



BIMFI

ISSN: 2302-7851



BERKALA
ILMIAH
MAHASISWA
FARMASI
INDONESIA

BIMFI

INDONESIAN PHARMACY STUDENT JOURNAL



Susunan Pengurus

Penyunting

Dr. apt. Hadi Kuncoro, S.Farm.,
M.Farm. *Universitas Mulawarman*

Penanggung Jawab

ISMAFARSI

Pimpinan Umum

Syafura Az-Zahra *Universitas Indonesia*

Wakil Pimpinan Umum

Annisa Nur Rahmadhani
Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

Pimpinan Redaksi

Sekar Arum Ayu Firsanti
Universitas Diponegoro

Sekretaris

Nasal Auni Rabbina *Universitas Indonesia*
Uluma Sani Lathifa *Universitas Gadjah Mada*

Bendahara

Botefilia Maharani *Universitas Indonesia*
Visca Nevianda *Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka*

Mitra Bestari

Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si.
Universitas Indonesia
Prof. Dr. apt. Jutti Levita, S.Farm.,
M.Si. *Universitas Padjajaran*
Dr. apt. Niken Indriyanti, S.Farm.,
M.Si. *Universitas Mulawarman*
Dr. Prima Endang Susilowati, M.Si
Universitas Halu Oleo
Dr. apt. Raditya Iswandana,
M.farm. *Universitas Indonesia*
apt. Roshamur Cahyan Forestrania,
M.Sc., Ph.D. *Universitas Indonesia*
Prof. apt. Dr. Satibi, M.Si. *Universitas Gadjah Mada*
Prof. Dr. Sahidin, M.Si *Universitas Halu Oleo*
Ari Sartinah, S.Si., M.Sc *Universitas Halu Oleo*

Dewan Redaksi

Galuh Zhafirah Rahmita *Universitas Indonesia*

Dannisya Alzura *Universitas Indonesia*

Andhini Fajriaty *Universitas Lambung Mangkurat*

Emmanuela Stefany Sugiarto
Institut Teknologi Bandung

Lika Ginanti Febriana *Universitas Padjajaran*

Adinda Niki *Universitas Padjajaran*

PSDM dan LITBANG

Karina Wan Azizah
Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

Yola Yuwananda *Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka*

Yasmin Zulfah *Universitas Airlangga*

Suci Hasani *Universitas Andalas*

Noer Luthfianeu Edsyah *Universitas Indonesia*

Fathia Yusrina *Universitas Indonesia*

Humas dan Promosi

Chrispinus Lingga Chondro Saputro
Universitas Sanata Dharma

Dinda Galuh Margaretnasari *Universitas Mulawarman*

Abdul Fattah Farid *Universitas Airlangga*

Nur Hidayah Saputri *Universitas Mandala Waluya Kendari*

Muhammad Riyadz Aqsha *Universitas Perintis Indonesia*

Axl L L Windah *Universitas Sam Ratulangi*

Tata Letak dan Layout

Nahdiya Rahmah *Universitas Lambung Mangkurat*

Nahdha *Universitas Lambung Mangkurat*

Anita Nur Azizah *Universitas Lambung Mangkurat*

Mega Silviana *Universitas Sumatera Utara*

Denisa Alike Masyhud *Universitas Indonesia*

Caroline Lieanto *Universitas Gadjah Mada*

Susunan Pengurus	ii
Daftar Isi	iii
Pedoman Penulisan	iv
Setitik Ilmu	x
Sambutan Pemimpin Umum	xi

Penelitian

IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR SENYAWA KUININ FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG KINA (<i>Cinchona succirubra</i> Pav. Ex Klotzsch) SECARA KLT-DENSITOMETERI <i>Gede Sugiartha Giri</i>	1
OPTIMASI KOMBINASI NATRIUM ALGINAT DAN KALSIUM KLORIDA (CaCl ₂) SEBAGAI AGEN SAMBUNG SILANG NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (<i>Sauropus androgynus</i> (L.) Merr) <i>Akhmad Ngafif, Endang Diyah Ikasari, dan Lilies Wahyu Ariani</i>	13
STUDI PENAMBATAN MOLEKULER DAN PREDIKSI ADMET SENYAWA BIOAKTIF BEBERAPA JAMU INDONESIA TERHADAP SARS-COV-2 MAIN PROTEASE (M ^{PRO}) <i>Sheniez Adhitya Yasin, Alya Azzahra, Norman Emil Ramadhan, Vega Mylanda</i>	24

Tinjauan Pustaka

POTENSI BERBAGAI TUMBUHAN OBAT TRADISIONAL DI ASIA DENGAN AKTIVITAS ANTIASMA <i>Nabila Nayif Nur Akmalia, Shofia Siza Maulidia</i>	42
POTENSI ANTIDIABETES MELITUS SENYAWA FLAVONOID KULIT JERUK: SEBUAH REVIEW MENGENAI MEKANISME <i>Donny Risnanda H., Cahaya Azzahra R., Septia Nurmala, Arry Yanuar</i>	58

Petunjuk Penulisan

Pedoman Penulisan Artikel Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)

Scientific Journal of Indonesian Pharmacy Students

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) adalah publikasi tiap enam bulanan yang menggunakan sistem seleksi *peer-review* dan redaktur. Naskah diterima oleh redaksi, mendapat seleksi validitas oleh *peer-reviewer*, serta seleksi dan pengeditan oleh redaktur. BIMFI menerima artikel penelitian asli yang berhubungan dengan kelompok bidang ilmu farmakologi, farmasetika, teknologi sediaan farmasi, farmakognosi, fitokimia, kimia farmasi, bioteknologi farmasi, artikel tinjauan pustaka, laporan kasus, artikel penyegar ilmu kedokteran dan kesehatan, advertorial, petunjuk praktis, serta editorial. Tulisan merupakan tulisan asli (bukan plagiat) dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa farmasi.

Kriteria artikel

- 1. Penelitian asli:** hasil penelitian asli dalam ilmu farmasi, kesehatan masyarakat, dan ilmu dasar farmasi. Format terdiri dari judul penelitian, nama dan lembaga pengarang, abstrak, dan teks (pendahuluan, metode, hasil, pembahasan/diskusi, kesimpulan, dan saran).
- 2. Tinjauan pustaka:** tulisan artikel *review*/sebuah tinjauan terhadap suatu fenomena atau ilmu dalam dunia farmasi, ditulis dengan memperhatikan aspek aktual dan bermanfaat bagi pembaca.
- 3. Laporan kasus:** artikel tentang kasus yang menarik dan bermanfaat bagi pembaca. Artikel ini ditulis sesuai pemeriksaan, analisis, dan penatalaksanaan sesuai kompetensi farmasi. Format terdiri dari pendahuluan, laporan, pembahasan, dan kesimpulan.
- 4. Artikel penyegar ilmu farmasi:** artikel yang bersifat bebas ilmiah, mengangkat topik-topik yang sangat menarik dalam dunia farmasi atau kesehatan, memberikan *human interest* karena sifat keilmiahannya, serta ditulis secara baik. Artikel bersifat tinjauan serta mengingatkan pada hal-hal dasar atau farmasi yang perlu diketahui oleh pembaca.
- 5. Editorial:** artikel yang membahas berbagai hal dalam dunia farmasi dan kesehatan, mulai dari ilmu dasar farmasi, berbagai metode terbaru, organisasi, penelitian, penulisan di bidang farmasi, lapangan kerja sampai karir dalam dunia farmasi. Artikel ditulis sesuai kompetensi mahasiswa farmasi.

6. **Petunjuk praktis:** artikel berisi panduan analisis atau tatalaksana yang ditulis secara tajam, bersifat langsung (*to the point*) dan penting diketahui oleh pembaca (mahasiswa farmasi).
7. **Advertorial:** artikel singkat mengenai obat atau kombinasi obat terbaru, beserta penelitian, dan kesimpulannya. Penulisan berdasarkan metode studi pustaka.

Petunjuk Bagi Penulis

1. BIMFI hanya akan memuat tulisan asli yang belum pernah diterbitkan baik pada jurnal cetak maupun online
2. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia yang baik dan benar, jelas, lugas, serta ringkas. Naskah diketik di atas kertas A4 dengan 1.5 spasi, kecuali untuk abstrak 1 spasi. Ketikan tidak dibenarkan dibuat timbal balik. Ketikan diberi nomor halaman mulai dari halaman judul. Batas kiri, atas, bawah, dan kanan setiap halaman adalah 4 cm, 3 cm, 3 cm dan 3 cm.
3. Naskah harus diketik dengan komputer dan harus memakai program Microsoft Word. Naskah dikirimkan langsung ke web BIMFI yang telah bersistem OJS (*Open Journal System*). Lalu, penulis harus mengisi formulir yang berisi identitas dan mengunggah surat orisinalitas.
4. Untuk keseragaman penulisan, khusus naskah **Penelitian asli** harus mengikuti sistematika sebagai berikut:
 1. Judul karangan (Title)
 2. Nama dan Lembaga Pengarang (Authors and Institution)
 3. Abstrak (Abstract)
 4. Naskah (Text), yang terdiri atas:
 - Pendahuluan (Introduction)
 - Metode (Methods)
 - Hasil (Results)
 - Pembahasan (Discussion)
 - Kesimpulan
 - Saran
 5. Daftar Rujukan (Reference)

5. Untuk keseragaman penulisan, khusus naskah **Tinjauan pustaka** harus mengikuti sistematika sebagai berikut:

1. Judul
2. Nama penulis dan lembaga pengarang
3. Abstrak
4. Naskah (Text), yang terdiri atas:
 - Pendahuluan (termasuk masalah yang akan dibahas)
 - Pembahasan
 - Kesimpulan
 - Saran

5. Daftar Rujukan (Reference)

6. Judul ditulis dengan huruf besar, dan bila perlu dapat dilengkapi dengan anak judul. Naskah yang telah disajikan dalam pertemuan ilmiah nasional dibuat keterangan berupa catatan kaki.
7. Nama penulis yang dicantumkan paling banyak enam orang, dan bila lebih cukup diikuti dengan kata-kata: dkk atau *et al.* Nama penulis harus disertai dengan asal fakultas penulis. Alamat korespondensi ditulis lengkap dengan nomor telepon dan email.
8. Abstrak harus dibuat dalam bahasa Inggris serta bahasa Indonesia. Panjang abstrak tidak melebihi 200 kata dan diletakkan setelah judul makalah dan nama penulis.
9. Kata kunci (*key words*) yang menyertai abstrak ditulis dalam bahasa Inggris dan bahasa Indonesia. Kata kunci diletakkan di bawah judul setelah abstrak. Tidak lebih dari 5 kata, dan sebaiknya bukan merupakan pengulangan kata-kata dalam judul.
10. Kata asing yang belum diubah ke dalam bahasa Indonesia ditulis dengan huruf miring (*italic*).
11. Tabel
12. Gambar
13. Metode statistik
14. Ucapan terima kasih
15. Daftar rujukan disusun menurut sistem *Vancouver*, diberi nomor sesuai dengan pemunculan dalam keseluruhan teks, bukan menurut abjad. Contoh cara penulisan dapat dilihat

1. **Artikel dalam jurnal**

i. **Artikel standar**

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

atau

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Penulis lebih dari enam orang

Parkin Dm, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Freidl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br j Cancer* 1996;73:1006-12.

ii. **Suatu organisasi sebagai penulis**

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

iii. **Tanpa nama penulis**

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

iv. **Artikel tidak dalam bahasa Inggris**

Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. *Tidsskr Nor Laegeforen* 1996;116:41-2.

v. **Volum dengan suplemen**

Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. *Environ Health Perspect* 1994;102 Suppl 1:275-82.

vi. **Edisi dengan suplemen**

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women`s psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996;23(1 Suppl 2):89-97.

vii. **Volum dengan bagian**

Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 3):303-6.

viii. **Edisi dengan bagian**

Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap laceration of the leg in ageing patients. *N Z Med J* 1990;107(986 Pt 1):377-8.

ix. **Edisi tanpa volum**

Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop* 1995;(320):110-4.

x. **Tanpa edisi atau volum**

Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. *Curr Opin Gen Surg* 1993;3:25-33.

xi. **Nomor halaman dalam angka Romawi**

Fischer GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. *Hematol Oncol Clin North Am* 1995 Apr;9(2):xi-xii.

2. Buku dan monograf lain

i. Penulis perseorangan

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.

ii. Editor, sebagai penulis

Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.

iii. Organisasi dengan penulis

Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington: The Institute; 1992.

iv. Bab dalam buku

Philips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995.p.465-78.

v. Prosiding konferensi

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

vi. Makalah dalam konferensi

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical information. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

vii. Laporan ilmiah atau laporan teknis

1. Diterbitkan oleh badan penyandang dana/sponsor:

Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspection; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOEI69200860.

2. Diterbitkan oleh unit pelaksana

Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and education issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract no.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and research.

viii. **Disertasi**

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly/access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington univ.; 1995.

ix. **Artikel dalam Koran**

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21;Sect A:3 (col. 5).

x. **Materi audiovisual**

HIV + AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year book; 1995.

3. Materi elektronik

i. **Artikel journal dalam format elektronik**

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL: HYPERLINK <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

ii. **Monograf dalam format elektronik**

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

iii. **Arsip computer**

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)

Scientific Journal of Indonesian Pharmaceutical Students

Satu-satunya jurnal mahasiswa farmasi Indonesia

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) atau *Scientific Journal of Indonesian Pharmaceutical Students* merupakan berkala ilmiah yang diterbitkan oleh Ikatan Senat Mahasiswa Farmasi Seluruh Indonesia (ISMAFARSI) setiap enam bulan sekali.

Berkala ilmiah ini merupakan langkah awal ISMAFARSI dalam memenuhi kebutuhan mahasiswa farmasi akan jurnal ilmiah dan upaya pemetaan penelitian terkait ilmu kefarmasian di Indonesia. Maka dari itu, BIMFI berazaskan dari, oleh, dan untuk mahasiswa. Kriteria jenis tulisan yang tercantum dalam BIMFI adalah penelitian asli, tinjauan pustaka, laporan kasus, artikel penyegar, editorial, petunjuk praktis, dan advertorial yang dibuat oleh mahasiswa farmasi Indonesia. Karya ilmiah yang dipublikasikan merupakan artikel terbaik yang sudah menjalani tahap penyaringan dan penilaian. Hal tersebut didukung oleh sistem redaksional yang digunakan, yaitu seleksi oleh editor dan redaktur, serta penilaian oleh mitra bestari, yang ahli di bidangnya masing-masing.

Karya ilmiah yang dimuat dalam BIMFI terbagi dalam kelompok bidang ilmu, seperti Farmakologi, Farmakoterapi, Farmasetika, Teknologi Sediaan Farmasi, Farmakognosi, Fitokimia, Kimia Farmasi, Analisis Farmasi, Mikrobiologi Farmasi, dan Bioteknologi Farmasi. Karya yang dipublikasikan adalah tulisan asli (bukan plagiat) dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa farmasi.

Sebagai tahap awal penyebaran, BIMFI dalam bentuk cetak akan dibagikan ke beberapa Fakultas atau Prodi Farmasi di Indonesia. Pada tahap selanjutnya, BIMFI akan dibagikan ke seluruh Fakultas atau Prodi Farmasi, Asosiasi Institusi Farmasi, Organisasi Profesi Farmasi, dan beberapa perpustakaan di Indonesia untuk menjamin penyampaian informasi kepada para mahasiswa farmasi Indonesia. Dengan demikian, BIMFI diharapkan dapat memenuhi kebutuhan mahasiswa farmasi akan informasi ilmu kefarmasian.

Sambutan Pemimpin Umum

Salam dari Pimpinan Umum,

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga *e-journal* Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) Volume 7 No.2 tahun 2020 dapat dipublikasikan. *E-journal* BIMFI Volume 7 No.2 ini berisi naskah-naskah penelitian dan artikel ilmiah karya mahasiswa/i farmasi Indonesia yang telah ditelaah oleh para mitra bestari dan disunting oleh dewan penyunting.

Saya mengucapkan terima kasih kepada Dr. apt. Hadi Kuncoro, S.Farm., M.Farm. (Universitas Mulawarman) selaku dewan penyunting. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada Prof. Dr. apt. Berna Elya, M.Si. (Universitas Indonesia), Prof. Dr. apt. Jutti Levita, S.Farm., M.Si. (Universitas Padjajaran), Dr. apt. Niken Indriyanti, S.Farm., M.Si. (Universitas Mulawarman), Dr. Prima Endang Susilowati, M.Si (Univeristas Halu Oleo), Dr. apt. Raditya Iswandana, M.farm. (Universitas Indonesia), apt. Roshamur Cahyan Forestrania, M.Sc., Ph.D. (Universitas Indonesia), Prof. Dr. apt. Satibi, M.Si. (Universitas Gajah Mada), Prof. Dr. Sahidin, M.Si (Universitas Halu Oleo), dan Ari Sartinah, S.Si., M.Sc (Universitas Halu Oleo) selaku mitra bestari.

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada seluruh pengurus BIMFI 2020—2022 yang terdiri atas tim redaksi, tim tata letak dan layout, tim humas dan promosi, tim PSDM dan litbang, serta divisi sekretaris dan bendahara yang telah memberikan kontribusi terbaik agar *e-journal* ini dapat terbit tepat waktu. Ucapan terimakasih pula saya sampaikan kepada Widia Tri Utami selaku Staff Ahli PSE Ismafarsi dan Damas Raja Alvinu Fajri selaku Sekretaris Jendral Ismafarsi beserta jajarannya yang telah memberikan dukungan morel maupun materiel terhadap *e-journal* BIMFI. Semoga *e-journal* ini dapat memberi kebermanfaatan di bidang ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian.

