuk memberi penjelasan umum tentang kelompok senyawa yang terkandung dalam suatu sampel dengan melihat reaksi pengujian warna menggunakan suatu pereaksi warna sehingga dapat diketahui apakah senyawa yang diinginkan terdapat dalam ekstrak atau tidak (Alvi et al., 2019). Ekstrak KBS dianalisis secara kualitatif untuk fitokonstituen seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Analisis kualitatif alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendroff (masing-masing penambahan sebanyak 2 mL) ditambahkan ke dalam larutan ekstrak. Uji positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih untuk pereaksi dragendroff dan endapan coklat kemerahan untuk pereaksi mayer. Analisis kualitatif flavonoid dilakukan dengan penambahan 1 g magnesium dan 1 mL asam klorida 1% dalam larutan ekstrak, uji positif ditandai dengan perubahan warna menjadi coklat, kuning atau jingga. Sedangkan uji terpenoid dan

steroid dilakukan penambahan pereaksi Lieberman-Buchard sebanyak 2 mL dalam larutan ekstrak. Uji positif terpenoid ditandai dengan perubahan warna menjadi merah sedangkan jika positif steroid larutan berubah warna menjadi hijau kebiruan.

2.3.5 Analisis Sampel Menggunakan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR)

Identifikasi gugus fungsi ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR Prestige-21 SHIMADZU pada rentang bilangan gelombang 4000-500 cm^{-1} . Ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS masing-masing sebanyak $\pm 0,5$ mL diteteskan di atas plat NaCl, lalu dianalisis menggunakan instrumen FTIR. Setelah itu, akan diperoleh puncak-puncak berbeda yang memberikan informasi terkait gugus fungsi pada sampel yang dianalisis dengan jumlah scan 300 dan resolusi 4.

2.3.6 Analisis Sampel Menggunakan *Gas Chromatography and Mass Spectroscopy* (GC-MS)

Sampel diinjeksikan ke dalam kolom yang berukuran 30 m x 0,25 mm i.d dengan film tipis 0,25 μM . Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 1 mL/menit, injektor dioperasikan pada suhu 200°C dan suhu kolom oven di program di suhu 50–250°C pada kecepatan 10°C/menit mode injeksi. Berikut kondisi MS yang digunakan: Voltase ionisasi 70 eV; temperatur sumber ion pada 250°C; *mass range* dari 50-600. Kromatogram dan spektrum massa dari senyawa yang belum diketahui kemudian dibandingkan dengan spektrum dari senyawa yang sudah diketahui yang terdapat pada NIST *library* (Hossen, 2024).

2.3.7 Uji Aktivitas Antidiabetes secara *In Vitro*

Uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* merujuk pada prosedur Taslimi & Gulcin (2017). Uji aktivitas inhibisi α -amilase komersial dari *human salivary* dilakukan terhadap larutan kontrol (larutan tanpa sampel/standar), larutan akarbosa sebagai pembanding dan larutan ekstrak.

2.3.7.1 Uji aktivitas enzim α -amilase

Buffer fosfat pH 6,8 sebanyak 125 μL dan enzim α -amilase 1 U/mL sebanyak 125 μL diinkubasi pada suhu 25°C selama 20 menit. Larutan tersebut ditambahkan 125 μL pati 1% dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 250 μL reagen dinitrosalisilat (DNS) kemudian larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan didinginkan sampai suhu ruang. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 502 nm.

2.3.7.2 Uji Inhibisi Enzim α -Amilase

Buffer fosfat pH 6,8 sebanyak 125 μL dan enzim α -amilase 1 U/mL sebanyak 125 μL dan larutan ekstrak *n*-heksana sebanyak 125 μL diinkubasi pada suhu 25°C selama 20

menit. Larutan tersebut ditambahkan 125 μL pati 1% dan diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 250 μL reagen dinitrosalisilat (DNS) dan larutan dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit. Larutan didinginkan sampai suhu ruang. Absorbansi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 502 nm. Dilakukan perlakuan yang sama untuk tiap konsentrasi. Selanjutnya diulangi prosedur tersebut dengan ekstrak KBS etil asetat dan metanol serta akarbosa.

2.3.8 Uji Aktivitas Antidiabetes secara *In Silico*

2.3.8.1 Preparasi Protein α -Amilase dan Ligan Standar

Struktur tiga dimensi protein α -amilase diunduh melalui laman *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/structure>). Semua residu pada struktur protein dihilangkan dan dipreparasi menggunakan *software discovery studio visualizer* dan ligan standar dari struktur kompleks protein diambil kemudian dipreparasi dengan metode yang sama dengan protein. Protein dan ligan yang telah dipreparasi kemudian disimpan dalam format .pdb.

2.3.8.2 Preparasi Ligan Senyawa Hasil GC-MS dan akarbosa sebagai Pembanding

Struktur tiga dimensi senyawa dominan dari ekstrak diunduh pada laman *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Ligan tersebut kemudian disimpan dalam format .pdb menggunakan *software discovery studio visualizer*. Prosedur yang sama dilakukan pada ligan akarbosa.

2.3.8.3 Penambatan Molekul

Setiap ligan ditambatkan pada sisi aktif protein menggunakan *software* PyRx. Parameter penambatan dibuat dengan mengukur *grid box* 40 x 40 x 40 dan *spacing* sebesar 0,375 Å lalu disimpan dalam format.pdbqt. Algoritma sampling yang digunakan adalah *lamarckian genetik algorithm* untuk memperoleh data energi ikatan dan memprediksi konstanta inhibisi. Visualisasi hasil penambatan kemudian diamati menggunakan *software discovery studio visualizer*.

2.3.8.4 Parameter Farmakologi

Analisis ADME (*Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion*) dilakukan menggunakan laman *Swissadme* (<http://www.swissadme.ch>). Analisis ini digunakan untuk mengetahui sifat farmakokinetika dari senyawa yang diuji.

2.3.9 Teknik Analisis Data

2.3.9.1 Perhitungan Persentase Hambatan Sampel Terhadap Enzim

Aktivitas inhibitor enzim α -amilase dari sampel dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 1:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{K-S}{K} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

K = Absorbansi larutan kontrol (tanpa penambahan sampel)

S = Absorbansi larutan sampel (akarbosa, ekstrak KBS *n*-heksana, etil asetat dan metanol)

2.3.9.2 Perhitungan nilai IC₅₀

Nilai IC₅₀ dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y. persamaan regresi $y = bx+a$ yang diperoleh, digunakan untuk menentukan IC50 dengan rumus pada persamaan 2:

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (2)$$

2.4 Hasil dan Pembahasan

2.4.1 Ekstrak kulit buah sukun (KBS)

Ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi bertingkat agar senyawa yang didapatkan lebih banyak. Pada tahapan ini digunakan sampel serbuk kulit buah sukun (KBS) untuk meminimalisir kerusakan dan memperluas permukaan pada sampel sehingga penyerapan sampel semakin besar serta memudahkan penyimpanan dalam jangka waktu yang lama dapat dilihat pada Gambar 2.1. (Skendi et al., 2023). Semakin luas daerah penyerapan sampel, maka kontak antara pelarut dan sampel akan semakin efektif (Patil et al., 2023).



(a)



(b)



(c)

Gambar 2.1. (a) Buah Sukun; (b) KBS Kering; dan (c) Serbuk KBS (Dokumentasi Pribadi)

Ekstrak KBS yang didapatkan setelah proses maserasi kemudian dievaporasi untuk menguapkan pelarutnya menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C agar

senyawa aktif yang terkandung tidak rusak akibat pemanasan (Marjoni et al., 2018). Hasil yang didapatkan dari proses ekstraksi yaitu ekstrak kental dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2. Ekstrak kental *n*-heksan, etil asetat dan metanol KBS (Dokumentasi Pribadi).

Persentase rendemen ekstrak kental *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS yang didapatkan menunjukkan perbedaan dapat dilihat pada Tabel 2.1 Rendemen ekstrak KBS dengan pelarut metanol lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat. Sejalan dengan penelitian Selina et al. (2024) ekstraksi dengan pelarut metanol (3,5%) dihasilkan rendemen yang paling tinggi dibandingkan dengan pelarut *n*-heksana (3,1%) dan etil asetat (0,63%). Penelitian lain oleh Sulvi et al. (2022) didapatkan rendemen ekstrak dengan pelarut metanol lebih tinggi (11,78%) dibandingkan dengan etanol (4,20%) dan *n*-heksana (1,63%). Munculnya perbedaan rendemen ekstrak dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Hal ini dikarenakan pelarut metanol merupakan pelarut universal yang reaktif saat mengekstraksi kulit buah sukun dan juga cenderung mengekstraksi kandungan asam lemak dari KBS (Alvi et al., 2019). Rendemen ekstrak yang diperoleh dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, waktu ekstraksi, dan rasio jumlah pelarut (Kustiati et al., 2022).

Tabel 2.1. Persentase rendemen ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah sukun (KBS)

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak <i>n</i> -heksana kulit buah sukun	3,28
Ekstrak etil asetat kulit buah sukun	1,76
Ekstrak metanol kulit buah sukun	8,25

2.4.2 Uji Fitokimia

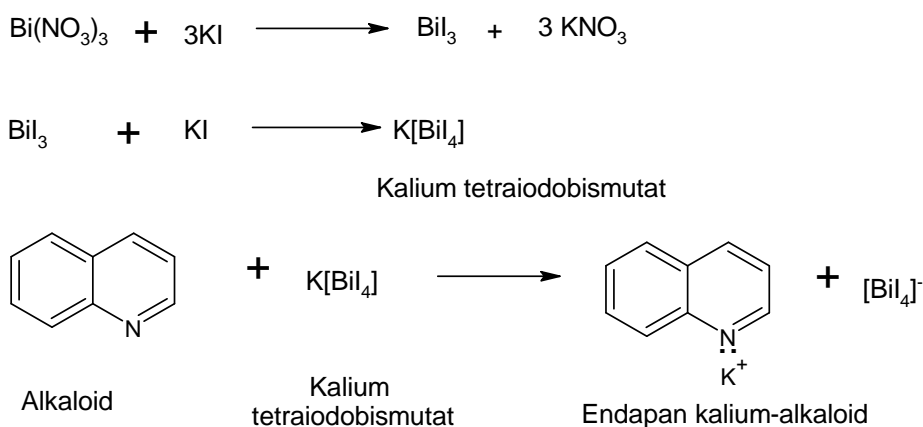
Komponen yang terkandung dalam ekstrak KBS dianalisis golongan senyawanya dengan uji fitokimia dengan beberapa pereaksi untuk golongan senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Hasil dari uji fitokimia ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol kulit buah sukun. Ekstrak KBS dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti yang diperlihatkan pada Tabel 2.2 Hal ini sesuai dengan penelitian Yusantri (2017) bahwa ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS positif mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid.