#BIMFI2020-2022

#Goforthwrite

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Syafura Az-Zahra

IDENTIFIKASI DAN PENETAPAN KADAR SENYAWA KUININ FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG KINA (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) SECARA KLT-DENSITOMETRI

Gede Sugiarta Giri

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bali, Indonesia
Corresponding author's email : gedesugiartagiri27@gmail.com

ABSTRAK

Alkaloid kuinin terdapat pada tanaman kina yang menjadi bahan baku untuk pembuatan obat pil kina yang berkhasiat dalam pengobatan penyakit malaria. Pemilihan metode, pelarut, teknik identifikasi dan karakterisasi senyawa alkaloid kina di dalam tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan senyawa dengan pemisahan terbaik. Ekstraksi dengan metode maserasi, identifikasi golongan dengan metode *screening* fitokimia. Fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi kolom lambat. Isolasi dengan metode kromatografi preparatif dan metode KLT-Densitometri. Ekstraksi maserasi didapat hasil filtrat dengan warna coklat kemerahan. Skrining fitokimia hasil positif golongan triterpenoid dan alkaloid. Ekstraksi cair-cair didapat hasil fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II. KLT dan identifikasi pereaksi kimia hasil positif mengandung kuinin pada fraksi etil asetat II. Kromatografi kolom didapat hasil berupa 4 fraksinasi dengan warna yang berbeda-beda. Kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dan isolasi senyawa dengan KLT-Densitometri didapat hasil kadar kuinin rata-rata fraksi etil asetat yaitu 15,30%. Fraksi etil asetat kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) menghasilkan kadar rata-rata kuinin sebesar 15,30% sesuai dengan tanaman kina yang dibudidayakan yang mengandung alkaloid kuinin sampai 15%.

Kata Kunci: Kuinin, fraksi, *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch, KLT-Densitometri

ABSTRACT

Alkaloids quinine is found in the quinine plant which is the raw material for the manufacture of quinine pills that are effective in the treatment of malaria. Selection of the method, solvent, identification technique and characterization of the alkaloid quinine compound in the quinine plant (Cinchona succirubra Pav. Ex Klotzsch) need to be done in an effort to produce the compound with the best separation. Extraction by maceration method, identification of groups using phytochemical screening methods. Fractionation using liquid-liquid extraction method and column chromatography. Isolation using preparative chromatography method and TLC-Densitometry method. Maceration extraction obtained the filtrate with a reddish brown color. Phytochemical screening was positive for triterpenoids and alkaloids. Liquid-liquid extraction resulted in the water fraction, ethyl acetate fraction I, and ethyl acetate fraction II. TLC and identification of positive chemical reactions containing quinine in ethyl acetate fraction II. Column chromatography obtained results in the form of 4 fractionations with different colors. Preparative chromatography and compound isolation by TLC-Densitometry showed the average quinine content of ethyl acetate fraction was 15.30%. The ethyl acetate fraction of quinine stem bark (Cinchona succirubra Pav. Ex Klotzsch) produced average quinine alkaloids of 15.30% according to the cultivated kina plant which contains up to 15% quinine alkaloids.

Keywords: Quinine, fraction, *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch, TLC-Densitometry

1. PENDAHULUAN

Tanaman merupakan salah satu sumber bahan obat. Pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku obat mulai sering digunakan terkait dengan berbagai macam metabolit sekunder yang dapat dihasilkan oleh tanaman. Metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup tanaman terhadap kondisi lingkungan dan juga merupakan zat bioaktif yang berkaitan dengan kandungan kimia dalam tumbuhan. Setiap tumbuhan memiliki metabolit sekunder yang bervariasi dan dalam jumlah yang berbeda antar tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam tanaman antara lain: alkaloid, steroid, terpenoid, dan flavonoid.

Tanaman Kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) memiliki aktivitas sebagai anti malaria, anti piretik serta stomakik (obat sakit perut). Kandungan kimia kina berupa alkaloid dengan kadar tidak kurang dari 7% yang dihitung sebagai kuinin. Bagian tanaman yang banyak digunakan adalah kulit batangnya^[1]. Alkaloid yang terdapat pada tanaman kina, salah satunya adalah alkaloid kuinin yang menjadi bahan baku untuk pembuatan obat pil kina yang berkhasiat dalam pengobatan penyakit malaria baik malaria tropikana maupun penyakit malaria kuartana^[2].

Kuinin dapat digunakan sebagai obat malaria dikarenakan memiliki efektivitas

yang baik terhadap semua jenis plasmodium dan efektif sebagai sizontosida maupun gametosida^[3]. Selain kandungan kuinin, dalam kulit batang kina juga terdapat berbagai senyawa kimia lainnya, yakni kinidin, sinkonin, dan sinkonidin^[4].

Pemanfaatan alkaloid kina, seperti dalam dunia industri diawali dengan proses isolasi senyawa alkaloid kina dilakukan dari kulit tanaman kina untuk mendapatkan alkaloid yang diinginkan. Kandungan tanaman kina yang bervariasi menyebabkan diperlukannya metode untuk mengekstraksi kuinin dengan menggunakan beberapa pelarut-pelarut senyawa kimia yang cocok dan diperlukan pula teknik identifikasi dan karakterisasi senyawa alkaloid kina di dalam tanaman kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch). Metode isolasi, identifikasi dan karakterisasi yang tepat menjadi acuan dalam isolasi kuinin lebih lanjut, seperti dalam proses produksi dengan skala yang lebih besar^[5]. Dengan demikian, dapat diperoleh senyawa murni dengan efek farmakologi yang diinginkan. Berbagai macam cara dapat dilakukan untuk mengisolasi senyawa. Pemisahan bertahap dengan berbagai metode perlu dilakukan dalam upaya menghasilkan senyawa dengan pemisahan terbaik.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi, Gedung AI, Program

Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana. Waktu pelaksanaan dilakukan pada bulan September hingga Desember 2019.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan analitik (*Mettler Toledo*), alat-alat gelas (*Pyrex Iwaki Glass*), chamber KLT (*Macherey Nagel*), kolom, statif, plat KLT silica gel GF254, TLC-Scanner/ Densitometer (*CAMAG*).

Bahan yang digunakan yaitu serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch), n-heksana, metanol, etil asetat, kloroform, standar kuinin, gelas wol, aquadest, dan serbuk silika.

2.3 Defatting dan Ekstraksi

Sampel berupa serbuk kulit batang kina sebanyak 25 gram di *defatting* menggunakan 100 mL n-heksana diaduk selama 10 menit, disaring dan diperoleh filtrat. Ampas hasil *defatting* dimaserasi menggunakan 62 mL metanol selama 24 jam, disaring, dan diperoleh filtrat, ampas kemudian diremaserasi kembali dengan 62 mL metanol selama 24 jam, disaring dan diperoleh filtrat. Filtrat yang didapat kemudian diupakan pelarutnya dengan oven selama 3 hari dengan suhu 40°C.

2.4 Skrining Fitokimia

Ekstrak metanol kulit batang kina ditimbang 10 gram dan dilarutkan dengan 10 mL metanol sebagai larutan uji. Uji flavonoid digunakan asam borat,

asam oksalat dan eter, hasil positif larutan berfluoresensi biru di sinar UV 366 nm. Uji triterpenoid digunakan asam asetat anhidrat dan asam sulfat, hasil positif terbentuk cincin kecokelatan atau violet pada batas larutan. Uji saponin digunakan air hangat dan asam klorida, hasil positif busa tidak hilang. Uji alkaloid digunakan asam klorida dan pereaksi Mayer dan Dragendroff, hasil positif Mayer endapan berwarna jingga sedangkan Dragendroff endapan kuning.

2.5 Ekstraksi Cair-Cair

Sebanyak 620 mg ekstrak metanol kulit batang kina ditambahkan 10 mL asam sulfat 10% b/v, dipartisi dengan 20 mL etil asetat, ditambahkan 10 mL amonia cair dan ditampung kedua fase hingga diperoleh fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi diupakan dalam oven suhu 40°C.

2.6 Identifikasi Alkaloid Kuinin

Dielusi plat yang sudah ditotolkan semua fraksi sebanyak 6 µL dan standar kuinin 4 µL dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silica gel GF 254. Ditandai bercak positif mengandung kuinin pada kertas kalkir selanjutnya plat disemprot dengan asam sulfat 10%, dideteksi di UV 366 nm dan ditanda bercak yang mendandung kuinin pada kertas kalkir serta dihitung Rf dan hRf.

2.7 Kromatografi Kolom Lambat

Fraksi etil asetat yang positif mengandung kuinin dielusi dengan campuran kloroform:metanol (9:1) dengan 4 replikasi hingga didapat fraksi yang terpisah.

2.8 KLT Hasil Fraksinasi

Fraksi hasil fraksinasi kolom lambat dan standar kuinin ditotolkan pada plat dan dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254 dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dan disemprot plat dengan asam sulfat 10% serta ditandai spot yang diduga kuinin dan dihitung Rf dan hRf.

2.9 Kromatografi Lapis Tipis Preparatif

Larutan uji fraksinasi dan standar kuinin ditotolkan bentuk pita. Dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254. Diamati di UV 254 nm dan 366 nm, dipotong plat 2 cm dari batas yang mengandung kuinin dan disemprot dengan asam sulfat 10%, diamati kembali di UV 254 nm dan 366 nm dan ditandai bercak yang mengandung kuinin dan dikerok silika plat KLT kemudian diekstraksi dengan 1 mL metanol dan didiamkan selama 1 malam, disaring.

2.10 KLT Hasil Fraksinasi

Fraksi etil asetat dan standar kuinin ditotolkan sebanyak 6 µL, dielusi dengan fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254, disemprot plat dengan asam sulfat 10%,

dideteksi di UV 254 nm dan 366 nm. Ditandai spot yang mengandung kuinin dan dihitung Rf dan hRf.

2.11 Identifikasi KLT-Densitometri

Fraksi etil asetat yang positif mengandung kuinin dan standar ditotolkan sebanyak 6 µL, fase gerak kloroform:metanol (9:1) dan fase diam silika gel GF 254. Diamati pada TLC scanner dan dianalisis pada densitometer pada panjang gelombang 250 nm, dibuat kurva kalibrasi dan persamaan regresi linier dan dihitung kadar kuinin dalam sampel.

3. HASIL

3.1 Defatting dan Ekstraksi

Tabel 1. Hasil Defatting dan Ekstraksi

Pengamatan	Warna Filtrat
Serbuk kina + n-heksana	Coklat
Ampas + 62,5 mL Metanol	Coklat kemerahan
Ampas + 62,5 mL Metanol	Coklat kemerahan

3.2 Skrining Fitokimia

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Golongan Senyawa	Hasil
Flavonoid	-

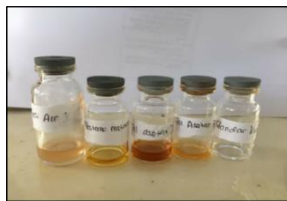
Triterponoid	+
Saponin	-
Alkaloid	+

3.3 Ekstraksi Cair-Cair

Tabel 3. Hasil Ekstraksi Cair-Cair

N	Hasil Fraksi	Warna
1	Fraksi Air	Coklat
2	Fraksi Etil Asetat I	Kuning kecokelatan
3	Fraksi Etil Asetat II	Kuning

3.4 Identifikasi Alkaloid Kuinin



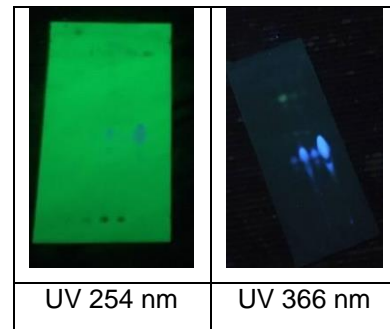
Gambar 1. Fraksi yang Ditotolkan Hasil positif mengandung alkaloid pada fraksi etil asetat II.

3.5 Kromatografi Kolom Lambat

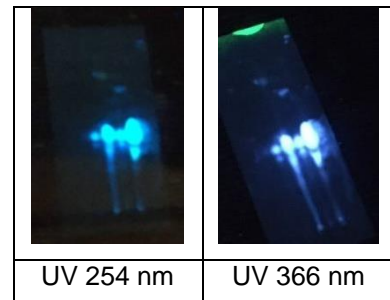
Tabel 4. Hasil Kromatografi Kolom Lambat

Fraksi Etil Asetat	Warna
Replikasi I	Jingga tua
Replikasi II	Jingga
Replikasi III	Kuning
Replikasi IV	Bening

3.6 KLT Hasil Fraksinasi

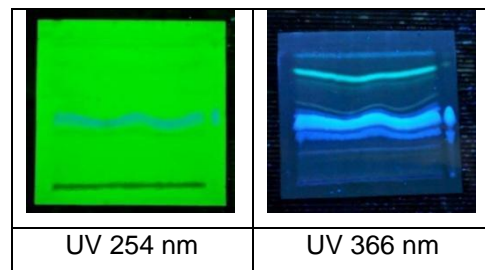


Gambar 2. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%

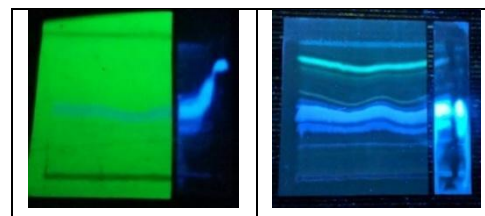


Gambar 3. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

3.7 KLT Preparatif

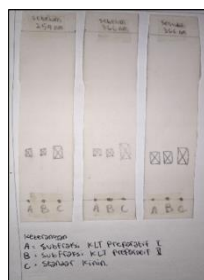


Gambar 4. Identifikasi KLT Sebelum Disemprot Asam Sulfat 10%



Gambar 5. Identifikasi KLT Setelah Disemprot Asam Sulfat 10%

3.8 KLT Hasil Fraksinasi



Gambar 6. A:Fraksi Replikasi I, B:Fraksi Replikasi II, dan C:Standar Kuinin

Tabel 5. Sebelum Disemprot H₂SO 10%

Sampe	UV 254 nm		UV 366 nm	
	Rf	hRf	Rf	hRf
I				
A	0,3	30	0,3	30
B	0,302 5	30, 25	0,3	30
C	0,3	30	0,3125	31,25

Tabel 6. Setelah Disemprot H₂SO₄ 10%

Sampe	UV 254 nm		UV 366 nm	
	Rf	hRf	Rf	hRf
I				
A	-	-	0,3	30
B	-	-	0,3123	31,25
C	-	-	0,2875	28,75

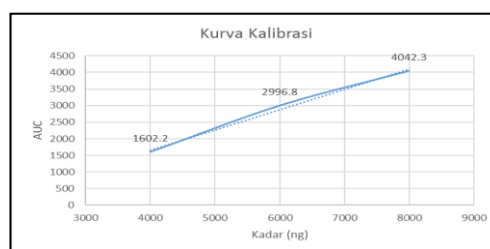
Interpretasi:

Fraksi Replikasi I dan Replikasi II mengandung kuinin karena menunjukkan hasil positif dimana HRf yang dihasilkan dari sebelum dilakukan dan setelah dilakukan penyemprotan H₂SO₄ 10% b/v yaitu 28,75 sampai 31,25. HRf telah berada pada rentang HRf kuinin 25 sampai 35.

3.9 Identifikasi KLT-Densitometri

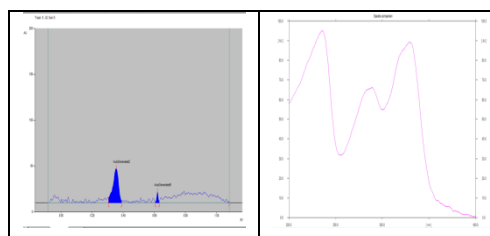
Tabel 7. Kadar AUC Larutan Seri Standar

Seri Kuinin	Konsentrasi (ng)	AUC
I	2000	855,1
II	4000	1602,2
III	6000	2996,8
IV	8000	4042,3
V	10000	6059,8

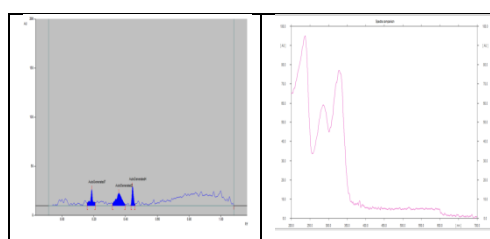


Gambar 7. Kurva Kalibrasi Larutan Seri Standar

Persamaan regresi linier $y = 0,610026x - 779,7167$



Gambar 8. Spektrum Standar Kuinin



Gambar 9. Spektrum Hasil KLTP I

Tabel 8. Penetapan Kadar Fraksi Hasil KLTP I

Sampel	Rf	AUC	Kadar sampel (%)	Konsentrasi (mg/mL)
1	0,3	328,6	15,135	0,3027
2	0,3	314,0	14,94	0,2988
3	0,3	379,9	15,83	0,3167
Rata-rata			15,30	0,3060

4. PEMBAHASAN

4.1 Defatting dan Ekstraksi

Proses pemisahan, isolasi dan identifikasi alkaloid dari serbuk simplisia kulit batang kina (*Cinchona succinubra* Pav. Ex Klotzsch) diawali dengan proses *defatting* dan ekstraksi dengan metode maserasi. Pelarut n-heksana digunakan untuk proses *defatting* yaitu suatu proses yang bertujuan untuk menghilangkan lemak, klorofil dan lipid yang terkandung dalam matriks tumbuhan^[6].

Pemilihan metode maserasi karena mudah dikerjakan, alat yang digunakan sederhana, analit dapat diperoleh karena penyari mampu menembus dinding sel kemudian menuju rongga sel yang mengandung analit, setelah itu melarutkannya dan membawa analit tersebut keluar dari sel sampel uji^[7].

Pelarut metanol digunakan karena metanol merupakan pelarut yang bersifat semipolar, dimana terdiri dari gugus OH yang bersifat polar dan CH₃ yang bersifat nonpolar. Disamping itu metanol dapat melarutkan senyawa

alkaloid dalam bentuk basa bebas maupun garamnya^[8].

4.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap golongan senyawa - senyawa aktif biologis yang terdapat dalam simplisia. Metanol dapat menarik alkaloid, saponin, dan flavonoid dari tanaman^[9]. Dalam skrining fitokimia pemilihan pelarut merupakan hal yang penting karena pelarut berperan dalam melarutkan senyawa yang kita inginkan dan apabila pemilihan pelarut sudah tepat maka skrining fitokimia akan menunjukkan hasil yang tepat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam^[10].

4.3 Ekstraksi Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair merupakan metode pemisahan yang dapat memisahkan alkaloid dari senyawa lain dan pengotor dengan menggunakan dua jenis pelarut yang tidak saling campur, dimana senyawa-senyawa dalam ekstrak akan terpisah dengan prinsip *like-dissolve-like*^[11].

Fase air yang terbentuk berwarna coklat, berada di bagian atas dan fase etil asetat I berwarna kuning kecokelatan pada bagian bawah. Hal ini dikarekan air memiliki bobot jenis yang lebih besar yaitu 0,9971 g/mL daripada bobot jenis etil asetat yaitu 0,894 - 0,898 g/mL^[12]. Tiga fraksi yang

dihasilkan yaitu fraksi air, fraksi etil asetat I, dan fraksi etil asetat II.

4.4 Identifikasi Alkaloid Kuinin

Metode kromatografi lapis tipis dan pereaksi semprot dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya alkalkoid kuinin pada setiap fraksi yang diperoleh dari ekstraksi cair-cair. Tujuan dari penyemprotan larutan pereaksi H_2SO_4 10 % untuk mengubah senyawa kuinin menjadi kuinin sulfat yang mempunyai sifat fluoresensi lebih kuat sehingga saat di amati dibawah sinar UV 366 nm warna spot yang dihasilkan akan menjadi lebih intensif atau lebih terang^[13].

Fraksi metanol, fraksi air, dan fraksi etil asetat I tidak menunjukkan adanya bercak sedangkan fraksi etil asetat II menunjukkan hasil positif. Dari hasil pada UV 254 nm ditunjukkan bahwa fraksi etil asetat II memiliki R_f 0,2 menunjukkan hasil yang kurang sesuai dengan standar kuinin yang memiliki R_f 0,075. Jika dibandingkan dengan pustaka, nilai R_f standar kuinin yang diperoleh dalam hasil KLT ini berbeda, dimana menurut pustaka, dengan menggunakan fase gerak kloroform: metanol (9:1 v/v) akan menghasilkan nilai R_f kuinin 0,77 dan hR_f 77^[14].

Perbedaan hasil ini dikarenakan proses analisis KLT dilakukan pada waktu, suasana, dan dengan menggunakan alat yang berbeda sehingga hasilnya pun kemungkinan tidak akan akurat atau sama persis dengan pustaka.

4.5 Kromatografi Kolom Lambat

Sistem kromatografi yang digunakan pada praktikum ini adalah sistem normal, dimana silika merupakan fase diam yang bersifat polar dan campuran kloroform dan metanol bersifat non-polar. Pemilihan sistem ini dilakukan karena kuinin bersifat cenderung non-polar sehingga harus dibawa keluar dari sistem kromatografi dengan fase gerak non-polar^[15].

Komposisi fase gerak yang digunakan adalah 9:1 v/v, 8:2 v/v, 7:3 v/v, 6:4 v/v dan 5:5 v/v, tiap komposisi fase gerak memiliki tingkat kepolaran yang lebih polar dibandingkan dengan komposisi sebelumnya. Penggunaan fase gerak bergradien ini bertujuan untuk memisahkan solut-solut pada fraksi etil asetat sesuai dengan tingkat kepolaran tersebut, dimana solut yang bersifat non polar akan keluar lebih dulu. Fraksi-fraksi kromatografi kolom yang diperoleh adalah fraksi I, fraksi II, fraksi III dan fraksi IV.

4.6 KLT Hasil Fraksinasi

Tujuan dilakukannya metode KLT yaitu untuk mengidentifikasi ada tidaknya alkaloid kuinin dalam hasil fraksinasi kromatografi kolom lambat. Pada pengamatan di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm setelah disemprot dengan H_2SO_4 10%, spot menjadi berwarna biru yang lebih intensif. Hal ini sesuai dengan pustaka yang ada dimana disebutkan bahwa alkaloid kuinin apabila bereaksi dengan H_2SO_4 akan memberikan fluoresensi biru

intensif Berdasarkan proses identifikasi tersebut maka bercak-bercak yang dihasilkan kemudian dihitung nilai Rf-nya, diperoleh pada ketiga fraksi teridentifikasi adanya kuinin yang ditunjukkan dengan adanya fluoresensi biru intensif pada UV 366 nm^[16].

4.7 KLT Preparatif

Prinsip pemisahan dalam KLT Preparatif didasarkan atas perbedaan daya serap dan daya partisi serta kelarutan dari komponen-komponen kimia yang akan bergerak mengikuti kepolaran eluen atau fase gerak oleh karena daya serap adsorben terhadap komponen kimia tidak sama, maka komponen kimia akan bergerak dengan kecepatan yang berbeda sehingga hal inilah yang menyebabkan terjadinya pemisahan^[17].

Penotolan dalam bentuk pita dilakukan dengan jarak sesempit mungkin karena pemisahan dalam KLT Preparatif tergantung pada lebar pita, dimana semakin sempit pita yang ditotolkan maka pemisahan akan semakin baik. Pengerokan seluruh pita dilakukan untuk mencegah terjadinya kesalahan ketika dilakukan identifikasi pita yang mengandung alkaloid kuinin dibawah sinar UV. Hal yang harus diperhatikan dalam KLT Preparatif yaitu pelarutan hasil pita yang dikerok harus segera dilakukan karena semakin lama analit terikat pada fase diam atau adsorben maka semakin besar kemungkinan dari analit untuk terurai^[18].

4.8 KLT Hasil Fraksinasi

Identifikasi alkaloid kuinin hasil pemisahan KLT preparatif dengan metode KLT dan pereaksi semprot dilakukan untuk memastikan bahwa fraksi hasil pemisahan KLT preparatif mengandung senyawa yang diinginkan yaitu alkaloid kuinin. Alkaloid kuinin apabila dideteksi di bawah sinar UV 254 nm akan menghasilkan pepadaman bercak sehingga spot akan terlihat gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm akan memberikan fluoresensi berwarna biru. Kuinin mampu berfluoresensi karena memiliki struktur yang kaku dan kromofornya yang diperpanjang. Sistem rangkap terkonjugasi memiliki struktur yang planar dan kaku sehingga akan mampu menyerap secara kuat di daerah 200-800 nm pada radiasi elektromagnetik^[19].

Identifikasi bercak yang dihasilkan dilanjutkan dengan menggunakan pereaksi semprot H₂SO₄ 10%. Penggunaan pereaksi semprot H₂SO₄ 10% karena mempunyai sifat sebagai reduktor dalam merusak gugus kromofor dari zat aktif simplisia sehingga panjang gelombangnya akan bergeser ke arah yang lebih panjang sehingga noda menjadi tampak oleh mata, sehingga bercak akan tampak lebih jelas setelah direaksikan dengan H₂SO₄ 10%^[20].

4.9 Identifikasi KLT-Densitometri

Standar kuinin memiliki konsentrasi sebesar 1 mg/mL atau setara dengan 1000 ng/μL dan kadar seri 1, 2, 3, 4, 5

berturut-turut yaitu 2000 ng, 4000 ng, 6000 ng, 8000 ng, 10000 ng. Penetapan kadar sampel dengan metode KLT-spektrofotodensitometri menggunakan alat densitometer pada panjang gelombang maksimum kuinin yaitu 250 nm^[21].

Berdasarkan data AUC dari standar maka diperoleh kurva kalibrasi dengan persamaan $y = 0,6 (10025) - 799,716$ dengan nilai $r = 0,99660$. Dilihat dari nilai r yang mendekati 1, maka persamaan regresi I memenuhi persyaratan linieritas. Penetapan kadar sampel pada hasil fraksi replikasi I dengan konsentrasi kuinin dalam sampel I 0,3023 mg/mL; sampel II 0,2988 mg/mL; sampel III 0,3167 mg/mL dan kadar yang diperoleh pada sampel I 15,135 %; sampel II 14,94 %; sampel III 15,83 %. Dengan rata-rata kadar kuinin yaitu 15,30%.

Sampel fraksi replikasi II tidak terdeteksi pada instrumen dikarenakan proses penotolan yang semakin ke kanan menyebabkan jarak semakin berkurang sehingga jarak total terakhir ke tepi plat kurang dari 1 cm sedangkan pada instrumen diatur batas kanan dan kiri 1 cm maka sampel isolat II tidak dapat terbaca oleh instrumen^[22].

Berdasarkan pustaka, kandungan kuinin dalam kulit batang kina liar adalah 7% sedangkan untuk tanaman kina yang dibudidayakan dapat mengandung kadar alkaloid kuinin sampai 15%. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penetapan kadar

kuinin fraksi etil asetat replikasi I menghasilkan rata-rata kadar kuinin yaitu 15,30% yang sudah sesuai dengan pustaka yaitu kadar alkaloid kuinin 15%^[23].

5. KESIMPULAN

Fraksi etil asetat kulit batang kina (*Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch) replikasi I menghasilkan kadar rata-rata kuinin sebesar 15,30% yang mana sesuai dengan hasil penelitian Misra *et al.*, (2008) menyebutkan tanaman kina yang dibudidayakan dapat mengandung kadar alkaloid kina sampai 15%.

6. SARAN

Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan menggunakan instrument spektrofotometer massa, Inframerah, HPLC, dan NMR untuk mengidentifikasi isolat yang didapat merupakan senyawa murni kuinin *Cinchona succirubra* Pav. Ex Klotzsch golongan alkaloid.

7. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, keluarga, pihak yang telah memberikan dukungan secara moral maupun material sehingga artikel ini dapat tersusun dengan baik. Terima kasih penulis ucapkan kepada dosen Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Udayana serta teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Depkes RI. *Materia Medika Indonesia*, Jilid IV. Jakarta:

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1980.
- [2] Jhon, N. "Analisis dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid dari Tanaman Kina (*Chinchona ledgeriana*)". *Jurnal Penelitian Universitas Jambi Seri Sains*. 14:2 (2012.): 59-64.
- [3] Harijanto, P. N. *Perubahan Radikal dalam Pengobatan Malaria di Indonesia, Cermin Dunia Kedokteran*. Jakarta: PT Kalbe Farma, 2006.
- [4] Amalia, E., T. Parwati dan P. Simanjuntak. *Produksi Asam Lemak Oleat Oleh Mmroba Endofit Sporodiobolus Salmonicolor dan Tumbuhan Kina (Cinchona pubescens Vahl.)*. Bogor: Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, 2004.
- [5] Wibisana, A. *Difusi Teknologi Ekstraksi Kinin dan Sinkonin dari Produk Samping Industri Kina dan Sintesis Turunannya*. Tangerang: Balai Pengkajian Bioteknologi, 2010.
- [6] Depkes RI. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1986.
- [7] Kusmardiyani, S. dan A. Nawawi. *Kimia Bahan Alam*. Jakarta: Pusat Antar Universitas Bidang Ilmu Hayati, 1992.
- [8] Depkes RI. *Farmakope Indonesia*, Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979.
- [9] Thompson, E.B. *Drug Bioscreening*. America. Inc: Graceway Publishing Company, 1985.
- [10] Marlina, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. "Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol". *Biofarmasi*. 3:1 (2005): 26-31.
- [11] Gandjar, I. G. dan A. Rohman. *Analisis Kimia Farmasi*. Yogyakarta: Pustaka Penerbit, 2007.
- [12] Moffat, C. A., M. D. Osselton, and B. Widdop. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons, In Pharmaceuticals, Body Fluids, and Postmortem Material*, 3 Edition. London: Pharmaceutical Press, 2005.
- [13] Gandjar, I. G. dan A. Rohman. *Analisis Obat secara Spektrofotometri dan* 2012.
- [14] Wall, P. *Thin-Layer Chromatography. United: A Modern Practical Approach*, 2005.
- [15] Setyaningrum, M. dan E. Chayono. "Pemisahan Sitronelal menggunakan Kromatografi Kolom dengan Fasa Diam Siklodekstrin Terasetilasi". *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5:2 (2016).
- [16] Eagleson, M. *Concise Encyclopedia Chemistry*. New York: Walter de Gruyter, 1993.
- [17] Misra, H., B. K. Metha, dan D. C. Jain. "Optimization of Extraction Conditions and HPTLC-UV

- Method for Determination of Quinine in Different Extracts of Cinchona species Bark". *Rec. Nat. Prod.* 2:4 (2008): 107-115.
- [18] Dewi, N. L. A., L. P. S. Adnyani, R. B. R. Pratama, N. N. D. Yanti, J. I. Manibuy, N. K. Warditiani. "Pemisahan, Isolasi, dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Herba Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)". *Jurnal Farmasi Udayana.* 7:2 (2018): 68-76
- [19] Stahl, E. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi.* Bandung.: Penerbit ITB, 1985.
- [20] Ambarwati, N., R. Rakhmawati, D. S. C. Wahyuni. "Uji Toksisitas Fraksi Daun Ambre (*Geranium radula*) terhadap Artemia Salina dan Profil Kandungan Kimia Fraksi Teraktif". *Biofarmasi.* 13:1 (2015.): 15-24.
- [21] Moffat, A. C., M. D. Osselton dan B. Widdop. "*Clarke's Analysis of Drugs and Poisons in Pharmaceutical, Body Fluids, and Postmortem Material*". Fourth Edition. London: Pharmaceutical Press, 2011.
- [22] Achan, J., A. O. Talisuna, A. Erhart, A. Yeka, J. K. Tibenderana, F. N. Baliraine, P. J. Rosenthal, dan U. D'Alessandro. "Quinine, An Old Anti-Malarial Drug in A Modern World: Role in The Treatment of Malaria", *Malaria Journal.* 10:1 (2011): 144
- [23] Bhusal, R. D., D. M. Nahor, P. B. Dalri. "Review on: Flash Column Chromatography". *Pharmaceutical Research.* 7:1 (2017): 7353-7358

OPTIMASI KOMBINASI NATRIUM ALGINAT DAN KALSIMUM KLOORIDA (CaCl_2) SEBAGAI AGEN SAMBUNG SILANG NANOPARTIKEL EKSTRAK ETANOL DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

Akhmad Ngafif¹, Endang Diyah Ikasari¹, dan Lilies Wahyu Ariani¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang, Semarang Jawa Tengah, Indonesia

ABSTRAK

Obesitas didefinisikan sebagai keadaan dengan akumulasi lemak yang tidak normal atau berlebih di jaringan adipose sehingga dapat mengganggu kesehatan. Meningkatnya prevalensi obesitas merupakan masalah kesehatan utama di seluruh dunia. Salah satu upaya pencegahan obesitas dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan alam di Indonesia antara lain daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). Daun katuk mengandung senyawa kaempferol yang memiliki efek menurunkan lemak tubuh atau antiobesitas. Formulasi nanopartikel ekstrak etanol daun katuk dibuat dengan menggunakan polimer natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) sebagai agen sambung silang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) pada karakteristik fisik dalam nanopartikel ekstrak etanol daun katuk, serta menentukan formula nanopartikel dengan karakteristik fisik optimal. Parameter yang dioptimasi adalah visual, transmitan, efisiensi penjerapan, distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial dan morfologi partikel pada formula optimal nanopartikel ekstrak etanol daun katuk. Berdasarkan Design Expert 10.0.1 dengan metode factorial design diperoleh formula optimal dengan perbandingan natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) sebesar 0,102% : 0,010%. Hasil prediksi yang didapatkan visual 3 (jernih); transmitan 90,66% dan efisiensi penjerapan 81,1359%. Hasil t-test menunjukkan hasil observasi tersebut berbeda tidak signifikan terhadap hasil prediksi menunjukkan bahwa persamaan dari masing-masing parameter optimasi adalah valid. Formula optimal mempunyai ukuran nanopartikel 54,59 nm sebesar 66,4% dan 440,1 nm sebesar 33,6%, indeks polidispersitas 0,465, zeta potensial -17,6 mV dan morfologi partikel dengan bentuk yang tidak sferis beragregat longgar.

Kata kunci : ekstrak etanol daun katuk, optimasi, natrium alginat, kalsium klorida (CaCl_2), dan nanopartikel.