Tabel 2.2 Hasil skrining fitokimia ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS

Senyawa metabolit sekunder	Pelarut		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Metanol
Alkaloid (Dragendroff)	-	+	+
Alkaloid (Mayer)	-	+	+
Flavonoid	-	+	+
Terpenoid	+	+	-
Steroid	+	+	-

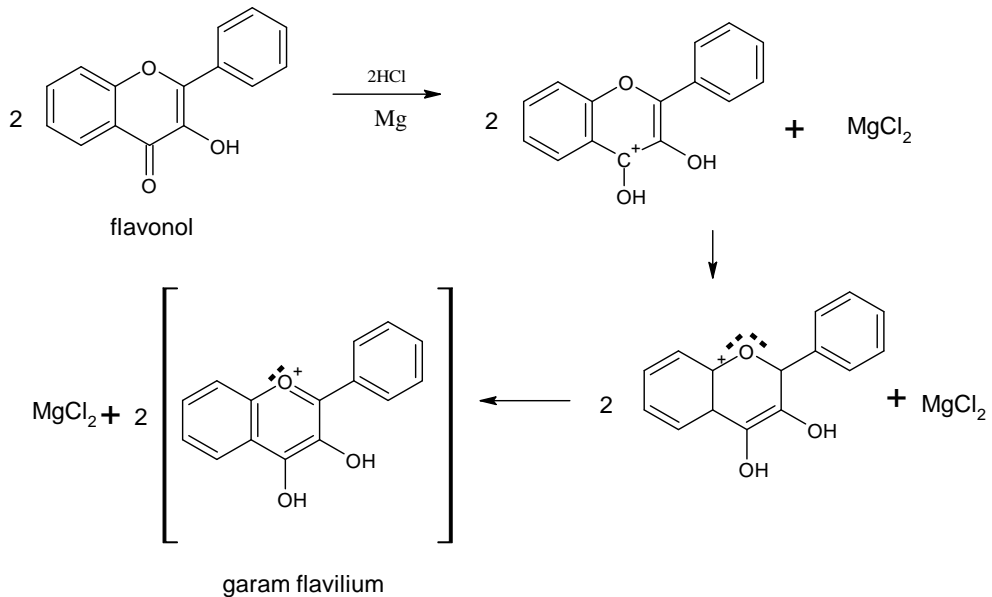
Keterangan: + (mengandung senyawa); - (tidak mengandung senyawa)

Ekstrak kental KBS dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol yang diperoleh diuji pendahuluan terlebih dahulu untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak. Uji alkaloid pada ketiga ekstrak KBS menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana KBS tidak membentuk endapan yang berarti tidak mengandung senyawa alkaloid sedangkan ekstrak etil asetat dan metanol KBS memberikan hasil berupa endapan coklat setelah penambahan reagen Dragendroff dan endapan putih setelah penambahan reagen Mayer yang mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung alkaloid. Ekstrak etil asetat dan metanol KBS mengandung senyawa alkaloid yang umumnya bersifat polar, sehingga senyawa ini kemungkinan terkestrak pada pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dan pelarut metanol yang bersifat polar. Sejalan dengan penelitian Akbar et al. (2021) ekstrak etil asetat *padina* sp mengandung senyawa alkaloid. Penelitian lain oleh Marjoni et al. (2018) ekstrak metanol KBS dengan pelarut etil asetat mengandung senyawa alkaloid. Mekanisme reaksi uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 2.3.

**Gambar 2.3.** Mekanisme reaksi uji Dragendroff

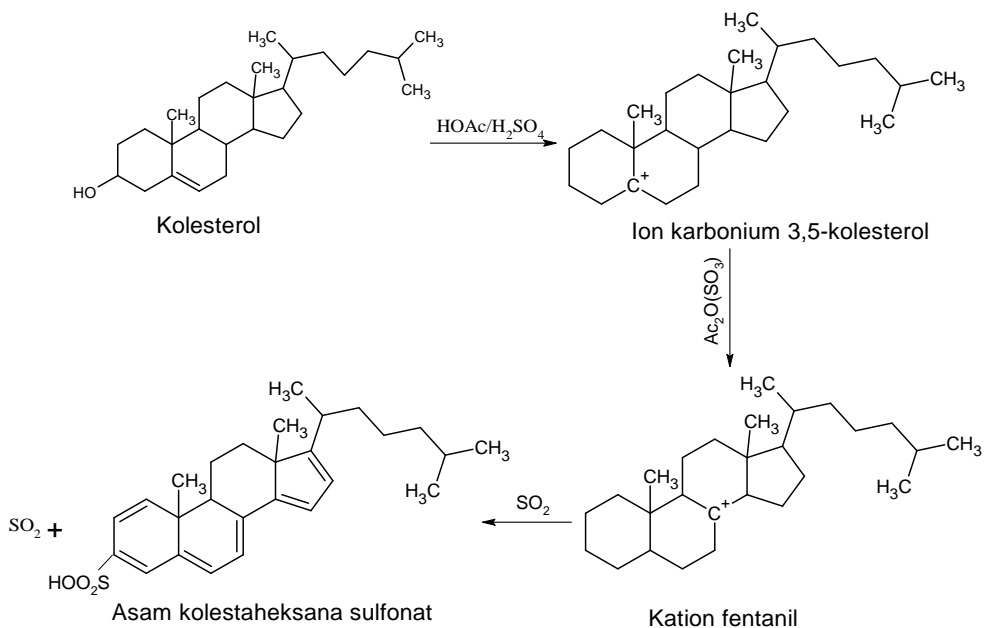
Skrining fitokimia senyawa flavonoid dilakukan dengan menambahkan serbuk Mg dan HCl pada sampel. Pengujian terhadap ekstrak etil asetat dan metanol terjadi perubahan warna larutan menjadi coklat yang berarti ekstrak etil asetat dan metanol KBS positif mengandung flavonoid. Penambahan serbuk Mg dan HCl pada ekstrak *n*-heksana tidak menunjukkan perubahan warna pada larutan sehingga ekstrak *n*-heksana negatif mengandung flavonoid. Sejalan dengan penelitian Fitrya et al. (2023) ekstrak etil asetat KBS mengandung senyawa flavonoid. Penelitian lain oleh Sajid (2020) ekstrak metanol

dari beberapa jenis tanaman mengandung senyawa flavonoid. Mekanisme reaksi pengujian flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4. Mekanisme reaksi uji flavonoid (Iskandar, 2020)

Penambahan reagen Liebermann-burchard pada ekstrak etil asetat dan *n*-heksana KBS terjadi perubahan warna sehingga diindikasikan positif mengandung terpenoid dan steroid. Sedangkan ekstrak metanol KBS tidak terjadi perubahan warna pada larutan yang berarti negatif mengandung steroid dan terpenoid.



Gambar 2.5. Mekanisme reaksi uji terpenoid/steroid (Iskandar, 2020)

Hal ini sejalan dengan penelitian Daley et al. (2020) ekstrak etil asetat KBS mengandung senyawa terpenoid dan steroid. Penelitian lain oleh Yasudha et al. (2019) ekstrak *n*-heksana akar dan daun *leucas aspera* positif mengandung senyawa terpenoid dan steroid. Mekanisme rekasi uji terpenoid dan steroid dapat dilihat pada Gambar 2.5.

2.4.3 Identifikasi Menggunakan FTIR

Identifikasi menggunakan spektrofotometer FTIR dilakukan untuk mengetahui gugus fungsi dari suatu senyawa. Hasil pembacaan gugus fungsi berdasarkan spektrum yang telah dianalisis dari ketiga jenis sampel dapat dilihat pada Tabel 2.3.