ABSTRACT

*Obesity is defined as a condition with abnormal or excessive fat accumulation in adipose tissue so that it can interfere with health. The increasing prevalence of obesity was a major health problem worldwide. One effort to prevent obesity can be done by utilizing natural materials in Indonesia, including katuk leaves (*Sauropus androgynus* (L.) Merr). Katuk leaves contain kaempferol compounds which had the effect of reducing body fat or antiobesity. The nanoparticle formulation of katuk leaf ethanol extract made using a polymer of sodium alginate and calcium chloride (CaCl_2) as a crosslinking agent. This study aims to determine the effect of the use of sodium alginate and calcium chloride (CaCl_2) on physical characteristics in nanoparticle extracts of katuk leaf ethanol, and determine the nanoparticle formula with optimal physical characteristics. Optimized parameters were visual, transmittance, adsorption efficiency, particle size distribution, polydispersity index, zeta potential and particle morphology in the optimal formula of katuk leaf ethanol extract nanoparticles. Based on Design Expert 10.0.1 with the factorial design method, the optimal formula is obtained with a ratio of sodium alginate and calcium chloride (CaCl_2) of 0.102%: 0.010%. Visual prediction results obtained 3 (clear); transmitting 90.66% and absorption*

efficiency 81.1359%. The *t*-test results showed that these observations differed insignificantly to the results of the predictions indicating that the equation of each optimization parameter was valid. The optimal formula had 66.4% units 54.59 nm of size nanoparticles and 33.6% units 440.1 nm, 0.465 of polydispersity index, -17.6 mV of zeta potential and particle morphology with a non-spherical shape in a loose aggregate.

Keywords : *Katuk leaf ethanol extract, optimization, sodium alginate, calcium chloride (CaCl₂), and nanoparticles.*

1. PENDAHULUAN

Obesitas didefinisikan sebagai keadaan dengan akumulasi lemak yang tidak normal atau berlebih di jaringan adiposa sehingga dapat mengganggu kesehatan (Soegondo, 2006). Daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) memiliki aktivitas menurunkan lemak tubuh atau antiobesitas karena zat fitokimia yang terkandung di dalamnya. Pada penelitian Yu dkk (2006), menemukan senyawa aktif dalam daun katuk yaitu kaempferol yang dapat digunakan sebagai antiobesitas. Kandungan senyawa kaempferol dalam daun katuk memiliki permeabilitas yang buruk pada sistem gastrointestinal (Patonah dkk, 2017). Oleh karena itu, perlu adanya modifikasi sistem penghantaran obat untuk meningkatkan permeabilitas dari kaempferol, salah satunya dengan menggunakan sistem penghantaran nanopartikel.

Menurut Martien dkk, (2012) Nanopartikel dipandang sebagai carrier yang sangat baik untuk meningkatkan bioavailabilitas molekul dikarenakan ukurannya yang sangat kecil dan dapat menembus ruang antar sel dalam tubuh. Formulasi sediaan nanopartikel terdiri dari ekstrak etanol daun katuk, polimer alam natrium alginat dan agen sambung silang kalsium klorida (CaCl₂). Natrium alginat

yang disambung silang dengan kalsium klorida (CaCl₂) dapat dijadikan sebagai agen pembentuk sediaan nanopartikel yang lebih stabil dengan menggunakan metode gelas ionik. Metode gelas ionik ini dipilih karena memiliki keunggulan diantaranya aplikasi mudah, bahan mudah didapatkan, serta membutuhkan pelarut yang relatif sedikit. Penambahan polimer natrium alginat dan agen sambung silang kalsium klorida (CaCl₂) harus dilakukan dengan takaran yang tepat supaya mendapatkan nanopartikel dengan karakteristik fisik yang baik.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Objek Penelitian

Objek yang diteliti adalah karakteristik fisik nanopartikel ekstrak etanol daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) meliputi visual, transmitan, dan efisiensi penyerapan dengan variasi konsentrasi polimer natrium alginat 0,1% - 0,5% dan agen sambung silang kalsium klorida (CaCl₂) 0,01% - 0,4%. Formula optimal dilakukan uji distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, dan morfologi nanopartikel.

2.2 Alat

Alat yang digunakan adalah neraca digital (O'Hauss), neraca analitik, alat-alat kaca, kertas saring, rotary evaporator, vial, magnetic stirrer, stopwatch, mikropipet,

vortek, sentrifugasi, sonikator (Branson 1800), spektrofotometer UV-Vis 1280 (Shimadzu), kuvet, Particle Size Analyzer (Malvern), Scanning Electron Microscopy (Jeol Jsm 6510 La).

2.3 Bahan

Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak adalah daun katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) yang diperoleh dari hasil budidaya PT. Temu Gesang di Kelurahan Kalikuto kidul, Kalikuto, Grabag, Kabupaten Magelang, Jawa Tengah. Bahan technical grade adalah serbuk Mg, HCl, amil alkohol, HCl encer, dragendroff, FeCl_3 1%, asam asetat anhidrat, asam sulfat_(p), etanol 96%. food grade natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2), analytical grade kuersetin dan etanol p.a.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi digunakan metode remaserasi dengan cara ditimbang sebanyak 100 gram serbuk simplisia daun katuk kering, direndam dengan etanol 96% sebanyak 1000mL selama 3 x 24 jam dengan penggantian cairan penyari setiap 24 jam. Perbandingan serbuk daun katuk dengan pelarutnya adalah 1:10 (w/v). Seluruh maserat dikumpulkan menjadi satu kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator dengan suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental daun katuk. Kaempferol termasuk zat aktif yang tahan panas sehingga aman apabila dipekatkan dengan suhu 70°C (Nurdianti dan Tuslinah, 2017).

2.5 Pembuatan Nanopartikel

Pembuatan nanopartikel ekstrak etanol daun katuk menggunakan perbandingan natrium alginat : kalsium klorida (CaCl_2) : Ekstrak etanol daun katuk (4:1:5). Ekstrak kental daun katuk ditimbang sebanyak 100 mg, kemudian dilarutkan dalam 100 mL etanol 96% sehingga didapatkan ekstrak etanol daun katuk dengan konsentrasi 1 mg/mL. Natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) ditimbang kemudian dilarutkan dengan aquadest dan dilakukan pengadukan dengan magnetic stirer sampai larut sempurna. Larutan Natrium alginat dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan ekstrak etanol daun katuk kedalam vial yang berisi natrium alginat dan dilakukan pengadukan dengan magnetic stirrer selama 30 menit kecepatan 1500 rpm. Larutan Kalsium Klorida (CaCl_2) diambil menggunakan pipet volume kemudian ditambahkan kedalam vial yang berisi larutan natrium alginat dan ekstrak etanol daun katuk. Pengadukan kembali menggunakan magnetic stirer selama 30 menit. Larutan natrium alginat-Kalsium klorida (CaCl_2)-ekstrak etanol daun katuk yang terbentuk disonikasi selama 60 menit. Proses pembuatan nanopartikel dilakukan sebanyak 3 siklus yang bertujuan untuk memastikan bahwa bahan pembentuk ikat sliang natrium alginat dan natrium klorida (CaCl_2) dapat mengikat zat aktif pada ekstrak secara sempurna.

Tabel 1. Rancangan Formula Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) sesuai Design Expert 10.0.1

Bahan (%)	F I	F II	F III	F IV
Ekstrak etanol daun katuk	1mg/mL	1mg/mL	1mg/mL	1mg/mL
Natrium alginat	0,5%	0,1%	0,5%	0,1%
Kalsium klorida (CaCl ₂)	0,4%	0,01%	0,01%	0,4%

2.6 Evaluasi Nanopartikel

Pengujian karakteristik fisik nanopartikel ekstrak etanol daun katuk meliputi uji visual, tranmsitan, dan efisiensi penyerapan. Formula optimal nanopartikel ekstrak etanol daun katuk yang didapatkan dari design expert 10.0.1 kemudian dilakukan pengujian visual, tranmsitan, efisiensi penyerapan, distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, dan morfologi nanopartikel.

2.6.1 Uji Visual

Uji visual dilakukan dengan cara melihat sediaan nanopartikel dengan menggunakan mata langsung. Uji visual bertujuan untuk mengetahui adanya partikel yang terbentuk antara ekstrak dengan agen sambung silang, terutama jika terjadi suatu endapan pada sediaan (Hendradi dkk, 2012).

2.6.2 Uji Transmitan

Persen Transmitan (%T) digunakan untuk mengukur kejernihan secara kuantitatif dari larutan atau sistem disperse. Nilai persen transmitan yang tinggi artinya ukuran partikel semakin kecil. Uji transmitan dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis 615 nm (Perdana, 2007).

2.6.3 Efisiensi Penjerapan

Penetapan kadar flavonoid total nanopartikel ekstrak etanol daun katuk untuk efisiensi penyerapan dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Efisiensi penyerapan obat dapat dilakukan dengan cara larutan nanopartikel disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 30 menit untuk mengendapkan nanopartikel secara sempurna. Supernatan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis 415,5 nm dan operating time 21 menit sebagai kadar obat bebas nanopartikel (w). Kemudian jumlah kadar ekstrak (W) dikurangi dengan kadar obat bebas nanopartikel (w) akan menunjukkan jumlah obat yang terjerap. Persentase efisiensi penyerapan dapat dihitung menggunakan persamaan berikut :

$$\begin{aligned} & \text{Efisiensi Penjerapan (\%)} \\ & = \frac{W-w}{w} \times 100\% \end{aligned}$$

2.6.4 Distribusi Ukuran Partikel

Ukuran dan distribusi nanopartikel diukur menggunakan alat Particle Size Analyzer (PSA). Distribusi ukuran partikel digunakan untuk memperkirakan distribusi secara in vivo, biologis, toksisitas, dan

kemampuan membidik dari sistem nanopartikel (Mohanraj dan Chen, 2006).

2.6.5 Indeks Polidispersitas

Indeks polidispersitas menggambarkan homogenitas larutan koloidal. Indeks polidispersitas memiliki range nilai dari 0 sampai 1. Dimana nilai yang mendekati 0 mengindikasikan disperse yang homogen, sedangkan nilai yang lebih besar dari 0,5 mengindikasikan heterogenitas yang tinggi (Avadi dkk., 2010).

2.6.6 Zeta Potensial

Zeta potensial diukur menggunakan alat zeta sizer. Uji ini digunakan untuk mengkarakterisasi sifat muatan permukaan nanopartikel. Nanopartikel dengan nilai potensial zeta lebih kecil dari -30 mV dan lebih besar dari +30mV memiliki stabilitas lebih tinggi (Murdock dkk., 2008).

2.6.7 Morfologi Nanopartikel

Bentuk dan keadaan permukaan nanopartikel dapat memberi informasi

tentang sifat pelepasan obat. Morfologi nanopartikel dilihat menggunakan alat Scanning Elctron Microscopy (SEM) dengan perbesaran tertentu.

Formula optimal yang diperoleh yaitu dengan membandingkan hasil observasi dengan hasil teoritis yang diperoleh melalui persamaan $Y = b_0 + b_1(A) + b_2(B) + b_{12} (A)(B)$, dimana Y adalah respon hasil percobaan, B_0, B_1, B_{12} adalah koefisien yang menggambarkan pengaruh interaksi, $(A)(B)$ adalah level bagian A, bagian B, kemudian dilakukan uji T (Bolton dan Charles, 2004).

3. HASIL PENELITIAN

Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 13,6403 gram dan didapatkan rendemen ekstrak sebesar 13,64%. Uji karakteristik fisik nanopartikel ekstrak etanol daun katuk dilakukan untuk mengetahui pengaruh kombinasi natrium alginat dan kalsium klorida ($CaCl_2$) dalam nanopartikel. Hasil uji karakteristik fisik nanopartikel ekstrak etanol daun dapat dilihat pada tabel 2.



Gambar 1. Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

Tabel 2. Hasil Uji Karakteristik Fisik Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

Pengujian	F I	FII	FIII	FIV
Visual	2	3	3	2
Transmitan (%)	87,24 ± 0,2728	90,72 ± 0,7678	88,88 ± 0,3487	88,36 ± 0,7419
Efisiensi Penjerapan (%)	18,44 ± 3,1110	81,80 ± 2,5714	33,27 ± 1,6828	70,39 ± 2,2505

Keterangan:

- 1 : Mengendap
- 2 : Melayang
- 3 : Jernih

Formula I : Nanopartikel dengan Natrium alginat 0,5% dan CaCl₂ 0,4%

Formula II : Nanopartikel dengan Natrium alginat 0,1% dan CaCl₂ 0,01%

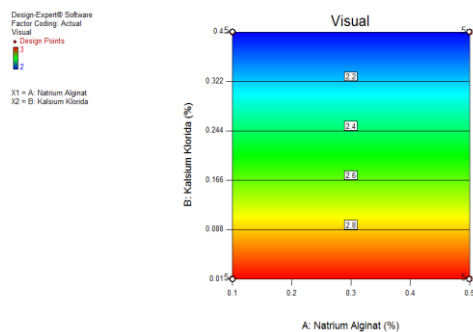
Formula III : Nanopartikel dengan Natrium alginat 0,5% dan CaCl₂ 0,01%

Formula IV : Nanopartikel dengan Natrium alginat 0,1% dan CaCl₂ 0,4%

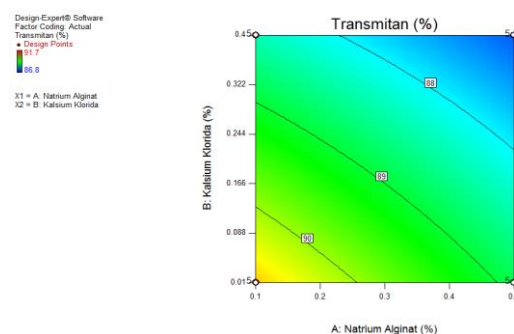
Data tersebut merupakan rerata hasil dari 5 replikasi dengan simpangan baku (±).

Tabel 3. Persamaan Berdasarkan Design Expert 10.0.1

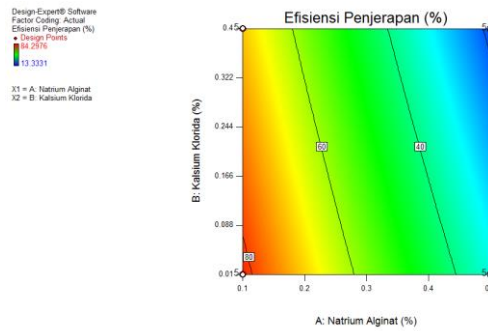
Respon	Persamaan
Visual	$Y = +3,02564 - 1,96791 \cdot 10^{-15} A - 2,56410 B + 5,58987 \cdot 10^{-15} AB$
Tranmsitan	$Y = +91,24513 - 4,64615 A - 6,51282 B + 4,61538 AB$
Efisiensi Penjerapan	$Y = +94,20635 - 121,11968 A - 27,08565 B - 21,84192 AB$



(a)



(b)



(c)

Gambar 2. Contour Plot Karakteristik Fisik Sediaan Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk Factorial Design (a). Visual, (b). Transmitan, (c). Efisiensi Penjerapan.

Pada hasil contour plot uji visual menunjukkan bahwa berapapun konsentrasi natrium alginat yang ditambahkan tidak memberikan pengaruh pada visual nanopartikel ditunjukkan dari contour plot yang terbentuk hanya berwarna orange kemerahan dan terlihat bahwa kalsium klorida (CaCl_2) memberikan pengaruh pada penurunan respon visual nanopartikel terlihat adanya gradasi warna pada contour plot yang semakin berwarna biru seiring peningkatan konsentrasi kalsium klorida (CaCl_2). Kombinasi polimer natrium alginat dan agen sambung silang kalsium klorida (CaCl_2) memberikan pengaruh meningkatkan visual nanopartikel ekstrak etanol daun katuk tidak terlalu signifikan.

Pengujian transmitan pada nanopartikel ekstrak etanol daun katuk bertujuan untuk mengukur kejernihan secara kuantitatif dari nanopartikel. Berdasarkan contour plot uji transmitan dapat dilihat bahwa natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) memberikan pengaruh pada penurunan respon transmitan yang ditandai dengan adanya

gradasi warna pada contour plot yang semakin biru.

Efisiensi penjerapan bertujuan untuk mengetahui kemampuan suatu polimer dalam melindungi zat aktif yang membentuk nanopartikel. Berdasarkan contour plot efisiensi penjerapan terlihat bahwa natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) memberikan pengaruh pada penurunan respon efisiensi penjerapan (%) yang ditandai adanya gradasi warna pada contour plot yang semakin biru.

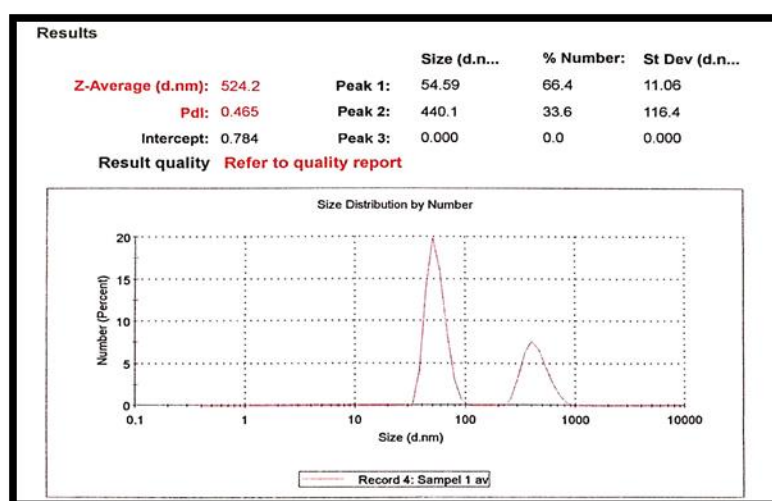
Penentuan formula optimal diperoleh dari perhitungan menggunakan Design Expert 10.0.1 metode factorial design dengan parameter optimasi visual, transmitan dan efisiensi penjerapan nanopartikel ekstrak etanol daun katuk. Formula optimal yang didapat adalah formula dengan konsentrasi natrium alginat 0,102% dan kalsium klorida (CaCl_2) 0,01%. Validasi persamaan dengan One T-Test Sample digunakan untuk membuktikan apakah persamaan Design Expert yang diperoleh sudah valid atau belum. Hasil T-Test disajikan pada tabel 4.