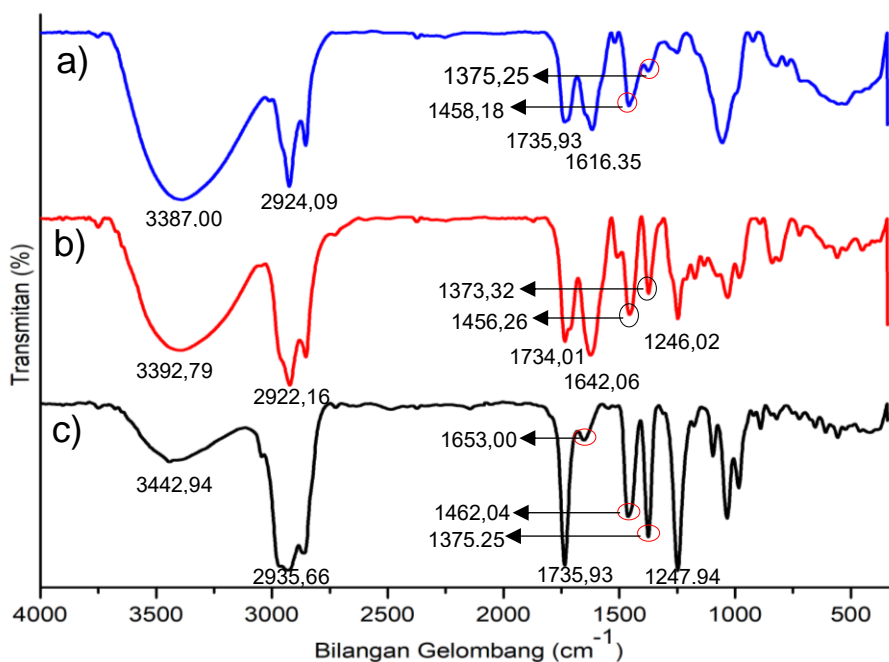
Tabel 2.3. Serapan FTIR Ekstrak KBS dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		
	Ekstrak <i>n</i> -Heksana KBS	Ekstrak Etil Asetat KBS	Ekstrak Metanol KBS
Vibrasi N-H/O-H	3442,94	3392,79	3387,00
Vibrasi C-H	2935,66 dan 2882,36	2922,16 dan 2852,72	2924,09 dan 2854,65
Vibrasi C=O	1735,93	1734,01	1735,93
Vibrasi C=C	1653,00	1642,06	1616,35
Vibrasi C-H (-CH ₂ -)	1462,04	1456,26	1458,18
Vibrasi C-H (-CH ₃ -)	1375,25	1373,32	1375,25
Vibrasi C-N	1247,94	1246,02	1249,87

Pada bilangan gelombang 3500-3100 cm⁻¹ dengan puncak yang melebar menunjukkan serapan khas vibrasi ulur gugus fungsi amina (N-H) atau bisa juga alkohol (O-H) (Pereira et al., 2024). Sedangkan gugus fungsi C-N berada pada daerah 1240-1360 cm⁻¹ (Yunitasari et al., 2022). Sifat khas C-H alifatik ini ditandai dengan adanya serapan pada daerah 2850-3000 cm⁻¹ (Pereira et al., 2024). Hal ini didukung dengan adanya gugus metil dan metilen yang diperkuat oleh vibrasi C-H pada daerah bilangan gelombang 1462,04 cm⁻¹ (metilen) dan 1375,25 cm⁻¹ (metil) dengan bentuk pita masing-masing tajam dengan intensitas kuat. Di mana, berdasarkan data pada literatur menunjukkan bahwa gugus fungsi C-H(-CH₂) berada pada daerah (1450-1465 cm⁻¹) dan (1370-1450 cm⁻¹) untuk gugus fungsi C-H(-CH₃) (Yunitasari et al., 2022). Serapan tajam dengan intensitas lemah juga terdapat pada daerah bilangan gelombang 1735,93cm⁻¹ menunjukkan adanya vibrasi C=O (1640-1740 cm⁻¹) yang diperkuat dengan adanya serapan tajam dengan intensitas lemah juga terdapat pada daerah bilangan gelombang 1653,00 cm⁻¹ menunjukkan vibrasi C=C aromatik (1600-1680 cm⁻¹) (Pereira et al., 2024). Berdasarkan analisis gugus fungsi diprediksi bahwa ekstrak KBS dengan pelarut *n*-heksana terdapat golongan senyawa metabolit sekunder seperti terpenoid dan steroid. Hal tersebut sesuai dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan sebelumnya bahwa ekstrak *n*-heksana positif mengandung terpenoid dan steroid.

Hasil spektrum FTIR ekstrak KBS dengan pelarut etil asetat menunjukkan adanya serapan tajam pada bilangan gelombang 3392,79 cm⁻¹ diidentifikasi sebagai vibrasi N-H atau bisa juga sebagai vibrasi O-H (amina atau alkohol). Regangan ikatan unggul gugus C-H terdapat pada bilangan gelombang 2922,16 cm⁻¹ yang menandakan adanya

golongan senyawa alkana (Yunitasari et al., 2022). Serapan tajam pada bilangan gelombang 1734,01 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O dan juga terdapat ikatan C=C aromatik pada bilangan gelombang 1642,06 cm^{-1} . Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah sukun dengan pelarut etil asetat kemungkinan memiliki senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Hal ini sesuai dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan sebelumnya dimana ekstrak etil asetat KBS positif mengandung alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid.



a) Ekstrak Metanol KBS b) Ekstrak Etil Asetat KBS c) Ekstrak *n*-Heksana KBS

Gambar 2.6. Spektrum Infra-Red Ekstrak Kulit Buah Sukun

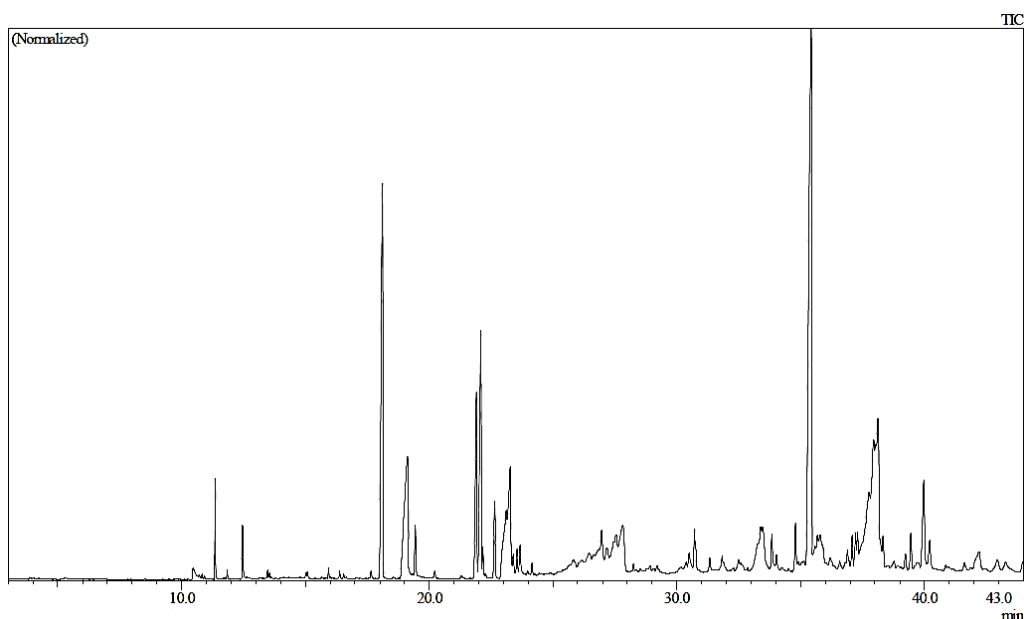
Spektrum FTIR ekstrak KBS dengan pelarut metanol memperlihatkan adanya puncak vibrasi ulur gugus N-H atau bisa juga vibrasi ulur gugus O-H pada bilangan gelombang 3387 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang 1249,87 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus fungsi C-N. Selain itu, serapan pada daerah gelombang 1616,35 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi ikatan C=C aromatik. Serapan kuat pada daerah bilangan gelombang 1735,93 cm^{-1} diduga karena adanya gugus fungsi C=O. Rentangan C-H alifatik ditunjukkan pada bilangan gelombang 2924,09 cm^{-1} dan 2854,65 cm^{-1} , hal ini berasal dari gugus CH_2 . Adanya C-H alifatik diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang 1258,18 cm^{-1} yang merupakan serapan dari C-H alifatik (Yunitasari et al., 2022). Berdasarkan hal tersebut, ekstrak kulit buah sukun dengan pelarut metanol mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid, sesuai dengan hasil uji fitokimia sebelumnya bahwa ekstrak metanol KBS positif mengandung alkaloid serta flavonoid.

Hasil identifikasi ekstrak KBS dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan metanol bahwa ketiga ekstrak diprediksi memiliki kandungan senyawa alkaloid, hal ini sejalan dengan penelitian Soifoini et al. (2021) bahwa ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol

mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Hal ini juga sesuai dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan sehingga dapat dikatakan bahwa kemungkinan ketiga ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid. Vibrasi ulur maupun tekuk ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol KBS dapat dilihat pada Gambar 2.6.

2.4.4 Analisis Sampel KBS Menggunakan GC-MS

Analisis senyawa metabolit yang terdapat dalam ekstrak KBS menggunakan instrumen GC-MS yang merupakan teknik analisis dengan melakukan pemisahan berdasarkan waktu retensi dan berat molekul.



Gambar 2.7. Kromatogram GC-MS ekstrak *n*-heksana KBS

Kromatografi gas dapat digunakan untuk membaca senyawa dengan konsentrasi paling rendah sehingga dapat mengidentifikasi metabolit sekunder dalam tanaman yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram (Al-Rubaye et al., 2017). Hasil kromatogram dari ekstrak *n*-heksan KBS pada Gambar 2.7 menunjukkan adanya 71 puncak yang mewakili masing-masing senyawa berbeda dalam ekstrak (Lampiran 4).