Tabel 4 memperlihatkan hasil dari masing-masing parameter uji, jika hasil percobaan dibandingkan dengan hasil teoretis untuk validasi persamaan Factorial Design, didapatkan hasil signifikasi $p > 0,05$. Nilai signifikasi $p > 0,05$ menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh antara teoretis dan hasil percobaan

berbeda tidak signifikan yang berarti bahwa persamaan dari masing-masing parameter optimasi adalah valid. Setelah mendapatkan formula optimal selanjutnya dilakukan uji distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, zeta potensial, dan morfologi nanopartikel.

Tabel 4. Hasil Pengujian Formula Optimal dan T-Test antara Hasil Teoretis dan Percobaan

Uji	Hasil percobaan	Hasil teoretis	Signifikasi hasil teoretis dengan hasil percobaan	Kesimpulan
Transmitan	90,660 ± 0,3007	90,709	0,761	Berbeda Tidak Signifikan
Efisiensi penjerapan (%)	81,136 ± 0,6666	81.506	0,329	Berbeda Tidak Signifikan



Gambar 3. Data Distribusi Ukuran Partikel dan Indeks Polidispersitas Formula Optimal Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)

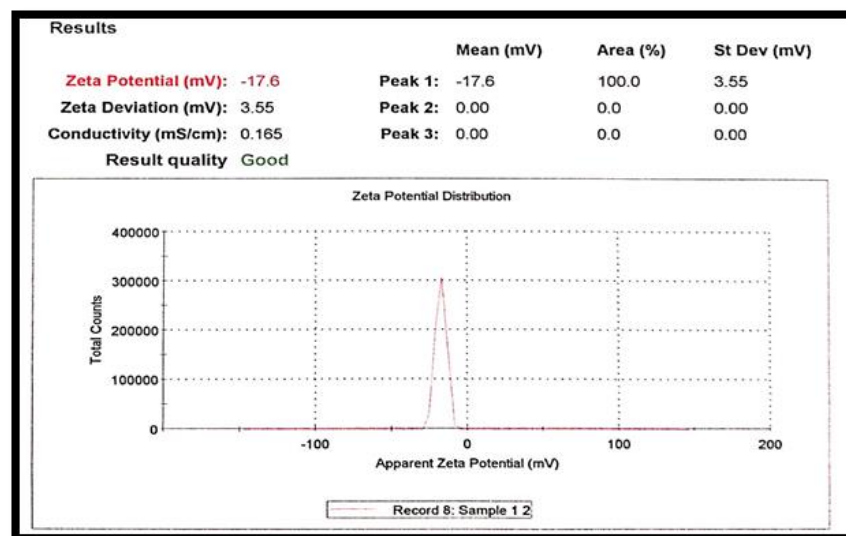
Penentuan ukuran partikel dan distribusi ukuran partikel merupakan faktor penting dalam preparasi nanopartikel. Semakin kecil ukuran partikel dapat memberikan pelepasan obat yang lebih baik. Dari hasil distribusi ukuran partikel

pada gambar 3 yang diukur menggunakan alat particle size analyzer (PSA) didapatkan formula optimal memiliki ukuran partikel 54,59 nm sebesar 66,4% dan 440,1 nm sebesar 33,6% yang berarti memasuki rentang ukuran nanometer.

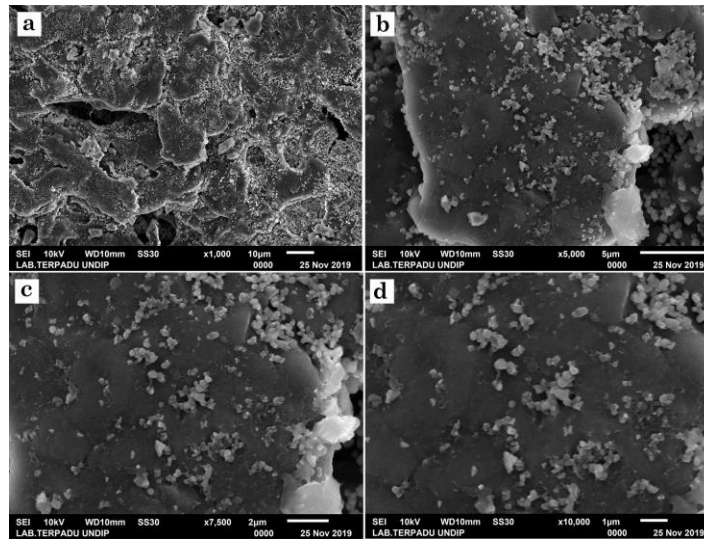
Indeks polidispersitas bertujuan untuk mengetahui keseragaman dari partikel. Nanopartikel dengan nilai Indeks polidispersitas adalah 1 memiliki distribusi ukuran yang sangat luas dan mengandung partikel besar atau agregat yang dapat mengalami sedimentasi (Malvern, 2005). Pada gambar 3 didapatkan nilai indeks polidispersitas pada formula optimal sebesar 0,465. Nilai indeks polidispersitas ini di bawah 0,7 yang berarti adalah kisaran atas yang mana algoritma distribusi beroperasi paling baik dan cukup homogen dengan nilai indeks polidispersitas yang mendekati 0.

Zeta potensial adalah nilai yang menunjukkan gaya tolak-menolak antara

partikel-partikel untuk memprediksi kestabilan larutan koloid. Nanopartikel dengan zeta potensial (+/-) 30 mV menunjukkan suspensi yang stabil (Babaei dan Jahanshahi, 2008). Dari hasil pengujian zeta potensial pada gambar 4 menunjukkan formula optimal memiliki nilai zeta potensial sebesar -17,6 mV. Hasil zeta potensial tersebut cukup baik karena nilai tidak terlalu tinggi dan tidak terlalu netral atau mendekati 0. Hal ini menggambarkan kondisi muatan permukaan nanopartikel yang cukup menimbulkan gaya tolak menolak antar partikel yang stabil.



Gambar 4. Data Zeta Potensial Formula Optimal Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr)



Gambar 5. Hasil Pengujian SEM Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Katuk Perbesaran 1000x (a), Perbesaran 5000x (b), Perbesaran 7500x (c) dan Perbesaran 10000x (d).

Karakterisasi nanopartikel dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM) bertujuan untuk melihat morfologi permukaan partikel atau bentuk 3 dimensi partikel dan ukuran partikel tersebut melalui sebuah gambar. Hasil yang diperoleh pada pengujian SEM dengan perbesaran 10.000x mendapatkan bentuk nanopartikel ekstrak etanol daun katuk yang tersalut. Namun, memiliki bentuk yang tidak sferis dengan permukaan yang tidak merata dan membentuk agregat-agregat longgar (Gambar 5). Permukaan yang tidak merata disebabkan reaksi sambung silang polimer yang berjalan belum sempurna.

4. KESIMPULAN

1. Kombinasi antara natrium alginat dan kalsium klorida dapat berpengaruh pada peningkatan visual, transmitan, dan penurunan efisiensi penyerapan.
2. Perbandingan konsentrasi optimal nanopartikel ekstrak etanol daun katuk

(*Sauropus androgynus* (L.) Merr) berdasarkan Design Expert 10.0.1 dengan metode factorial design yakni natrium alginat 0,102% dan kalsium klorida (CaCl_2) 0,010%. Formula optimal nanopartikel ekstrak etanol daun katuk menghasilkan karakteristik fisik dengan Ukuran partikel 54,59 nm sebesar 66,4% dan 440,1 nm sebesar 33,6%, Indeks polidispersitas 0,465, Zeta potensial sebesar -17,6 mV dan Morfologi partikel dengan permukaan yang tidak sferis dan teragregat.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Avadi, M.R., Assal M.M.S., Nasser, M., Saideh, A., Fatemeh, A., Rassoul, D., dan Morteza, R. 2010. Preparation and Characterization of Insulin Nanoparticles Using Chitosan and Arabic Gum with Ionic Gelation Method. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 6 (1) : 58-63.

- [2] Bolton, S., dan Charles, B. 2004. *Pharmaceutical Statistic : Practical and Clinical Applications 4th Edition. Revised and Expanded*. New York : Marcel Dekker, Inc.
- [3] Hendradi, E., Tutiek, P., dan Arycko, A.S. 2012. Karakterisasi Sediaan Dan Uji Pelepasan Natrium diklofenak Dengan Sistem Mikroemulsi Dalam basis Gel HPC-M. *PharmaScientia*. 1 (2) : 17-29.
- [4] Jahanshahi, M., dan Babaei, Z. 2008. Protein Nanoparticle : A Unique System as Drug Delivery Vehicles. *African Journal of Biotechnology*. 7 (25) : 4926-4934.
- [5] Malvern. 2015. *A Basic Guide to Particle Characterization*. Grovemood Road : Malvern Instrument Limited.
- [6] Mohanraj, V.J., dan Chen, Y. 2006. Research Article Nanoparticle-A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 5 (1) : 561-573.
- [7] Murdock, R.C., Braydich-Stole, L., Schrand, A.M., Schlager, J.J., dan Hussain, S.M. 2008. Characterization of Nanoparticle Dispersion in Solution Prior to In Vitro Exposure using Dynamic Light Scattering Tehnique. *Toxicological Scince*. 101 (2) : 239-253.
- [8] Nurdianti, L., dan Tuslinah, L. 2017. Uji Efektivitas Antioksidan Krim Ekstrak Etanol Daun Katuk (Sauropus androynus (L.) Merr) Terhadap DPPH. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 17 (1) : 87-96.
- [9] Patonah., Elis, S., dan Ahmad, R. 2017. Aktivitas Antiobesitas Ekstrak Daun Katuk (Sauropus Androgynus L.Merr) Pada Model Mencit Obesitas. *Journal Pharmacy*. 14 (2) : 137-152.
- [10] Perdana, D. 2007. *Pengembangan Awal Sistem Pembawa Polimerik Berbasis Nanopartikel*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- [11] Martien, R., Andhyatmika., Iramine, D., Irianto., Verda, F., Dian, P. 2012. Perkembangan Teknologi Nanopartikel Sebagai Sistem Penghantaran Obat. *Majalah Farmaseutik*. 8 (1) : 132.

STUDI PENAMBATAN MOLEKULER DAN PREDIKSI ADMET SENYAWA BIOAKTIF BEBERAPA JAMU INDONESIA TERHADAP SARS-COV-2 MAIN PROTEASE (M^{pro})

Sheniez Adhitya Yasin¹, Alya Azzahra¹, Norman Emil Ramadhan¹, Vega Mylanda¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia
Corresponding authors's email: alya5499@gmail.com

ABSTRAK

Coronavirus jenis baru SARS-CoV-2 telah menyebabkan penyakit pandemi global terbesar pada tahun 2020 yang dikenal dengan *Coronavirus Disease-2019* (COVID-19). Terapi potensial untuk penyakit ini masih terus diteliti, termasuk dari senyawa alami. Jamu merupakan obat tradisional yang berasal dari tumbuhan herbal Indonesia dan memiliki berbagai khasiat. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menemukan potensi jamu Indonesia dalam terapi COVID-19. Sebanyak 283 senyawa bioaktif dari jamu Indonesia disaring melalui penapisan berdasarkan parameter *Lipinski's Rule of Five* dan prediksi ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas) menggunakan ProTox-II dan SwissADME. Sebanyak 12 senyawa hasil penapisan kemudian dilanjutkan untuk diuji melalui penambatan molekuler terhadap SARS-CoV-2 *Main Protease* (M^{pro}) menggunakan AutoDock Vina. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Kurkuminol D memiliki energi bebas ikatan (ΔG); sebesar -6,9 kkal/mol; dan konstanta inhibisi (Ki); sebesar 2,99 μM ; terendah dibandingkan senyawa hasil penapisan lainnya. Namun, tidak ada senyawa hasil penapisan yang memiliki ΔG lebih rendah daripada ΔG kedua kontrol positif, yaitu sebesar -8,2 kkal/mol (Lopinavir) dan -7,8 kkal/mol (Ritonavir). Potensi inhibisi SARS-CoV-2 oleh Kurkuminol D dari penelitian ini dapat menjadi titik awal dalam proses pengembangan obat terapi COVID-19 dari senyawa alami.

Kata kunci: ADMET, COVID-19, jamu, penambatan molekuler, SARS-CoV-2

ABSTRACT

The novel coronavirus SARS-CoV-2 has caused the biggest global pandemic disease in 2020 known as Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). Current studies are still trying to find potential therapies of the disease, including from natural compounds. Jamu is traditional medicine from herbs in Indonesia that possesses some medicinal properties. This research was done to find and explore the potential of Indonesian jamus as novel COVID-19 treatment. 283 bioactive compounds from Indonesian jamus were screened with ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) predictions and Lipinski's Rule of Five parameters using ProTox-II and SwissADME. The 12 screened compounds then continued to be tested through molecular docking against SARS-CoV-2 Main Protease (M^{pro}) using AutoDock Vina. The result of our study showed that Curcuminol D has the lowest binding free energy of -6.9 kcal/mol and Ki (inhibition constant) of 2.99 μM compared to the other screened compounds. However, none of the screened compounds has lower binding free energy than the positive controls, which valued -8.2 kcal/mol (Lopinavir) and -7.8 kcal/mol (Ritonavir). The potential inhibition of SARS-CoV-2 by Curcuminol D from this study could be a starting point in the drug discovery process from natural compounds for treating COVID-19.

Keywords: ADMET, COVID-19, jamu, molecular docking, SARS-CoV-2

1. PENDAHULUAN

Coronavirus disease-2019 (COVID-19), yang disebabkan oleh infeksi dari *severe acute respiratory*

syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), merupakan penyakit pernapasan yang awalnya diidentifikasi di Wuhan, China, pada Desember 2019. *World Health*



Organization (WHO) menyatakan COVID-19 sebagai pandemi pada 11 Maret 2020 (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2020). COVID-19 menyebar dengan cepat melalui transmisi kontak, aerosol, dan droplet (Michele *et al.*, 2020). Sebagai negara dengan kasus COVID-19 tertinggi di Asia Tenggara, Indonesia telah mencapai 177.571 kasus dan 7.505 kematian akibat COVID-19 dengan *case fatality rate* (CFR) sebesar 4,2% pada 1 September 2020 (Worldometer, 2020). Jumlah kematian yang terus meningkat menyebabkan gangguan dalam sistem kesehatan dan juga mempengaruhi sektor lain, seperti ekonomi dan sosial (WHO, 2020).

Suatu *systematic review* yang dilakukan oleh Zhang & Liu (2020) menunjukkan bahwa kombinasi Ribavirin dan interferon- β dapat menjadi terapi yang menjanjikan sebagai agen penghambat replikasi SARS-CoV-2 (Alanagreh *et al.* (2020); Zhang & Liu, 2020). Namun, studi *in vivo* oleh Booth *et al.* (2003) dan studi *in vitro* oleh Tan *et al.* (2004) tidak menganjurkan penggunaan kombinasi tersebut akibat adanya aktivitas hemolisis dan tidak memiliki aktivitas yang signifikan terhadap virus tersebut (Alanagreh *et al.*, 2020; Booth *et al.*, 2003; Tan *et al.*, 2004). Selain itu, penggunaan Favipiravir, Remdevisir, dan Hidroklorokuin juga tidak menunjukkan efikasi yang cukup terhadap COVID-19 (Jomah *et al.*, 2020; Principi & Esposito, 2020; WHO, 2020). Oleh karena itu,

pengembangan obat baru yang berpotensi dalam menangani COVID-19 perlu dilakukan. Salah satu cara dalam mengembangkan obat baru adalah melalui tumbuhan medisinale.

Indonesia memiliki 30.000 spesies tumbuhan medisinale atau sekitar 80% dari tumbuhan medisinale di seluruh dunia. Sekitar 6.000 tumbuhan memiliki berbagai aktivitas biologis dan 1.000 spesies umumnya digunakan sebagai jamu (Widyowati & Agil, 2018; Elfahmi *et al.*, 2014). Jamu merupakan obat herbal asli Indonesia yang telah digunakan secara empiris untuk menjaga kesehatan dan menangani berbagai penyakit (Kartini *et al.*, 2019). Cina dan Korea Selatan telah menggunakan obat tradisional sebagai pedoman pencegahan dan terapi COVID-19 (Ang *et al.*, 2020). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa *Phyllanthus niruri* atau disebut dengan Meniran memiliki potensi inhibisi terhadap *herpes simplex virus* (HSV), *hepatitis B virus* (HBV), *hepatitis C virus* (HCV), dan *immunodeficiency virus* (HIV) manusia (Forero *et al.*, 2008; Tan *et al.*, 2013; Wahyuni *et al.*, 2019).

SARS-CoV-2 *main protease* (M^{pro}) atau *3-chymotrypsin-like protease* ($3CL^{pro}$) merupakan salah satu target obat terbaik dalam aksi farmakologis antiviral terhadap COVID-19 (Estrada, 2020; Qamar *et al.*, 2020). Inhibisi enzim ini akan menghentikan replikasi virus SARS-CoV-2 (Khaerunnisa *et al.*, 2020;

Ulrich & Nitsche, 2020). Beberapa inhibitor protease telah dikembangkan untuk menghentikan penyebaran virus yang menyebabkan penyakit HIV-AIDS, MERS, dan SARS (Zumla *et al.*, 2020). Namun, belum ada studi yang menguji jamu sebagai terapi COVID-19 melalui inhibisi M^{pro} SARS-CoV-2.

Tahap awal dari pengembangan obat dapat dilakukan dengan metode penambatan molekuler dan prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi, dan Toksisitas (ADMET). Penambatan molekuler merupakan metode untuk menganalisis interaksi antara senyawa kandidat obat dan target protein sehingga dapat memprediksi aktivitas atau inhibisi suatu enzim (Dar & Mir, 2017; Torres *et al.*, 2019). Selain itu, keberhasilan suatu pengembangan obat ditentukan oleh profil ADMET yang baik, karena kegagalan yang berhubungan dengan farmakokinetik kerap terjadi pada uji klinis (Moroy *et al.*, 2012).

2. METODE

2.1 Seleksi Senyawa Berdasarkan Prediksi ADMET

Sebanyak 283 senyawa bioaktif dari jamu yang biasa digunakan didapat dari penelitian sebelumnya dari Widyowati dan Agil pada tahun 2018 (Widyowati & Agil, 2018). SMILES senyawa bioaktif tersebut diambil dari pangkalan data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk disaring dengan prediksi ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme,

Ekskresi, dan Toksisitas) dan parameter *Lipinski's rule of five* menggunakan ProTox-II (<http://bioinf.apache.charite.de/main/index.php>) dan SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Banerjee, Eckert, Schrey & Preissner, 28; Daina, Michielin, & Zoete, 2017).

Seleksi prediksi ADMET dilakukan untuk menentukan kandidat obat yang tidak beracun dan memiliki profil farmakokinetik oral yang baik ditentukan oleh parameter berikut; penyerapan GI tinggi, skor bioavailabilitas 0.55, dikelompokkan dalam toksisitas kelas VI LD50 (lebih dari 5,000 mg/kg), non-karsinogenik, dan non-mutagenik (Daina, Michielin, & Zoete, 2017; Martin, 2005).

Sementara itu, *Lipinski's rule of five* digunakan untuk mengevaluasi kemiripan senyawa dengan karakteristik obat oral yang memiliki aktivitas biologis pada manusia. Aturan tersebut mengusulkan bahwa molekul harus mematuhi komponen berikut: 1) tidak lebih dari lima donor ikatan hidrogen 2) tidak lebih dari sepuluh akseptor ikatan hidrogen karena tingginya jumlah ikatan hidrogen dapat mengurangi partisi molekul dari fase larut air ke dalam membran bilayer lipid untuk permeasi dengan difusi pasif 3) kurang dari 500 Dalton massa molekul karena massa molekul tinggi mengurangi konsentrasi senyawa pada permukaan epitel usus yang mengurangi penyerapan 4) tidak lebih dari 5 logP (koefisien partisi oktanol-air), karena nilai logP tinggi

dapat menyebabkan penyerapan yang buruk (Lipinski, 2004; Liu dkk, 2019).

2.2 Preparasi Macromolekul dan Ligan untuk Penambatan Molekuler

12 ligan terpilih yang memenuhi kriteria tersebut kemudian digambar dengan menggunakan MarvinSketch (ChemAxon, 2018). Struktur 3D senyawa kemudian dioptimasi dengan penambahan medan gaya MMFF94 dan hidrogen polar, sebelum dikonversi ke *format .pdb oleh OpenBabel (O'Boyle et al., 2011).

Struktur kristal makromolekul M^{PRO} SARS-CoV-2 diambil dari RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB, <http://www.rcsb.org/>) dalam *format .pdb (PDB ID: 6LU7; Resolusi: 2.16 Å) dengan ligan *native* n-[(5-methylisoxazol-3-yl)carbonyl]alanyl-l-valyl-n~1~((1r,2z)-4-(benzyloxy)-4-oxo-1-[(3r)-2-oxopyrrolidin-3-yl]metil}but-2-enyl)-l-leucinamide (ID: PRD) (Jin et al., 2020). Makromolekul kemudian dioptimasi dengan menghapus molekul air dan ligan *native*, menggabungkan hidrogen nonpolar dan penambahan hidrogen polar dan muatan Gasteiger dengan AutoDock Vina.

2.3 Penambatan dan Analisis Molekuler

Validasi protokol penambatan molekuler dilakukan dengan men-

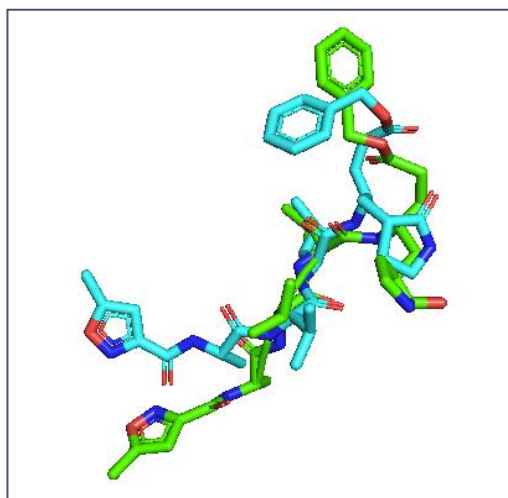
redocking ligan *native* ke makromolekul dan diukur dengan nilai RMSD-nya. Koordinat untuk protokol penambatan ini adalah $x = -9.732$, $y = 11.403$, $z = 68.483$. AutoDock Vina digunakan untuk penambatan ligan terhadap makromolekul dengan parameter Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dengan jumlah *run* 10 kali. AutoDock Vina adalah alat penambatan yang merupakan Autodock generasi berikutnya dan berjalan lebih cepat dengan lebih akurat daripada pendahulunya, AutoDock 4.0 (Trott & Olson, 2009). Protokol penambatan molekuler dinyatakan valid jika nilai RMSD dari superposisi *redocking* kurang dari 2 Å (Kroemer, 2007).

Parameter yang divariasikan dalam proses validasi adalah ukuran kotak grid (22.5 Å; 26.25 Å; 30 Å) dan *exhaustiveness* (8 dan 16). Parameter yang memiliki RMSD terendah dipilih sebagai parameter penambatan senyawa uji. Hasil penambatan dievaluasi melalui parameter energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Visualisasi interaksi protein-ligan dianalisis dengan menggunakan LigPlot+ dan PyMOL versi 1.7.4.5 untuk mengamati ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antara protein dan ligan (Laskowski, & Swindells, 2011; Delano & Ph, 2004).

3. HASIL

Tabel 1. Hasil Validasi Protokol Penambatan

	Ukuran <i>Exhaustiveness Grid Box</i>	RMSD (Å) (Å)
8	22,5	2,4623
	26,25	3,0429
	30	3,2999
16	22,5	3,9444
	26,25	1,7048
	30	5,4199



Gambar 1. Superposisi dari Ligan *Native PRD* (Hijau) dan Ligan Hasil *Redocking* (Biru)

Tabel 2. Hasil Penambatan dari Ligan Uji yang diperoleh dari Jamu, Ritonavir, dan Lopinavir

No.	Senyawa	ΔG (kcal/mol)	Ki (μM)
	Ritonavir	-7,8	0,71
	Lopinavir	-8,2	0,27
15	<i>Turmerone A</i>	-6,3	9,04
18	<i>Turmerone Q</i>	-6,2	10,87
76	<i>Dehydro-6-gingerdione</i>	-5,8	22,73
82	<i>Dehydrocurdione</i>	-5,9	18,9
85	<i>Curcumanolide A</i>	-5,5	39,52
86	<i>Curcumanolide B</i>	-5,8	22,73
99	<i>15-Hydroxyprocurcumenol</i>	-5,9	18,9
101	<i>(E)-Labda-8(17),12-diene-15,16-dial</i>	-5,6	32,86
137	<i>Curcuminol D</i>	-6,9	2,99
165	<i>4-oxo-β-isodamascol</i>	-4,9	119,44
184	<i>zerumbone epoxide</i>	-5,8	22,73
212	<i>Ethyl 4-methoxy-transcinnamate</i>	-5,3	57,14

Tabel 3. Senyawa Hasil Penapisan ADMET

No.	Senyawa	Toksistasitas			Lipinski's Rule of Five					Absorpsi GI	Skor BA
		LD50 (mg/kg)	Karsinogenisitas	Mutagenisitas	Berat Molekul (Da)	Donor Ikatan H	Akseptor Ikatan H	LogP			
15	<i>Turmerone A</i>	8800	Tidak	Tidak	266.38	2	3	2.41	Tinggi	0.55	
18	<i>Turmerone Q</i>	8800	Tidak	Tidak	252.35	2	3	1.99	Tinggi	0.55	
76	<i>Dehydro-6-gingerdione</i>	7900	Tidak	Tidak	290.35	2	4	3.45	Tinggi	0.56	
82	<i>Dehydrocurdione</i>	15000	Tidak	Tidak	234.33	0	2	3.00	Tinggi	0.55	
85	<i>Curcumanolide A</i>	6000	Tidak	Tidak	234.33	0	2	3.57	Tinggi	0.55	
86	<i>Curcumanolide B</i>	6000	Tidak	Tidak	234.33	0	2	3.56	Tinggi	0.55	
99	<i>15-Hydroxyprocurcumenol</i>	9000	Tidak	Tidak	250.33	2	3	1.89	Tinggi	0.55	
101	<i>(E)-Labda-8(17), 12-diene-15, 16-dial</i>	8120	Tidak	Tidak	302.45	0	2	4.25	Tinggi	0.55	
137	<i>Curcuminol D</i>	5010	Tidak	Tidak	302.45	1	2	3.86	Tinggi	0.55	
165	<i>4-oxo-β-isodamascol</i>	5010	Tidak	Tidak	208.3	1	2	2.49	Tinggi	0.55	
184	<i>Zerumbone epoxide</i>	20000	Tidak	Tidak	234.33	0	2	3.09	Tinggi	0.55	
212	<i>Ethyl 4-methoxy-transcinnamate</i>	7900	Tidak	Tidak	206.24	0	3	2.59	Tinggi	0.55	

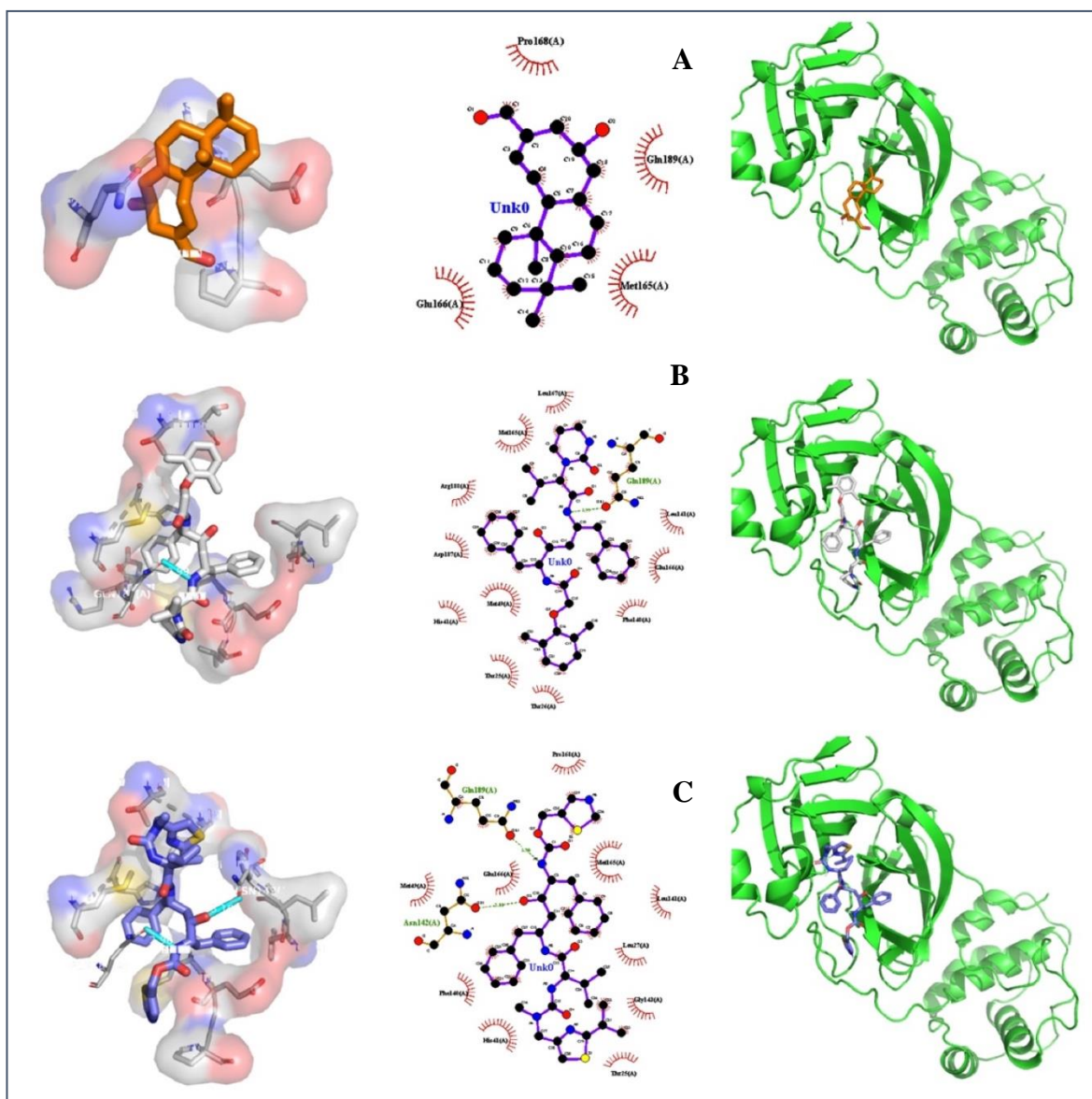
Tabel 4. Hasil Visualisasi Ligan Uji terhadap M^{pro} SARS-CoV-2

	LPN	RTN	15	18	76	82	85	86	99	101	137	165	184	212
Thr24	√	√												
Thr25	√	√												
Thr26	√	√					√			√				
Leu27		√					√							
His41	√	√	√	√		√	√		√					√
Thr45		√												
Ser46		√												
Met49	√	√	√	√		√	√		√	√			√	√
Tyr54			√	√										√
Phe140	√	√		√	√			√		√				√
Leu141	√	√	√		√	√	√	√		√		√		√
Asn142		3,10*	√		√	√	√	√		√		3,07*	√	
Gly143	√	√	3,11*		2,96*	√	√			√		3,03*	√	
Ser144			√		3,07*	√						2,90*		
Cys145			3,24*	√	3,31*	√	√	√		√		3,17*	√	
His163	√	√	√	√	√			3,02*		√		√	√	√
His164			√			√	√		√				√	√
Met165	√	√	√		√	√	√	√	√	√	√	√	√	√
Glu166	√	√		√	√	√		√	√	√	√	√		3,13*
Leu167	√													
Pro168	√	√									√			
His172										√				
Asp187	√		√	√	√				√					√
Arg188	√	√	√		3,10*				√					√
Gln189	2,99*	2,96*	√	√	√			√	√	√	√	√	√	√
Thr190	√	√												
Gln192	√	√												

* = jarak ikatan hidrogen, LPN = Lopinavir, RTN = Ritonavir, 15 = *Turnerone A*, 18 = *Turnerone Q*, 76 = *Dehydro-6-gingerdione*, 82 = *Dehydrocurdione*, 85 = *Curcumanolide A*, 86 = *Curcumanolide B*, 99 = *15-Hydroxyprocucumenol*, 101 = *(E)-Labda-8(17),12-*



diene-15,16-dial, 137 = Curcuminol D, 165 = 4-oxo- β -isodamascol, 184 = zerumbone epoxide, 212 = thyl 4-methoxy-transcinnamate



Gambar 2. Visualisasi 2D dan 3D dari (A) Curcuminol D, (B) Lopinavir, dan (C) Ritonavir Menggunakan Program Ligplot+ dan PyMOL

4. PEMBAHASAN

4.1 Penapisan Berdasarkan Prediksi ADMET terhadap Senyawa Bioaktif dari Jamu

Penapisan berdasarkan prediksi ADMET dan *Lipinski's Rule of Five* menghasilkan 12 senyawa yang

memenuhi kriteria (Tabel 1). Berdasarkan hasil prediksi, 12 senyawa ini memiliki tingkat absorpsi tinggi di saluran cerna, skor bioavailabilitas 0,55, diklasifikasikan ke dalam kelas VI LD50 (konsentrasi lebih dari 5.000 mg/kg), non-karsinogenik, non-mutagenik,

memiliki <5 donor ikatan hidrogen (kisaran 0-2), memiliki <10 akseptor ikatan hidrogen (kisaran 2-4), memiliki <500 Da massa molekul (kisaran 206,24-302,45 Da) dan <5 logP (kisaran 1,89-4,25) sehingga dinyatakan memenuhi kriteria penapisan.