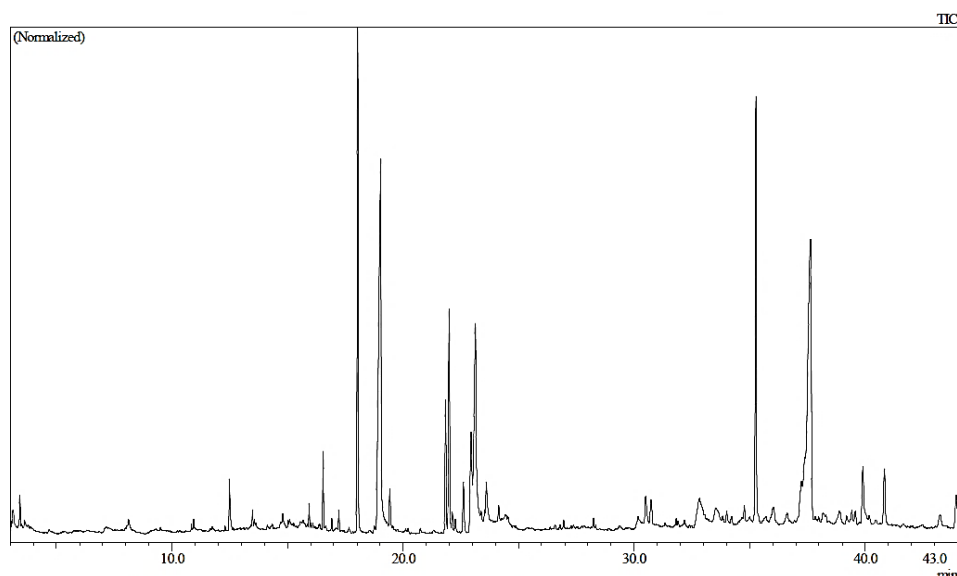
Keanekaragaman senyawa fitokimia dalam ekstrak tumbuhan memiliki peran penting terhadap aktivitasnya di bidang farmakologis. Adapun 10 fitokomponen dengan persen area terluas dalam ekstrak *n*-heksana kulit buah sukun telah dianalisis menggunakan GC-MS dapat dilihat pada Tabel 2.4. Berdasarkan hasil uji GC-MS, ekstrak *n*-heksana KBS mengandung beberapa senyawa. Senyawa yang paling dominan diantara senyawa lainnya adalah skualen. Senyawa ini muncul pada waktu retensi 35,428 menit dengan persentase area sebesar 16,75%. Skualen merupakan senyawa golongan terpenoid dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}$ dengan enam buah ikatan ganda. Skualen dapat memperbaiki kelenjar pankreas yang rusak, sehingga merangsang pembentukan insulin

yang mempunyai peranan dalam penyembuhan hiperglikemia. Seperti penelitian oleh Widyawati et al. (2023), menyatakan bahwa uji antidiabetes secara *in vivo* pada mencit dengan senyawa skualen mampu menurunkan kadar gula darah dari $134,40 \pm 16,95$ mg/dL menjadi $44,26 \pm 5,29$ mg/mL.

Tabel 2.4. Fitokomponen ekstrak *n*-heksana KBS menggunakan GC-MS

Waktu Retensi	Nama Senyawa	Area (%)
18.108	Asam heksadekanoat	7.44
19.126	n-heksadekanoat	5.19
21.901	9,12- oktadekanoat, metil ester	3.08
22.086	6-oktadekanoat, metil ester, (z)-	4.90
23.263	7-tetradekanal, (z)-	6.03
37.821	γ -sitosterol	2.31
33.390	9,19-siklolanost-24-en-3-ol, asetat, (3.beta.)-	3.44
35.428	skualen	16.75
38.129	9,19-siklolanost-24-en-3-ol, asetat	16.03
39.990	cis-3,14-klerodadin-13-ol	4.71

Hasil kromatogram dari ekstrak etil asetat KBS pada Gambar 2.8 menunjukkan adanya 88 puncak yang mewakili masing-masing senyawa berbeda dalam ekstrak (Lampiran 4). Berdasarkan hasil uji GC-MS, ekstrak etil asetat KBS mengandung beberapa senyawa. Senyawa yang paling dominan diantara senyawa lainnya adalah sikloartenol. Senyawa ini muncul pada waktu retensi 37,627 menit dengan persentase area sebesar 19,22%. Sikloartenol merupakan senyawa golongan steroid dengan rumus molekul $C_{30}H_{50}O$. Senyawa golongan steroid memiliki mekanisme kerja dengan menstimulasi keluarnya insulin dari pankreas sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah (Oloruntola et al., 2022). Seperti penelitian oleh Suresh et al. (2021), menyatakan bahwa uji antidiabetes secara *in vivo* pada mencit dengan senyawa golongan steroid mampu menurunkan kadar gula darah pada rentang 37-128 mg/dL.



Gambar 2.8. Kromatogram GC-MS ekstrak etil asetat KBS

Keanekaragaman senyawa fitokimia dalam ekstrak tumbuhan memiliki peran penting terhadap aktivitasnya di bidang farmakologis. Fitokomponen dalam ekstrak etil asetat KBS telah dianalisis menggunakan GC-MS dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Fitokomponen senyawa ekstrak etil asetat KBS menggunakan GC-MS

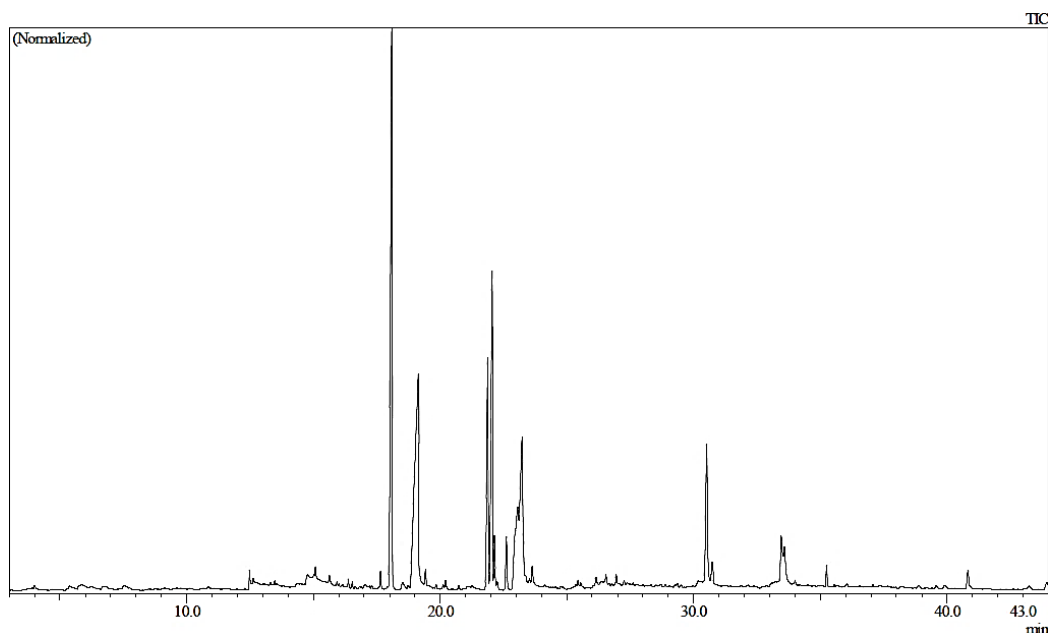
Waktu Retensi	Nama Senyawa	% area
18.033	Asam heksadekanoat, metil ester (cas)	7.50
19.032	n-heksadekanoat	14.85
21.837	9,12-oktadekadinoat acid (z,z)-, metil ester	2.32
21.995	8,11,14-asam docosatrioat, meil ester	4.06
22.945	9,12- asam oktadecadinoat (z,z)-	2.76
23.128	Asam dikloroasetat, tridec-2-ynyl ester	7.46
32.836	9,19-siklolanoat-24-en-3-ol, asetat, (3.beta.)-	3.05
35.275	skualen	7.36
37.627	sikloartenol	19.22
39.921	cis-3,14-clerodadien-13-ol	2.61

Hasil kromatogram dari ekstrak metanol KBS pada Gambar 2.9. Menunjukkan adanya 80 puncak yang mewakili masing-masing senyawa berbeda dalam ekstrak (Lampiran 4). Berdasarkan hasil uji GC-MS, ekstrak metanol KBS mengandung beberapa senyawa. Senyawa yang paling dominan diantara senyawa lainnya adalah asam heksadekanoat. Senyawa ini muncul pada waktu retensi 18,085 menit dengan persentase area sebesar 18,11%. Asam heksadekanoat merupakan salah satu jenis asam lemak jenuh dengan rumus molekul $C_{16}H_{32}O_2$. Asam heksadekanoat diketahui memiliki potensi sebagai antidiabetes dianjurkan bagi penderita diabetes melitus. Seperti penelitian oleh Husni et al. (2020), menyatakan bahwa uji antidiabetes secara *in vitro* terhadap enzim α -amilase dengan ekstrak yang mengandung asam heksadekanoat mampu menghambat enzim α -amilase dengan nilai IC_{50} $67,38 \pm 6,84$ mg/dL.

Tabel 2.6. Fitokomponen senyawa ekstrak metanol KBS menggunakan GC-MS

Waktu Retensi	Nama Senyawa	% area
18.085	Asam heksadekanoat, metil ester	8.11
19.141	n-heksadekanoat	17.85
21.873	9,12-oktadecadinoat (z,z)-, metil ester (cas)	6.71
22.051	8,11,14-docosatrioat, metil ester (cas)	10.03
22.615	metil stearat	1.33
23.054	9,12-oktadekadinoat (z,z)-	6.33
23.235	9,12,15-oktadekatrioat, (z,z,z)-	9.31
23.630	oktadekanoat acid	1.34
30.517	Asam heksadekanoat, 2-hydroxy-1-(hidroksimetil)etil ester	5.38
33.464	9,12-oktadekadinoat (z,z)-, 2,3-dihidroksipropil ester	4.12

Keanekaragaman senyawa fitokimia dalam ekstrak tumbuhan memiliki peran penting terhadap aktivitasnya di bidang farmakologis. Fitokomponen dalam ekstrak metanol KBS telah dianalisis menggunakan GC-MS dapat dilihat pada Tabel 2.6.



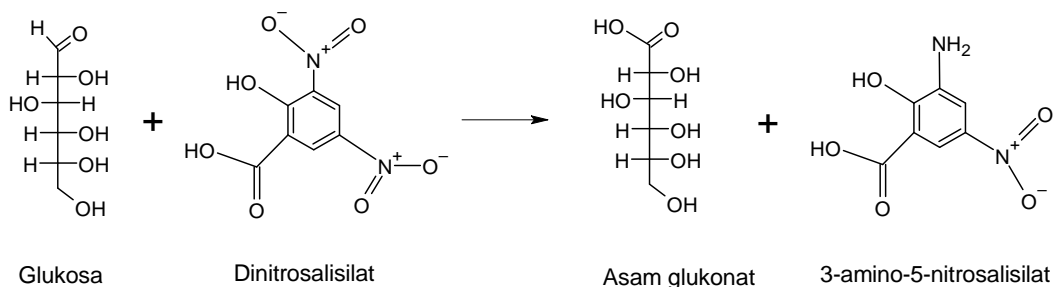
Gambar 2.9. Kromatogram GC-MS ekstrak metanol KBS

2.4.5 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -amilase secara *In Vitro*

Salah satu cara untuk mengobati diabetes melitus adalah dengan menurunkan hiperglikemia postprandial yang dilakukan dengan menurunkan laju penyerapan glukosa melalui penghambatan terhadap enzim pencernaan yang berperan dalam memecah karbohidrat yaitu enzim α -amilase dan α -glukosidase. Inhibitor enzim-enzim ini mengakibatkan berkurangnya penyerapan glukosa sehingga gula darah postprandial akan tetap normal (Begum et al., 2019). Uji penghambatan aktivitas α -amilase dilakukan pada akarbosa dan tiga ekstrak KBS dengan pelarut berbeda yaitu ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan metanol. Masing-masing akarbosa dan ekstrak dengan variasi konsentrasi 1000 ppm, 3000 ppm, 5000 ppm dan 10000 ppm. Tujuan dari adanya variasi konsentrasi yaitu untuk memperoleh persen penghambatan yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . Ekstrak yang paling aktif yaitu ekstrak dengan persen hambatan yang paling besar yang berarti semakin besar persen hambatan suatu ekstrak maka efek yang ditimbulkan lebih baik (Fatikhurokhmah & Rudiana, 2022).

Sebelum uji penghambatan aktivitas enzim α -amilase pada ekstrak, uji penghambatan aktivitas enzim α -amilase terlebih dahulu dilakukan pada akarbosa sebagai pembanding. Akarbosa digunakan karena merupakan obat diabetes yang umumnya dikonsumsi oleh penderita diabetes dan juga lebih mudah didapat serta banyak digunakan sebagai pembanding pada berbagai literatur. Pengujiannya menggunakan larutan enzim α -amilase pada konsentrasi 1 U/mL, larutan substrat 1% dan reagen dinitrosalisilat (DNS). Tujuan dari penambahan reagen DNS untuk menghentikan reaksi enzim α -amilase dalam menghambat amilum. Gula reduksi yang dihasilkan akan bereaksi dengan 3,5-dinitrosalisilat dalam suasana basa membentuk 3-amino-5-nitrosalisilat yang nantinya dapat dideteksi pada spektrometer UV-Vis. Bila terdapat gula reduksi pada sampel, reagen DNS yang awalnya berwarna kuning akan bereaksi dengan

gula reduksi sehingga menimbulkan warna jingga kemerahan. Mekanisme reaksinya dapat dilihat pada Gambar 2.10.



Gambar 2.10. Reaksi reduksi DNS oleh glukosa

Pengamatan aktivitas penghambatan enzim dilakukan dengan membandingkan nilai absorbansi kontrol dan nilai absorbansi sampel. Hasil pengukuran sampel dapat dilihat pada Tabel 2.7. Nilai IC_{50} merupakan konsentrasi dari senyawa atau ekstrak yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim α -amilase sebesar 50% yang diperoleh dari suatu persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel sebagai variabel x dengan persen penghambatan sebagai variabel y (Sun et al., 2020).

Tabel 2.7. Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Penghambatan (%)	IC_{50} (mg/mL)
Akarbosa	1000	3,93	49,69
	3000	11,6	
	5000	22,78	
	10000	34,29	
Ekstrak <i>n</i> -heksana KBS	1000	3,82	57,44
	3000	12,38	
	5000	17,27	
	10000	19,49	
Ekstrak etil asetat KBS	1000	13,83	38,71
	3000	27,02	
	5000	29,24	
	10000	40,59	
Ekstrak methanol KBS	1000	15,51	51,21
	3000	17,66	
	5000	53,17	
	10000	56	

Berdasarkan data yang diperoleh, ekstrak etil asetat KBS memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan akarbosa, sehingga terlihat bahwa ekstrak etil asetat KBS memiliki penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan akarbosa. Sejalan dengan penelitian Fitri et al. (2024) ekstrak etil asetat dari *Terminalia catappa* memiliki nilai IC_{50} (329,15 μ g/mL) yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak metanol (2515,1

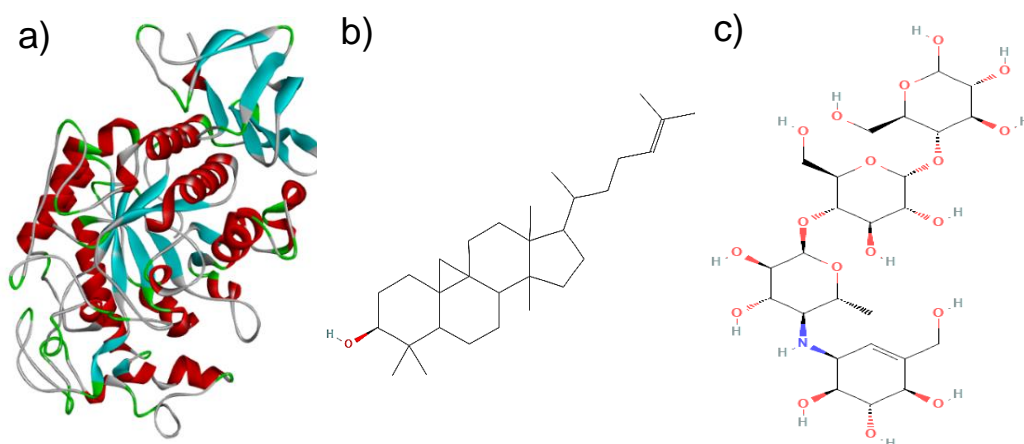
$\mu\text{g/mL}$) α -amilase. Selain itu penelitian oleh Yunitasari et al. (2022) didapatkan nilai IC_{50} ekstrak etil asetat *Vernonia amygdalina* ($2,09 \mu\text{g/mL}$) lebih kecil dibandingkan dengan nilai IC_{50} ekstrak metanol ($5,42 \mu\text{g/mL}$) terhadap enzim α -amilase yang berarti ekstrak etil asetat lebih baik dalam menghambat aktivitas enzim α -amilase. Semakin kecil nilai IC_{50} maka semakin tinggi aktivitas antidiabetesnya seperti pada Tabel 2.8 (Faiza, 2024). Hal ini dikarenakan etil asetat merupakan pelarut semi polar sehingga dapat menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak seperti fenolik, alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid. Hal ini sejalan dengan penelitian Mainasara et al. (2019) bahwa dalam ekstrak etil asetat KBS mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid

Tabel 2.8 Kategori kekuatan aktivitas antidiabetes

Kategori	Rentang (ppm)
Sangat kuat	< 50
Kuat	51-100
Sedang	101-250
Lemah	251-500
Tidak aktif	> 500

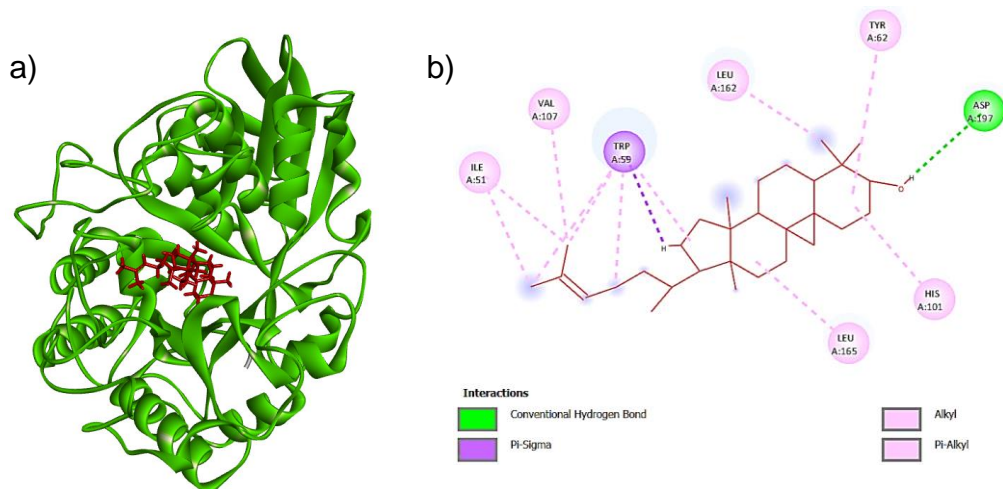
2.4.6 Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -Amilase secara *In Silico*

Ekstrak etil asetat KBS dalam penelitian ini diindikasikan memiliki aktivitas sebagai antidiabetes melalui penghambatan enzim α -amilase. Sikloartenol merupakan senyawa dengan persen area tertinggi dari hasil analisis menggunakan GC-MS, dimana senyawa tersebut akan digunakan sebagai ligan dalam proses penambatan molekul. Enzim α -amilase sebagai molekul target akan digunakan sebagai reseptor karena merupakan enzim yang berperan dalam memecah pati menjadi gula. Struktur 3D protein α -amilase diambil dari laman Protein Data Bank (PDB ID: 1JXK) serta struktur kimia dari senyawa uji diunduh dari database PubChem dan disimpan dalam format pdb, dapat dilihat pada Gambar 2.11. Hidrogen polar dan muatan atom ditambahkan ke dalam reseptor menggunakan *Discovery Visualizer Studio*.