Profil farmakokinetik sangat penting untuk memastikan senyawa dapat mengikat reseptor target di dalam tubuh dan telah dibuktikan bahwa prediksi ADME pada tahap awal proses penemuan obat baru dapat mengurangi tingkat kegagalan terkait farmakokinetik pada fase berikutnya (Daina, Michielin, & Zoete, 2017). Prediksi ADME oleh SwissADME yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi prediksi absorpsi melalui difusi pasif saluran gastro-intestinal manusia (Daina, Michielin, & Zoete, 2017) dan skor bioavailabilitas yang dapat diartikan sebagai probabilitas bahwa suatu senyawa akan memiliki >10% bioavailabilitas pada tikus atau permeabilitas pada Caco-2 (Martin, 2005).

Keamanan suatu obat juga menjadi faktor penting yang harus diperhatikan dalam pengembangan obat, terutama yang berkaitan dengan toksisitas obat dan efek sampingnya (Yang, Sun, Li, Liu, & Tang, 2018). Salah satu metode yang cepat dan hemat biaya untuk memprediksi toksisitas obat adalah menggunakan metode *in silico* berbasis *machine-learning* seperti ProTox-II (Banerjee, Eckert, Schrey & Preissner, 2018; Myatt et al., 2018). Prediksi toksisitas menggunakan ProTox-II yang

dilakukan pada penelitian ini meliputi prediksi nilai LD50, prediksi karsinogenisitas dan mutagenisitas. Perkiraan nilai LD50 adalah prediksi median dosis letal (mg/kgBB) yang didasarkan pada kemiripan rata-rata dengan tiga senyawa toksik paling mirip dari *dataset* dengan nilai toksisitas oral hewan pengerat yang telah diketahui. Prediksi karsinogenisitas melibatkan data dari *Carcinogenic Potency Database* (CPDB) dan *Chemical Effects in Biological Systems* (CEBS). Sedangkan prediksi mutagenisitas didasarkan pada kumpulan data dari uji Ames dan pangkalan data CEBS (Banerjee, Eckert, Schrey & Preissner, 2018).

Seiring dengan prediksi ADMET, kami memasukkan *Lipinski's Rule of Five* sebagai parameter penapisan untuk mengevaluasi *drug-likeness* dan untuk menentukan apakah suatu senyawa memiliki fitur kimia dan fisik yang mirip dengan obat yang dapat dikonsumsi secara oral oleh manusia (Lipinski, 2004). Parameter tersebut penting untuk diperhatikan dalam pengembangan obat karena penapisan awal senyawa dengan parameter tersebut dapat meningkatkan keefektifan proses penemuan obat karena menghilangkan masalah terkait struktur yang berkaitan dengan profil farmakokinetik dan toksisitas senyawa sejak tahap awal penemuan obat.

4.2 Penambatan Molekuler dan Analisis Senyawa Hasil Penapisan

Setelah didapatkan 12 senyawa yang memenuhi kriteria parameter ADMET dan *Lipinski's Rule of Five*, dilakukan penambatan molekul untuk melihat afinitas pengikatan antara ligan dan makromolekul M^{pro} SARS-CoV-2. Penambatan dilakukan dengan parameter tervalidasi yang memiliki nilai RMSD terendah. Nilai RMSD dinilai dari hasil superposisi *native ligand* dan hasil *redocking* (Tabel 2).

Dari hasil validasi, parameter dengan nilai *exhaustiveness* 8 dan ukuran *grid box* 26,25 Å memenuhi kriteria RMSD, yaitu bernilai di bawah 2 Å. Gambar superposisi *native ligand* dan hasil *redocking* validasi dapat dilihat pada Gambar 1. RMSD dibawah 2 Å menunjukkan bahwa hasil penambatan dapat diterima dan sesuai (Berry, Fielding, & Gamielien, 2015; Castro-Alvarez, Costa & Vilarrasa, 2017). Perhitungan RMSD bertujuan untuk melihat apakah metode yang digunakan secara komputasi dapat direplikasi untuk prosedur eksperimental (Lim, Rahman, & Tejo, 2011; Kroemer, 2007). Setelah parameter hasil validasi yang paling sesuai diperoleh, dilakukan penambatan molekul terhadap 12 senyawa hasil penapisan ADMET terhadap protein target.

Penambatan molekul dilakukan dengan ligan uji berupa 12 senyawa hasil penapisan serta Ritonavir

dan Lopinavir sebagai kontrol positif. Ritonavir dan Lopinavir merupakan obat antiretroviral untuk pasien AIDS dengan target enzim protease HIV (Valentin, 2020). Kombinasi Ritonavir dan Lopinavir digunakan pada penyakit SARS pada 2002 dan MERS pada 2012. Beberapa penelitian mengatakan kombinasi Ritonavir-Lopinavir dapat menghambat M^{pro} SARS-CoV-2 (Meini dkk., 2020). Selain itu, Ritonavir dan Lopinavir bersama dengan obat Nelfinavir, Ketoamide, dan Remdesivir berinteraksi dengan situs pengikatan M^{pro} SARS-CoV-2 (Mothay & Ramesh, 2020). Dari hasil penelitian sebelumnya, Ritonavir dan Lopinavir dianggap memberikan hasil terbaik sebagai kontrol positif dalam penghambatan M^{pro} SARS-CoV-2. Hasil penambatan molekul seluruh ligan uji dapat dilihat pada Tabel 3.

Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan pengamatan terhadap nilai energi bebas (ΔG) dan konstanta penghambatan (K_i) dari hasil penambatan molekul. Nilai ΔG dengan angka yang kecil atau minus menunjukkan adanya kemungkinan terbentuknya ikatan antara ligan dan makromolekul (Dos Santos, Ferreira, & Andricopulo, 2018). Nilai K_i menunjukkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan setengah dari nilai penghambatan maksimum. Semakin kecil nilai K_i , semakin kuat afinitas ligan terhadap makromolekul (Vargas, Lopez, Piñol, & Froeyen, 2018).

Dari hasil penambatan molekuler pada Tabel 3, dapat dilihat tiga senyawa dengan nilai ΔG dan K_i terendah, yaitu Curcuminol D (Senyawa 137) dengan nilai ΔG -6,9 kkal/mol dan K_i 2,99 μM , Turmerone A (Senyawa 15) dengan nilai ΔG -6,3 kkal/mol dan K_i 9,04 μM serta Turmerone Q (Senyawa 18) dengan nilai ΔG -6,2 kkal/mol dan K_i 10,87 μM . Turmerone A dan Turmerone Q memiliki struktur yang serupa, hanya memiliki perbedaan proyeksi -OH dan H pada bagian heksana. Pada senyawa Curcumanolide A (Senyawa 85) dan Curcumanolide B (Senyawa 86) yang hanya berbeda dari atom O pada bagian pentana, terdapat selisih -0,3 kkal/mol pada nilai ΔG -nya (-5,8 kkal/mol dan -5,5 kkal/mol). Hal tersebut mengartikan bahwa perbedaan proyeksi kimiawi dapat mempengaruhi nilai ΔG ligan.

Jika dibandingkan dengan kontrol positif, tidak ada senyawa ligan uji dari jamu yang memiliki nilai ΔG lebih rendah. Ritonavir dan Lopinavir memiliki nilai ΔG -7,8 kkal/mol dan -8,2 kkal/mol dan nilai K_i 0,71 μM dan 0,27 μM . Perbedaan nilai ΔG dari Curcuminol D dengan Ritonavir dan Lopinavir adalah -0,9 kkal/mol dan -1,3 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang diuji masih memerlukan modifikasi dan optimalisasi struktur untuk mendapatkan hasil yang lebih potensial. Selain itu, perluasan parameter ADMET dapat dilakukan sehingga lebih banyak senyawa yang dapat diuji terhadap M^{pro} SARS-CoV-2.

Selanjutnya, dilakukan pengamatan visualisasi 2D dan 3D dari kompleks ligan dan makromolekul untuk menentukan asam amino mana yang berperan dalam penghambatan M^{pro} SARS-CoV-2. Hasil visualisasi dapat dilihat pada Tabel 4. Visualisasi lengkap Ritonavir, Lopinavir, dan Curcuminol D dapat dilihat pada Gambar 2. Beberapa penelitian lain juga menunjukkan residu asam amino yang serupa dengan hasil penambatan Ritonavir dan Lopinavir. Interaksi Lopinavir dengan His41, Met49, Phe140, Leu141, His163, Met165, Glu166, Leu167, Pro168, Arg188, Gln189, Thr190, dan Gln192 M^{pro} SARS-CoV-2 juga disebutkan oleh Khaerunnisa dkk pada tahun 2020 (Khaerunnisa, Kurniawan, Awaluddin, & Suhartati, 2020). Selain itu, interaksi Ritonavir dengan His41, Asn142, Met165, Glu166, Pro168, dan Gln189 M^{pro} SARS-CoV-2 ditemukan oleh Muralidharan dkk pada tahun 2020 (Muralidharan, Sakthivel, Velmurugan, & Gromiha, 2020).

Berdasarkan hasil visualisasi yang telah dilakukan, tidak ada asam amino yang berinteraksi dengan seluruh ligan. Met165 merupakan asam amino yang memiliki interaksi paling banyak dengan ligan uji, yaitu sebanyak 13 ligan uji yang berinteraksi dengan Met165. Oleh karena itu, tidak dapat disimpulkan dengan pasti asam amino mana yang berperan sebagai tempat pengikatan utama pada protein. Gln189 membentuk ikatan hidrogen dengan Ritonavir dan Lopinavir dan juga berinteraksi dengan

sebagian besar ligan uji sehingga perannya dalam penghambatan M^{PRO} SARS-CoV-2 dapat diteliti lebih lanjut. Curcuminol D yang hanya berinteraksi dengan Met165, Glu166, Pro168, dan Gln189 dapat menghasilkan nilai ΔG yang lebih rendah dibandingkan senyawa uji lainnya. Keempat peran asam amino tersebut juga berkaitan dengan Ritonavir dan Lopinavir sehingga fungsinya sebagai tempat katalitik dapat dipelajari lebih lanjut.

Dehydro-6-gingerdione

(Senyawa 76) and 4-oxo- β -isodamascol (Senyawa 165) membentuk banyak ikatan hidrogen tetapi tidak memiliki ΔG yang lebih rendah dari Curcuminol D. Berdasarkan visualisasi interaksi ligan dengan makromolekul, terdapat kemungkinan terhambatnya M^{PRO} SARS-CoV-2 dipengaruhi oleh sifat sterik struktur ligan uji. Hal ini ditunjukkan dengan Curcuminol D yang lebih sterik tetapi kurang elektrofilik yang memiliki nilai ΔG yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan uji lainnya. Hal ini juga didukung oleh bukti bahwa Ritonavir dan Lopinavir memiliki struktur sterik dibandingkan ligan lainnya.

5. KESIMPULAN

COVID-19 saat ini merupakan pandemi yang pertama kali muncul di Wuhan, China, dan menyebar ke seluruh dunia. Meski demikian, masih belum ada terapi anti-COVID-19 yang spesifik dan terapi antivirus yang efektif masih kurang. Oleh karena itu, senyawa kimia

dalam jamu yang diketahui memiliki aktivitas antivirus dapat menjadi terapi antivirus yang potensial untuk COVID-19. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa Curcuminol D memiliki ΔG dan K_i terendah (-6,9 kkal/mol dan 2,99 μM) terhadap M^{PRO} SARS-CoV-2 diantara semua ligan uji, meskipun ΔG dan K_i -nya lebih tinggi daripada yang dimiliki Lopinavir dan Ritonavir. Namun, 271 senyawa lain yang belum diketahui potensinya dapat diteliti lebih jauh.

6. SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi Curcuminol D sebagai inhibitor M^{PRO} SARS-CoV-2 seperti studi simulasi dinamika molekuler, studi *in vitro* ataupun studi *in vivo* serta diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui potensi senyawa alami untuk mengobati COVID-19. Studi ini merupakan titik awal dari proses penemuan obat dari senyawa alami untuk mengobati COVID-19.

7. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ibu apt. Widya Dwi Aryati, M.Si. atas bimbingannya dan kepada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia yang telah mendukung penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ahmad, S., Abbasi, H. W., Shahid, S., Gul, S., & Abbasi, S. W. (2020). Molecular docking, simulation and MM-PBSA studies of nigella sativa compounds: a computational quest



- to identify potential natural antiviral for COVID-19 treatment. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 0(0), 1–9. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1775129>
- [2] Alanagreh, L., Alzoughool, F., & Atoum, M. (2020). The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristic, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanism. *Pathogens*, 9(5), 331. <https://doi.org/10.3390/pathogens9050331>
- [3] Ang, L., Lee, H. W., Choi, J. Y., Zhang, J., & Lee, M. S. (2020). Herbal medicine and pattern identification for treating COVID-19: a rapid review of guidelines. *Integrative Medicine Research*, 9(2), 100407. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2020.100407>
- [4] Banerjee, P., Eckert, A. O., Schrey, A. K., & Preissner, R. (2018). ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic acids research*, 46(W1), W257–W263. <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>
- [5] Berry, M., Fielding, B., & Gamielien, J. (2015). Practical Considerations in Virtual Screening and Molecular Docking. *Emerging Trends in Computational Biology, Bioinformatics, and Systems Biology: Algorithms and Software Tools*, 487-502. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802508-6.00027-2>
- [6] Booth, C. M., Matukas, L.M., Tomlinson, G., Rachlis, A.R., Rose, D.B.; Dwosh, H.A., Walmsley, S., Mazzulli, T., Avendano, M., Derkach, P., *et al.* (2003). Clinical Features and Short-term Outcomes of 144 Patients with SARS in the Greater Toronto Area. *The Journal of the American Medical Association*, 289(21), 2801. <https://doi.org/10.3390/molecules222010136>
- [7] ChemAxon. (2019). MarvinSketch. Diakses dari <http://www.chemaxon.com>
- [8] Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7, 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- [9] Dar, A. M., & Mir, S. (2017). Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 8, 356. <https://doi.org/10.4172/2155-9872.1000356>
- [10] DeLano, W. L. (2002). The PyMOL Molecular Graphics System. DeLano Scientific, San Carlos, CA.
- [11] dos Santos, R. N., Ferreira, L. G., & Andricopulo, A. D. (2018). Practices in molecular docking and structure-based virtual screening. *Methods in Molecular Biology*, 1762, 31-50.



- [12]Elfahmi, Woerdenbag, H. J., & Kayser, O. (2014). Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational phytopharmacological use. *Journal of Herbal Medicine*, 4(2), 51-73.
<https://doi.org/10.1016/j.hermed.2014.01.002>
- [13]Estrada, E. (2020). Topological analysis of SARS CoV-2 main protease. *Chaos*, 30, 061102.
<https://doi.org/10.1063/5.0013029>
- [14]Eynde, J. J. V. (2020). COVID-19: A Brief Overview of the Discovery Clinical Trial. *MDPI Pharmaceuticals*, 13, 65.
<https://doi.org/10.3390/ph13040065>
- [15]Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421.
<https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- [16]Forero, J. E., Avila, L., Taborda, N., Tabares, P., Lopez, A., Torres, F., Quinones, W., Bucio, M. A., Mora-Perez, Y., Rugeles, M. T., Joseph-Nathan, P., Echeverri, F. (2008). In vitro anti-influenza screening of several Euphorbiaceae species: Structure of a bioactive Cyanoglucoside from *Codiaeum variegatum*. *Phytochemistry*, 69(16), 2815-2819.
- [17]Frediansyah, A., Tiwari, R., Sharun, K., Dhama, K., & Harapan, H. (2020). Clinical Epidemiology and Global Health: Antiviral for COVID-19: A Critical Review. *Clinical Epidemiology and Global Health*.
<https://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.07.006>
- [18]Hall, D. C. Jr., & Ji, H. F. (2020). A search for medications to treat COVID-19 via *in silico* molecular docking models of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein and 3CL protease. *Travel medicine and infectious disease*, 35, 101646.
<https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101646>
- [19]Jin, Z., Du, X., Xu, Y., Deng, Y., Liu, M., Zhao, Y., & Yang, H. (2020). Structure of Mpro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. *Nature*, 582, 289-293.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2223-y>
- [20]Jomah, S., Asdaq, S. M. B., Al-Yamani, M. J. (2020). Clinical Efficacy of Antivirals Against Novel Coronavirus (COVID-19): A Review. *Elsevier Journal of Infection and Public Health*, 13(9), 1187-1195.
<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.013>
- [21]Kartini, K., Jayani, N. I. E., Octaviyanti, N. D., Krisnawan, A. H., & Avanti, C. (2019). Standardization of Some Indonesian Medicinal Plants Used in “Scientific Jamu”. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 391, 012042.
<https://doi.org/10.1088/1755-1315/391/1/012042>