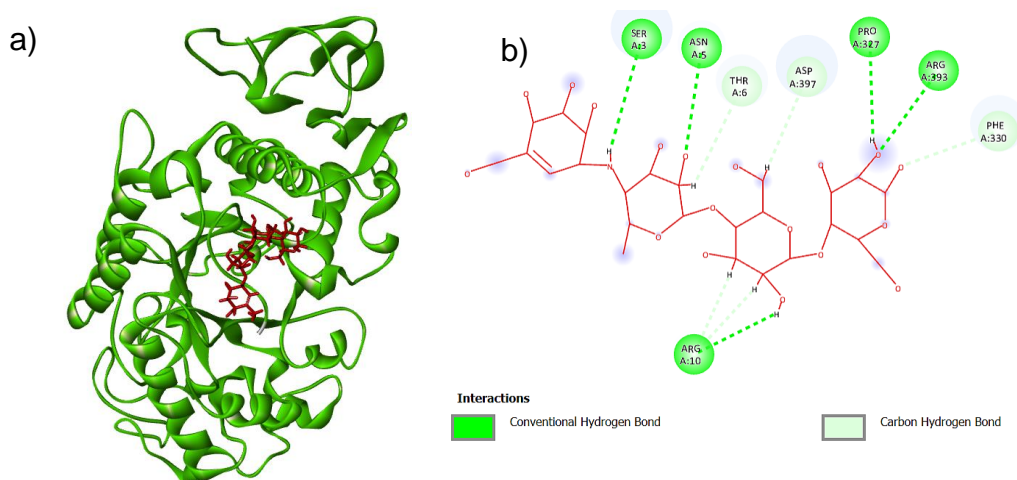


Gambar 2.11. Struktur kimia dari: a) α -amilase yang sudah dipreparasi (PDB ID: 1jxk); b) sikloartenol (PubChem ID: 91746587) dan c) akarbosa (PubChem ID: 41774)

Penambatan antara reseptor α -amilase dan senyawa uji dilakukan menggunakan situs pengikatan yang dihasilkan sama terhadap ligan standar. Senyawa uji diset pada posisi yang sama dengan ligan standar. Hasil uji *in silico* dengan teknik penambatan menghasilkan dua data yaitu posisi pengikatan ligan (sikloartenol) terhadap reseptor (α -amilase) dan afinitas pengikatan. Berdasarkan hasil penambatan yang diperoleh, posisi pengikatan sikloartenol terhadap α -amilase tidak jauh berbeda dengan posisi pengikatan akarbosa (kontrol positif) terhadap α -amilase, seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.12 dan 2.13.



Gambar 2.12. Visualisasi interaksi antara reseptor α -amilase dengan sikloartenol: a) 3 dimensi dan b) 2 dimensi



Gambar 2.13. Visualisasi interaksi antara reseptor α -amilase dengan akarbosa: a) 3 dimensi dan b) 2 dimensi

Hasil penambatan yang diperoleh menunjukkan bahwa sikloartenol dapat berinteraksi dengan sisi aktif enzim melalui ikatan hidrogen dengan residu asam amino Asp197. Sementara itu, kontrol positif yaitu akarbosa menunjukkan ikatan dengan residu yang

berbeda, diantaranya Ser3, Asn5, Pro327, Arg393 dan Arg10. Hal ini diperkuat oleh hasil penelitian Nursamsiar et al. (2020) analisis dengan penambatan molekular menunjukkan interaksi antara ligan dan sisi aktif enzim α -amilase yang melibatkan pembentukan ikatan hidrogen dengan residu asam amino seperti Asp197, Glu233, His201 dan Asp300. Penelitian lain oleh Klara et al. (2023) bahwa senyawa hasil penambatan molekular dari senyawa *Caesalpinia sappan* L. dapat berikatan dengan sisi aktif enzim α -amilase dengan residu asam amino spesifik seperti Asp197, His101, Tyr62 dan His299. Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa senyawa sikloartenol yang merupakan golongan steroid dan terkandung di dalam ekstrak etil asetat KBS mampu menghambat kerja enzim α -amilase dalam memecah karbohidrat. Dimana senyawa golongan steroid memiliki mekanisme kerja dengan menstimulasi keluarnya insulin dari pankreas sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah (Rahman et al., 2022). Berdasarkan energi ikatan, sikloarteol menunjukkan nilai yang hampir sama dengan akarbosa dapat dilihat pada Tabel 2.9. Semakin rendah energi ikatan yang diperlukan, maka semakin kuat potensi inhibisi suatu senyawa terhadap protein target (Puspita et al., 2022).

Tabel 2.9. Hasil penambatan senyawa inhibitor enzim α -amilase

Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)
Sikloartenol	-8,8
Akarbosa	-8,2

Pengujian kandidat obat dapat dilakukan dengan uji afinitas ligan-reseptor untuk mengetahui kemampuan senyawa berikatan dengan reseptor target. Sifat fisikokimia senyawa tersebut dapat mempengaruhi kemampuannya untuk diabsorpsi, didistribusi, dimetabolisme, dan diekskresi oleh tubuh. Berdasarkan aturan Lipinski, terdapat serangkaian aturan empiris yang digunakan untuk memprediksi apakah suatu senyawa obat memiliki kemampuan untuk diabsorpsi dengan baik oleh tubuh. Sifat fisikokimia sikloartenol dan akarbosa berdasarkan aturan Lipinski dapat dilihat pada Tabel 2.9. Suatu senyawa dikatakan baik sebagai obat oral jika memenuhi aturan Lipinski.

Tabel 2.10. Parameter sifat fisikokimia senyawa sikloartenol dan akarbosa berdasarkan aturan Lipinski

Parameter fisikokimia	Sikloartenol	Akarbosa
Berat Molekul (<500 g/mol)	426,72g/mol	645.60g/mol
Log P (<5)	5,17	0.63
Hidrogen donor (<5)	1	14
Hidrogen akseptor (<10)	1	19

Berdasarkan Tabel 2.10 diperoleh bahwa sikloartenol memenuhi kelima aturan Lipinski sedangkan akarbosa hanya memenuhi 1 aturan Lipinski. Senyawa sikloartenol memenuhi aturan Lipinski (berat molekul <500g/mol) yang berarti sikloartenol dapat berdifusi dengan baik menembus membran dibandingkan dengan akarbosa (645,60g/mol). Semakin besar bobot molekul yang diperoleh maka semakin buruk kemampuannya dalam berdifusi menembus membran (Ansari et al., 2022). Akarbosa merupakan senyawa yang kurang baik dalam kemampuan difusi membran biologis karena bobotnya lebih dari 500g/mol.

Nilai Log P menyatakan koefisien kelarutan suatu molekul dalam lemak/air yang berhubungan dengan hidrofobisitas molekul obat. Semakin tinggi nilai log P maka semakin hidrofobik suatu senyawa sehingga memiliki toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer (Ahmad et al., 2021). Nilai log P dari sikloartenol dan akarbosa memenuhi aturan Lipinski (nilai log P <5) yang berarti kelarutannya di dalam tubuh itu baik.

Jumlah donor ikatan hydrogen (<5) dan akseptor ikatan hydrogen (<10) memprediksi permeabilitas suatu senyawa semakin baik dan membutuhkan energi yang lebih sedikit pada proses absorpsi (Duraismy et al., 2024). Semakin banyak jumlah ikatan hydrogen donor dan akseptor yang dimiliki suatu senyawa maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan untuk absorpsi (Karami et al., 2022). Senyawa sikloartenol memenuhi aturan Lipinski yaitu memiliki <5 ikatan hidrogen donor dan memiliki ikatan hydrogen akseptor <10. Hal ini berarti bahwa sikloartenol memiliki tingkat kelarutan yang tinggi sehingga lebih mudah untuk terabsorpsi ke dalam tubuh.

Berdasarkan hasil analisis fisikokimia menurut aturan Lipinski dapat dikatakan bahwa senyawa sikloartenol memiliki kelarutan yang lebih baik di dalam tubuh dibandingkan akarbosa, sehingga sikloartenol dapat digunakan sebagai obat oral alami untuk menghambat aktivitas enzim α -amilase.

2.5 Kesimpulan

Hasil uji fitokimia ekstrak KBS *n*-heksana mengandung steroid dan terpenoid, dan ekstrak etil asetat mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid dan terpenoid sedangkan ekstrak metanol mengandung alkaloid dan flavonoid. Hal ini didapatkan hasil yang sama dari analisis FTIR dan GC-MS.

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim α -amilase terhadap ekstrak KBS secara *in vitro* diperoleh nilai IC₅₀ pada ekstrak *n*-heksana, etil asetat, metanol KBS dan akarbosa masing-masing sebesar 57,44 mg/mL, 38,71 mg/mL, 51,21 mg/mL dan 49,69 mg/mL.

Hasil penambatan molekul enzim α -amilase dengan sikloartenol sebagai ligan menunjukkan energi ikatan yang lebih rendah (-8,8 kkal/mol) dibandingkan dengan akarbosa (-8,2 kkal/mol) sebagai pembanding. Hal ini berarti sikloartenol sebagai senyawa dominan dalam ekstrak etil asetat KBS memiliki interaksi yang baik sebagai inhibitor enzim α -amilase dibandingkan akarbosa, sehingga berpotensi sebagai obat antidiabetes alami.

2.6 Daftar Pustaka

- Abubakar, A.R. & Mainul, H. 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal Pharm Bioallied Science*, 12(1): 1-10. doi: 10.4103/jpbs.jpbs_175_19
- Ahmad, P., Alvi, S.S., Iqbal, J., Khan, S. 2021. Identification and Evaluation of Natural Organosulfur Compounds as Potential Dual Inhibitors of α -Amylase and α -Glucosidase Activity: An *In-Silico* and *In-Vitro* Approach. *Medicinal Chemistry Research*, 30(12): 2184-2202, 10.1007/s00044-021-02799-2

- Ahmad, S., Sultan, A., Uzma, S. 2023. Antioxidant, α -Amylase and Acetylcholinesterase Inhibitory Potential of *Mazus pumilus* (Japanes Mazus) Extract: An *In-Vitro* and *In-Silico* Study. *Arabian Journal of Chemistry*, 17(1): 105441. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105441>
- Akbar, A., Soekamto, NH., Firdaus, Bahrun. 2020. Antioxidant of *n*-Hexane, Ethyl Acetate and Methanol Extracts of *Padina* sp with DPPH method. *International Conference on Sustainable Utilization of Natural Resources. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 800(2021): 012019. 10.1088/1755-1315/800/1/012019
- Al-Rubaye., Abeer, F., Imad, H., Mohanad, J. 2017. A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *International Journal of Toxicological and Pharmacological Research*, 9(1): 81-85. doi: 10.25258/ijtpr.v9i01.9042
- Alvi, S.S., Ahmad, P., Ishrat, M., Iqbal, D., Khan, M., 2019. Secondary Metabolites from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Structure, Biochemistry and Therapeutic Implications Against Neurodegenerative Diseases, in: Natural Bio-Active Compounds. *Springer Singapore*, 12(6): 1–24. https://doi.org/10.1007/978-981-13-7205-6_1.
- Andersen, W., Osler, M. Jørgensen, J. Rungby, M. 2019. Antidiabetic Medication and Risk of Dementia in Patients with Type 2 Diabetes: A Nested Case–Control Study. *European Journal of Endocrinology*, 181(5): 499-507. <https://doi.org/10.1530/EJE-19-0259>
- Ansari, W., F. Rizvi, M. Khan, Z. Khan, M. Khan. 2022. Computational Study Reveals the Inhibitory Effects of Chemical Constituents from *Azadirachta indica* (Indian Neem) Against Delta and Omicron Variants of SARS-CoV-2 Coronaviruses Variants. *Future Pharmacology*, 3(5): 558-578. 10.2174/2666796703666220827100054
- Begum, H., Asad, F., Sadiq, A., Mulk, S., Ali, K. 2019. Antioxidant, Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of the Seeds Extract of *Cucumis sativus* Linn. *Pure Application Biol*, 8(1): 433–441. 10.19045/bspab.2018.700202
- Benchaachoua, A., Bessam., H., Saidi, I. 2018. Effects of Different Extraction Methods and Solvents on the Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Silybum Marianum Leaves Extracts. *International Journal of Medical Science Clinical Invention*, 5(3): 3641-3647. <https://doi.org/10.18535/ijmsci/v5i3.16>
- Bhatti, J., Sehrawat A., Mishra, I., Sidhu, U., Navik, N., Kumar, S., Bhatti, P. 2022. Oxidative Stress in the Pathophysiology of Type 2 and Related Complications: Current Therapeutics Strategies and Future Perspectives. *Free Radical Biology and Medicine*, 184(2022): 114-134. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.03.019>

- Bibi, A., Shah, T., Sadiq, A., Khalid, N., Ullah, F., and Iqbal, A. (2019). L-Isoleucine Catalyzed Michael Synthesis of N-alkyl Succinimide Derivatives and Their Antioxidant Activity Assessment. *Russian Journal of Organic Chemistry*, 55(11): 1749–1754. 10.1134/S1070428019110174
- Carmen X., Jose B., Carlos E., Trinidad R.T. 2019. Providing Added Value to Local Uses of Paparahua (*Artocarpus attilis*) in Amazonian Ecuador by Phytochemical Data Review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 29(1): 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.09.008>
- Chitra, J., Khatana, S., & Vijayvergia, R. 2019. Bioactivity of Secondary Metabolites of Various Plants: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2): 494–504. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10\(2\).494-504](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.10(2).494-504)
- Daley, O., Laura, B., Angela, T. 2020. Morphological Diversity of Breadfruit (*Artocarpus Altilis*) in the Caribbean. *Scientia Horticulturae*. 266(2020): 109278. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109278>
- Duraisamy, A., Arockia, D., Amutha, R., Sukumar, R., Anbarasu, K., Senthilkumar, B. 2024. *In silico* and *in vitro* analysis of Bioactive Compounds Extracted from *Ocimum basilicum* Against Vancomycin-resistant Enterococci. *Chemical Physics Impact*, 8(2024): 100499. <https://doi.org/10.1016/j.chphi.2024.100499>
- Dyah R., Fitriani F., Yulia Y., Risfah, Y. 2020. Breadfruit Leaves Extract (*Artocarpus Altilis*) Effect on Pancreatic Damage in Diabetic Type II Animal Model Induced by Alloxan-Nicotinamide. *Medicina Clinica Practica*, 3(1): 100099. <https://doi.org/10.1016/j.mcpsp.2020.100099>
- Faiza, A., Amani, T., Sarra, B., Tahani, Y., Asma, A., Ahlam, A., Khaled, H. 2024. Antiobesity and Antidiabetes Effects of *Cyperus rotundus* Rhizomes Presenting Protein Tyrosine Phosphatase, Dipeptidyl Peptidase 4, Metabolic Enzymes, Stress Oxidant and Inflammation Inhibitory Potential. *Heliyon*, 10(2024): e27598. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27598>
- Fatikhurokhmah, H., Rudiana, A. 2022. Concentration Effect of Brotowali Stem (*Tinospora Crispa* (L.)) in Ethanol Extracts on the α -Glucosydase Enzyme Inhibition. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(3): 2252-6951. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Fitri, A., Parbuntari, H., Iryani., Ikhwan, R.S., Sherly, R., Andini, N.R., Ananda, S. 2024. Phytoconstituents of *Terminalia catappa* Linn Fruits Extract Exhibit Promising Antidiabetic Activities Against α -Amylase and α -Glucosidase *In Vitro* and *In Silico*. *Informatics in Medicine Unlocked*, 47(2024): 101509. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2024.101509>.
- Fitrya., Annisa, A., Rennie P., Rachel G., Sherly V., Adelya A. 2023. The Diuretic Effect of Ethyl Acetate Fractions of *Artocarpus attilis*, *Artocarpus champeden*, and *Artocarpus heterophyllus* Leaves in Normotensive Wistar Rats. *Journal of*

Ayurveda and Integrative Medicine, 14(4): 100746
<https://doi.org/10.1016/j.jaim.2023.100746>

- Gbore, D., Zakari, S., Lukman, Y. 2023. In Silico Studies of Bioactive Compounds from *Alpinia officinarum* as Inhibitors of Zika Virus Protease. *Informatics in Medicine Unlocked*, 38(2023): 101214 <https://doi.org/10.1016/j.imu.2023.101214>
- Gong, X., Li, X., Bo, A., Shi, RY., Li, Q., Lei, J., Zhang, L., Li, H. 2020. The Interactions between Gut Microbiota and Bioactive Ingredients of Traditional Chinese Medicines: A Review. *Pharmacological Research*, 157(1): 104824. [10.1016/j.phrs.2020.104824](https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104824).
- Husni, A., Sulistyono, R., Rahma, S., Nugraheni, P., Budhiyanti, S. 2020. *In Vitro* Antidiabetic Activity of *Sargassum hystrix* Extract and Its Ethyl Acetate Fractions. *Systematic Reviews in Pharmacy Academic Journal*, 11(12). P-859. ISSN: 0975-8453
- Hussain, F., Khan, Z., Jan, M. S., Ahmad, S., Ahmad, A., Rashid, U. 2019. Synthesis, *In-Vitro* α -Glucosidase Inhibition, Antioxidant, *In-Vivo* Antidiabetic and Molecular Docking Studies of Pyrrolidine-2, 5-Dione and Thiazolidine-2, 4-Dione Derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 91(1):103128. [10.1016/j.bioorg.2019.103128](https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103128)
- Idm'hand, E., Msanda, F., Cherifi, K. 2020. Ethnopharmacological Review of Medicinal Plants Used to Manage Diabetes in Morocco. *Clinical Phytoscience*, 6(1):1-32. <https://doi.org/10.1186/s40816-020-00166-z>
- Iskandar, D. 2020. Aplikasi Uji Skrining Fitokimia Terhadap Daun *Uncaria tomentosa* Sebagai Bahan Utama Dalam Pembuatan Teh. *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 12(2): 153-158. <https://doi.org/10.34151/technoscientia.v12i2.2659>
- Jiang, X., Cai, W., Jun, Z., Pei, X., Xue, Y., Qian, W. 2023. Effects of Different Extraction Methods on Physicochemical Characteristics and Bioactivities of Fig (*Ficus carica* L.) Leaves Polysaccharides. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(12): 1878-5352. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.105319>
- Kaur, J., Humaira, F., Kailash, C., Bibhu, P. 2024. Predicting the Bioactive Compounds of *Lentinula edodes* and Elucidating Its Interaction with Genes Associated to Obesity Through Network Pharmacology and *In-Vitro* Cell-Based Assay. *Heliyon*, 10(5): e27363. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27363>
- Khan, B., Hamdani, N., Ahmed, S., Ashfaq, A., Shawky, M., Ibrahim, P., Sidhom, A. 2022. Synthesis, X-ray Diffraction Analysis, Quantum Chemical Studies and α -Amylase Inhibition of Probenecid Derived S-Alkylphthalimide-Oxadiazole-Benzenesulfonamide Hybrids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1): 1464-1478. [10.1080/14756366.2022.2078969](https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2078969)
- Khan, B., Hamdani, S., Khalid, M., Ashfaq, K., Munawar, M., Tahir, A., Braga, A., Shawky, A., Alqahtani, M., Abourehab, G., Ibrahim, P., Sidhom. 2023. Exploring Probenecid Derived 1,3,4-Oxadiazole-Phthalimide Hybrid as α -Amylase Inhibitor. *Synthesis*,

- Structural Investigation and Molecular Modeling Pharmaceuticals*, 16(3): 424.
<https://doi.org/10.3390/ph16030424>
- Klara, I., Rini, M., Pudji, A. 2023. *In Silico* Analysis of Secang Wood (*Caesalpinia sappan* L.) Flavonoid Compounds on α -Amylase Receptors as Antihyperglycemic. *Acta Veterinaria Indonesiana*, 11(3). Pp. 210-219.
<http://www.journal.ipb.ac.id/indeks.php/actavetindones>
- Kustiati, U., Hevi, W., Dwi, L. 2022. Dataset of Phytochemical and Secondary Metabolite Profiling of Holy Basil Leaf (*Ocimum sanctum* L.) Ethanolic Extract Using Spectrophotometry, Thin Layer Chromatography, Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance. *Data in Brief*, 40(2022): 10774.
<https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107774>
- Lismiyati, L., Lestari, U., Syamsurizal, S. 2021. Uji Sifat Fisikokimia Sediaan Sunscreen Fraksionat Ekstrak Diklorometan Kulit Buah *Artocarpus altilis*. *Jurnal Farmasetis*, 10(2): 123–134. <https://doi.org/10.32583/farmasetis.v10i2.1786>
- Mainasara, M., Abu Bakar, M., Barau, A. 2019. GC-MS Analysis of Phytochemical Constituents from Ethyl Acetate and Methanol Extract of *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg from Endau Rompin, Johor, Malaysia. *Path of Science*, 5(5): 3001–3010. <https://doi.org/10.22178/pos.46-2>
- Marjoni, R., Sidik, F., Ovisa, F., Sukma, Y. 2018. Extraction of Antioxidants from Fruit Peel of *Artocarpus altilis*. *International Journal of Green Pharmacy*, 12(1), S284–S289. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v12i01.1635>
- Mera, G., Falconí, G., Córdova, M. 2019. Secondary Metabolites in Plants: Main Classes, Phytochemical Analysis and Pharmacological Activities. *Bionatura*, 4(4): 1000-1009. <https://doi.org/10.21931/RB/2019.04.04.11>
- Mousavi, L., Rabeta, M., Vikneswaran, M. 2020. Antidiabetic and *In Vitro* Enzyme Inhibition Studies of Methanol Extract of *Ocimum tenuiflorum* L. Leaves and Its Fractions. *Tropical Life Sciences Research*, 31(1): 141-158.
<https://doi.org/10.21315/tlsr2020.31.1.9>
- Nabil, M., Iman A., Neveen, S., May, A., Ahmed, F., Farouk, R., Mona A. 2024. Anti-diabetic Potential of *Chamaerops humilis* L. aerial parts: Phenolic compounds with α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Activates *In-Vitro*, *In-Vivo* and *In-Silico* studies. *Journal of Molecular Structure*, 1312(1): 138550.
<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.138550>
- Nursamsiar., Maya, M., Akbar, A., Syamsu, N., Aiyi, A. 2020. *In Silico* Study of Aglycon *curculigoside* and Its Derivatives as α -Amilase Inhibitors. *Current Biochemisrty*, 7(1): 73-87. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v7i1.23062>
- Oloruntola, O., Ayodele, S., Adeyeye, S., Fasuhami, O., Osowe, C., Ganiyu, T. 2022. Proximate Composition, Phytochemical Profile, Antioxidant, Antidiabetic and Anti-

Inflammatory Properties of *Justicia carnea* Leaf Powder. *Black Sea Journal of Agriculture*, 5(4): 415-423. doi: 10.47115/bsagriculture.1145262

Organization WH. Global Report on Diabetes. 2023. World Health Organization.

Patil, S., Umesh, B., Shambala, G., Amith, G., Santosh, K. 2023. Optimization Studies on Batch Extraction of Phenolic Compounds from *Azadirachta indica* Using Genetic Algorithm and Machine Learning Techniques. *Journal Pre-Proof Heliyon*, 9(11): e21991. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21991>

Pereira, S., Breno, P., Laura S. 2024. Influence of Sample Preparation Methods on FTIR Spectra for Taxonomic Identification of Tropical Trees in the Atlantic Forest. *Heliyon*, 10(5): e27232. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e27232>

Puspita, P., Ni, P., Laksmi, A. 2022. *In Silico* Analysis of Active Compounds of Avocado Fruit (*Persea americana* Mill.) as Tyrosinase Enzyme Inhibitors. *Current Biochemistry*, 9(2): 73-87. <http://journal.ipb.ac.id/index.php/cbj>

Rahim, H., Sadiq, A., Khan, S., Amin, F., Ullah, R., Shahat, A. 2019. Fabrication and Characterization of Glimepiride Nanosuspension by Ultrasonication Assisted Precipitation for Improvement of Oral Bioavailability and *In Vitro* α -Glucosidase Inhibition. *International Journal of Nanomedicine*, 6(14): 6287-6296. <https://doi.org/10.2147/IJN.S210548>

Rahman, M., Puja, S., Sumaia., Anika, F. 2022. Exploring the Plant-Derived Bioactive Substances as Antidiabetic Agent: An Extensive Review. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 152(2022): 113217. 10.1016/j.biopha.2022.113217

Sajid, M., Khan, M., Ismail, H., Rahim, A., Mehboob, R., Shah, S. 2020. Antidiabetic and Antioxidant Potential of *Alnus nitida* leaves in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 251(1): 112544. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112544>

Selina, H., Sascha, K., Lea, W., Markus, R. 2024. Impact of Four Different Extraction Methods and Three Different Reconstitution Solvents on the Untargeted Metabolomics Analysis of Human and Rat Urine Samples. *Journal of Chromatography*, 1725(21): 464930. 10.1016/j.chroma.2024.464930

Shamsudin, N., Qamar, U., Syed, M., Syed, A., Murni, N., Muhammad, M., Alfi, K. 2022. Flavonoids as Antidiabetic and Anti-Inflammatory Agents: A Review on Structural Activity Relationship-Based Studies and Meta-Analysis. *International Journal of Molecules Sciences*, 23(20): 12605. 10.3390/ijms232012605

Sidik, F., & Mambang, D. 2021. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Metanol Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Farmasi, Sains dan Kesehatan*, 1(1): 38–46. <https://doi.org/10.32696/fjfsk.v1i1.815>

- Silva, C., Narain, N. 2021. Physicochemical Characterization and Bioactive Compounds in Breadfruit (*Artocarpus altilis*) and Its Dried Products. *Research, Society and Development*, 10(15): e537101523391. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i15.23391>
- Skendi, A., Bouloumpasi, E., Chatzopoulou, P., Biliaderis, C., Irakli, M., 2023. Comparison of Drying Methods for the Retention of Phenolic Antioxidants in Post-Distillation Solid Residues of Aromatic Plants. *Food Science and Technology*, 189(1): 115463. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115463>.
- Soifoini, T., Donno, D., Jeannoda, V., Rakoto, D., Msahazi, A., Farhat, S., Oulam, M., Beccaro, G. 2021. Phytochemical Composition, Antibacterial Activity and Antioxidant Properties of the *Artocarpus altilis* Fruits to Promote Their Consumption in the Comoros Islands as Potential Health-Promoting Food or a Source of Bioactive Molecules for the Food Industry. *Foods*, 10(9): 2136. <https://doi.org/10.3390/foods10092136>
- Sulvi, P., Fadly, D., Sholahuddin, Saputri, N., Wijanarti, S. 2022. Antioxidant Activity from Multiple Extraction of Kratom Leaf (*Mitragyna speciosa*) without Veins with Sonicator-Type Bath. *Journal of Health and Nutrition Research*, 1(3): 178-184. <https://doi.org/10.56303/jhnresearch.v1i3.82>
- Sun, L., Wang, Y., Miao, M. 2020. Inhibition of α -Amylase by Polyphenolic Compounds: Substrate Digestion, Binding Interactions and Nutritional Intervention. *Trends in Food Science & Technology*, 104(1): 190-207. [10.1016/j.tifs.2020.08.0037](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.0037)
- Suresh, P., Prithvi, P., Yogendra, S., Upendra, S. 2021. Steroidal Saponins from *Trillium govanianum* as α -Amylase, α -Glucosidase and Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitory Agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 73(4): 487-496. [10.1093/jpp/rgaa038](https://doi.org/10.1093/jpp/rgaa038)
- Taslimi, P., Gulcin, I. 2017. Antidiabetic Potential: *In Vitro* Inhibition Effects of Some Natural Phenolic Compounds on α -Glycosidase and α -Amylase Enzymes. *Journal Biochemical Molecular Toxicology*, 31(10): e21956. [10.1002/jbt.21956](https://doi.org/10.1002/jbt.21956)
- Vasudha K., Archana D., Mutyalamma B., Kishori B. 2019. Phytochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Root and Leaf Extracts of *Leucas aspera*. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, 12(1): 141–147. [10.22159/ajpcr.2019.v12i3.29085](https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i3.29085)
- Wibowo, A., & Fitrianiingsih, S. 2017. Evaluasi Potensi Aktivitas Antioksidan Alami dan Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Etanol Kulit Buah Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson Fosberg) secara *In Vitro*. *Prosiding Farmasi*, 3(1): 6–13. <http://dx.doi.org/10.29313/.v0i0.5809>
- Widyawati, T., Rony, A., Siti, S., Imam, B. 2023. Analysis of Antidiabetic Activity of Squalene Via *In Silico* and *In Vivo* Assay. *Molecules*, 28(9): 3783. <https://doi.org/10.3390/molecules28093783>

- Yikna, B., Awgichew, S. 2021. Medicinal Plant Extracts Evaluated *In Vitro* and *In Vivo* for Antidiabetic Activities in Ethiopia: Bases for Future Clinical Trials and Related Investigations. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1): 91808499. <https://doi.org/10.1155/2021/9108499>
- Yunitasari, N., Respat, T., Harno, D., Tri, J. 2022. Phytochemical Screening and Metabolomic Approach Based on Fourier Transform Infrared (FTIR): Identification of α -Amylase Inhibitor Metabolites in *Vernonia amygdalina* Leaves. *Journal of Saudi Chemical Society*, 26(6): 101540. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101540>
- Yusantri. 2017. Aktivitas Antimalaria Ekstrak Kulit Buah Sukun (*Artocarpus Altilis*) Terhadap Plasmodium Berghei Secara Ex Vivo. *Tesis Tidak Diterbitkan*, Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.