- [22]Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Coronavirus Disease (COVID-19). *Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- [23]Khaerunnisa, S., Kurniawan, H., Awaluddin, R., & Suhartati, S. (2020). Potential Inhibitor of COVID-19 Main Protease (Mpro) from Several Medicinal Plant Compounds by Molecular Docking Study. *Preprints*.
<https://doi.org/10.20944/preprints202003.0226.v1>
- [24]Kroemer, R. T. (2007). Structure-Based Drug Design: Docking and Scoring. *Current Protein & Peptide Science*, 8(4),312.
<https://doi.org/10.2174/138920307781369382>
- [25]Laskowski R A, & Swindells M B (2011). LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J. Chem. Inf. Model.*, 51, 2778-2786.
<https://doi.org/10.1021/ci200227u>
- [26]Li, Y., Xie, Z., Lin, W., Cai, W., Wen, C., Guan, Y., Mo, X., Wang, J., Wang, Y., Peng, P., Chen, X., Hong, W., Xiao, G., Liu, J., Zhang, L., Hu, F., Li, F., Zhang, F., Deng, X., & Li, L. (2020). Efficacy and Safety of Lopinavir/Ritonavir or Arbidol in Adult Patients with Mild/Moderate COVID-19: An Exploratory Randomized Controlled Trial. *Med Clinical Advances*.
<https://doi.org/10.1016/j.medj.2020.04.001>
- [27]Lim, S. V., Rahman, M. B. A., & Tejo, B. A. (2011). Structure-based and ligand-based virtual screening of novel methyltransferase inhibitors of the dengue virus. *BMC Bioinformatics*, 12(SUPPL. 13).
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-12-S13-S24>
- [28]Lipinski CA (2004). Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1 (4), 337–341.
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>. PMID 24981612.
- [29]Liu Y-Ya, Feng X-Yan, Jia W-Qing, Jing Z, Xu W-Ren, & Cheng X-Chao. (2019). Identification of novel PI3K inhibitors by docking, ADMET prediction and molecular dynamics simulations, *Computational Biology and Chemistry*, 78, 190-204.
<https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.12.002>
- [30]Martin, Y. C. (2005). A Bioavailability Score. *J. Med. Chem*, 48, 3164-3170.
<https://doi.org/10.1021/jm0492002>
- [31]Meini, S., Pagotto, A., Longo, B., Vendramin, I., Pecori, D., & Tascini, C. (2020). Role of Lopinavir/Ritonavir in the Treatment of Covid-19: A Review of Current Evidence, Guideline Recommendations, and Perspectives. *Journal of Clinical Medicine*, 9(7), 2050.
<https://doi.org/10.3390/jcm9072050>

- [32]Michele, C. A., Teresa, M., Pasquale, D. L., Matteo, C., Michele, D. P., Giovanni, M., & Angelo, B. (2020). Pharmacological Approach and Therapeutic Options for SARS-CoV-2 Infection. *World of Journal of Advanced Research and Reviews*, 6(1), 105-119. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2020.6.1.0089>
- [33]Moroy, G., Martiny, V. Y., Vayer, P., Villoutreix, B. O., & Miteva, M. A. (2012). Toward *in silico* structure-based ADMET prediction in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 17, 1-2, 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.10.023>
- [34]Mothay, D., & Ramesh, K. V. (2020). Binding site analysis of potential protease inhibitors of COVID-19 using AutoDock. *VirusDisease*, 31(2), 194–199. <https://doi.org/10.1007/s13337-020-00585-z>
- [35]Muralidharan, N., Sakthivel, R., Velmurugan, D., & Gromiha, M. M. (2020). Computational studies of drug repurposing and synergism of lopinavir, oseltamivir and ritonavir binding with SARS-CoV-2 protease against COVID-19. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 0(0), 1–6. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1752802>
- [36]Myatt, G. J., Ahlberg, E., Akahori, Y., Allen, D., Amberg, A., Anger, L. T., Aptula, A., Auerbach, S., Beilke, L., Bellion, P., Benigni, R., Bercu, J., Booth, E. D., Bower, D., Brigo, A., Burden, N., Cammerer, Z., Cronin, M. T. D., Cross, K. P., & Hasselgren, C. (2018). *In silico* toxicology protocols. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 96, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.014>
- [37]O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An Open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 3(10), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- [38]Otake, T., Mori, H., Morimoto, M., Ueba, N., Sutardjo, S., Kusumoto, I.T., Hattori, M., & Namba, T. (1995). Screening of Indonesian plant-extracts for anti-human-immunodeficiency-virus type-1 (HIV-1) activity. *Phytotherapy research*, 9, 6-10. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650090103>
- [39]Principi, N., & Esposito, S. (2020). Chloroquine or Hydroxychloroquine for Prophylaxis of COVID-19. *The Lancet*, 20(10), 1118. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30296-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30296-6)
- [40]Qamar, M. T., Alqahtani, S. M., Alamri, M. A., & Chen, L. (2020). Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(4),

- 313-319.
<https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.009>
- [41] Sirisha, N., Sreenivasulu, M., Sangeeta, K., & Chetty, C. M. (2010). Antioxidant properties of Ficus Species - a review. *International Journal of PharmTech Research*, 2(4), 2174-2182.
- [42] Tan, E. L. C., Ooi, E. E., Lin, C. Y., Tan, H. C., Ling A. E., Lim, B., & Stanson L. W. (2004). Inhibition of SARS Coronavirus Infection In Vitro with Clinically Approved Antiviral Drugs. *Emerging Infectious Diseases*, 10(4), 581-586.
<https://doi.org/10.3201/eid1004.030458>
- [43] Tan, W. C., Jaganath, I. B., Manikam, R., & Sekaran, S. D. (2013). Evaluation of Antiviral Activities of Four Local Malaysian Phyllanthus Species against Herpes Simplex Viruses and Possible Antiviral Target. *Int J Med Sci*, 10(13), 1817-1829.
<https://doi.org/10.7150/ijms.6902>
- [44] Torres, P., Sodero, A., Jofily, P., & Silva-Jr, F. P. (2019). Key Topics in Molecular Docking for Drug Design. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4574.
<https://doi.org/10.3390/ijms20184574>
- [45] Trott, O., & Olson, A. J. (2009). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461.
<https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- [46] Ulrich, S., & Nitsche, C. (2020). The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 30(17), 127377.
<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127377>
- [47] United State Food and Drug Administration. (2020). Coronavirus Treatment Acceleration Program (CTAP). Diakses pada 1 September 2020, dari <https://www.fda.gov/drugs/coronavirus-covid-19-drugs/coronavirus-treatment-acceleration-program-ctap>
- [48] Valentin, F. (2020). Lopinavir/Ritonavir and COVID-19. *ResearchGate*, (April).
<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.14844.69767>
- [49] Vargas, J. A. R., Lopez, A. G., Piñol, M. C., & Froeyen, M. (2018). Molecular docking study on the interaction between 2-substituted-4,5-difuryl Imidazoles with different protein target for antileishmanial activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(3), 14–22.
- [50] Wahyuni, T. S., Azmi, D., Permanasari, A. A., Adianti, M., Tumewu, L., Widiandani, T., Utsubo, C. A., Widyawaruyanti, A., Fuad, A., & Hotta, H. (2019). Anti-viral activity of *Phyllanthus niruri* against hepatitis C virus. *Malaysian Applied Biology*, 48(3): 105-111.

- [51]Widyowati, R., & Agil, M. (2018). Chemical Constituents and Bioactivities of Several Indonesian Plants Typically Used in Jamu. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 66(5), 506–518. <https://doi.org/10.1248/cpb.c17-00983>
- [52]Worldometer. (2020). Coronavirus Update (Live): 25,386,928 Cases and 850,592 Deaths from COVID-19 Virus Pandemic - Worldometer. Diakses pada 1 September 2020, dari <https://www.worldometers.info/coronavirus/>
- [53]World Health Organization. (2020). COVID-19 Strategy Update. *World Health Organization*.
- [54]World Health Organization. (2020). “Solidarity” Clinical Trial for COVID-19 Treatments. Diakses pada 1 September 2020, dari <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/global-research-on-novel-coronavirus-2019-ncov/solidarity-clinical-trial-for-covid-19-treatments>
- [55]Yang, H., Sun, L., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2018). In Silico Prediction of Chemical Toxicity for Drug Design Using Machine Learning Methods and Structural Alerts. *Frontiers in Chemistry*, 6, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00030>
- [56]Zhang, L., & Liu, Y. (2020). Potential Interventions for Novel Coronavirus in China: A Systemic Review. *Journal of Medical Virology*, 92(2020), 479-490. <https://doi.org/10.1002/jmv.25707>
- [57]Zheng, J. (2020). SARS-CoV-2: An Emerging Coronavirus that Causes a Global Treat. *International Journal of Biological Sciences*, 16(10), 1678-1685. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45053>
- [58]Zumla, A., Chan, J.F.W., Azhar, E.I., Hui, D.S.C., & Yuen, K. (2016). Coronaviruses – drug discovery and therapeutic options. *Nature Reviews Drug Discovery*, 15, 327-347. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.37>

ABSTRAK

Bahan alam merupakan sumber senyawa aktif dan obat yang baik. Kajian kandungan tumbuhan sangat menarik dalam ditemukannya senyawa aktif terutama untuk terapi pada penyakit asma. Asma merupakan penyakit kronis dengan gejala mengi, sesak napas, dada sesak, dan batuk. Ada beberapa mekanisme kerja senyawa anti-asma, yaitu penghambat reseptor H₁ dan H₂, penurunan kadar imunoglobulin E, mediator inflamasi, pencegahan sekresi sitokin T_H2, dan mekanisme spesifik lainnya. Metode yang digunakan berupa tinjauan pustaka. Studi tinjauan pustaka dilakukan dengan mencari beberapa kata kunci seperti tumbuhan herbal, anti-asma, *medicinal plants*, *antiasthmatic activity*, dan lain-lain pada *database* elektronik termasuk *ClinicalKey*, *Science Direct*, *PubMed*, dan *Google Scholar*. Data yang diperoleh dikumpulkan, dianalisis, dan disimpulkan sehingga didapatkan data dan penjelasan tentang tumbuhan potensial yang ditemukan di seluruh Asia sebagai sumber alternatif pengobatan asma. Tiga puluh jenis tumbuhan obat tradisional di Asia yang berpotensi memiliki aktivitas anti-asma berhasil diperoleh dengan berbagai macam mekanisme kerja. Data mengenai aktivitas tumbuhan yang dikumpulkan dalam tinjauan pustaka ini menunjukkan penggunaannya sebagai bagian dari strategi pengobatan herbal alternatif dan sumber pengobatan asma.

Kata kunci: tumbuhan obat tradisional, Asia, anti-asma, fitokimia.

ABSTRACT

Natural ingredients are a good source of active compounds and drugs. The study of plant content is very interesting in the discovery of active compounds, especially for therapy in asthma. Asthma is a chronic disease with symptoms of wheezing, shortness of breath, chest tightness, and coughing. There are several mechanisms of action of anti-asthma compounds related to the types of asthma, namely H₁ and H₂ receptor inhibitors, reducing immunoglobulin E levels, inflammation mediators, preventing secretion of cytokine T_H2, and other specific mechanisms. The method used is literature study. The study was conducted by searching keywords such as herbs, anti-asthma, medicinal plants, and anti-asthmatic activity on electronic databases including ClinicalKey, Science Direct, PubMed, and Google Scholar. Therefore, data and explanations about potential medicinal plants found throughout Asia as alternative sources of asthma treatment were obtained. Thirty types of traditional medicinal plants in Asia that have the anti-asthma activity potential to have been obtained by various mechanisms of action. The plants activity data collected in this literature review indicate their use as an alternative source of asthma treatment.

Keyword: medicinal plants, Asia, anti-asthmatic, phytochemicals.

1. PENDAHULUAN

Asma adalah penyakit kronis yang umum terjadi tetapi berpotensi serius untuk manusia. Gejala asma terjadi dalam berbagai variasi dari waktu ke waktu dalam kejadian, frekuensi, dan

intensitas seperti mengi, sesak napas, sesak dada, dan batuk. Gejala-gejala ini berhubungan dengan kesulitan menghirup udara pada paru-paru akibat bronkokonstriksi, penebalan dinding

saluran napas, dan peningkatan lendir.[1]

Ada empat jenis utama asma, yaitu asma atopik, asma non-atopik, asma akibat obat, dan asma akibat kerja. Berdasarkan data *World Health Organization* terdapat lebih dari 339 juta orang yang hidup dengan asma. Lebih dari 80% kematian terkait asma terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah ke bawah. Artinya jutaan orang telah meninggal karena asma. Perawatan dan manajemen asma yang efektif diperlukan untuk menyelamatkan hidup. Oleh karena itu, pengobatan asma masih perlu dievaluasi dan perlu diperhatikan terutama pada penanganannya.[2]

Tumbuhan obat penting dalam bidang pengobatan dan penyembuhan penyakit. Pengalaman praktis dan beberapa studi penelitian modern menunjukkan bahwa terapi menggunakan tumbuhan lebih baik daripada bahan kimia sintetis. Obat-obatan kimia sintetis, walaupun berkhasiat dalam manajemen klinis banyak penyakit, sering kali dikaitkan dengan efek samping yang tidak diinginkan.[3,4]

Eksplorasi tumbuhan obat dalam konteks ilmu pengetahuan modern dilakukan atas dasar perlunya pemanfaatan tumbuhan obat tradisional secara optimal dan tepat. WHO menyadari bahwa sediaan jamu dapat memenuhi resolusi untuk meningkatkan kualitas dan khasiat tumbuhan obat.[5]

Tumbuhan obat potensial dapat

dicari dengan menggunakan tiga pendekatan, yaitu yang erat kaitannya dengan pola makan (bahan makanan), praktik kedokteran (obat tradisional dan herbal), dan penelitian ilmiah (analisis fitokimia). Fokus penelitian ini adalah mengkaji penelitian ilmiah dengan analisis fitokimia untuk mengetahui potensi aktivitas anti-asma pada tumbuhan obat.[2]

Tumbuhan memiliki komponen bioaktif yang disebut sebagai fitokimia. Berdasarkan dari fitokimia tersebut dapat diketahui sifat dan manfaat tumbuhan terhadap kesehatan. Fitokimia adalah zat yang diturunkan dari tumbuhan, seperti polifenol dan flavonol, yang memiliki berbagai sifat bioaktif.[6,7]

Penulisan tinjauan pustaka ini bertujuan untuk mengumpulkan data dan penjelasan tentang tumbuhan obat anti-asma yang terdapat di seluruh Asia berdasarkan kandungan fitokimia dan mekanisme kerjanya. Data-data yang diperoleh kemudian dirangkum berdasarkan mekanisme kerjanya dalam mencegah serangan atau pengendalian perkembangan asma.

2. METODE

Jenis data yang digunakan adalah data sekunder. Metode pengumpulan data adalah studi pustaka. Studi tinjauan pustaka dilakukan dengan mencari beberapa kata kunci seperti tumbuhan herbal, anti-asma, *medicinal plants*, *antiasthmatic activity*, dan lain-lain pada *database* elektronik termasuk

ClinicalKey, Science Direct, PubMed, dan Google Scholar. Artikel penelitian yang ditinjau diterbitkan dalam 15 tahun terakhir. Metode yang digunakan dalam pengumpulan data dimulai dengan mengumpulkan referensi yang relevan mengenai tumbuhan obat yang terdapat di seluruh Asia yang memiliki potensi aktivitas anti-asma dalam mencegah serangan atau pengendalian perkembangan asma. Data yang dikumpulkan berupa kandungan fitokimia beserta mekanismenya. Literatur lain seperti buku, artikel ilmiah, dan laporan digunakan untuk pengembangan konsep dan gagasan.

Data yang telah terkumpul kemudian dianalisis, dibandingkan, dan dikembangkan. Kumpulan data akhir tersebut digunakan untuk menyusun diskusi secara deskriptif dan kemudian diringkas berdasarkan mekanisme kerja anti-asma dan fitokimianya.

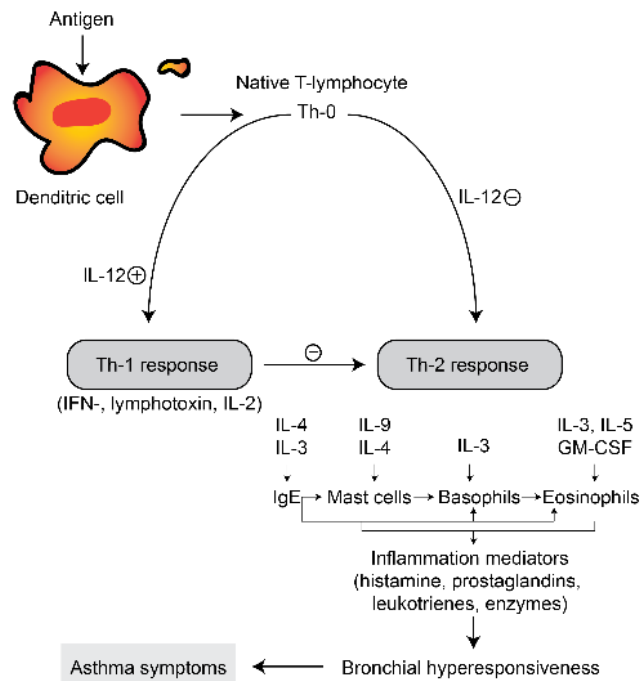
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Asma merupakan penyakit kronis yang paling umum dengan banyak variasi. Penyakit ini ditandai dengan peradangan saluran napas kronis. Asma memiliki dua ciri utama yang menentukan, yaitu riwayat gejala pernapasan seperti sesak napas, dada sesak, batuk hebat yang bervariasi dari waktu ke waktu; dan pembatasan aliran udara ekspirasi variabel. Ada lebih dari 339 juta orang yang hidup dengan asma. Lebih dari 80% kematian terkait asma terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah ke bawah.

Artinya jutaan orang telah meninggal dunia karena asma dan kita masih perlu memeriksanya.^[4,1]

Asma terjadi dalam dua gelombang reaksi, yaitu fase awal (langsung) dan fase akhir. Reaksi awal adalah bronkokonstriksi, peningkatan produksi lendir dan vasodilatasi yang bervariasi. Reaksi fase akhir terdiri dari peradangan, dengan aktivasi eosinofil, neutrofil, dan sel T. Selain itu, sel epitel diaktifkan untuk menghasilkan kemokin yang mendorong perekrutan lebih banyak sel T_H2 dan eosinofil.^[2]

Ada empat jenis utama asma yaitu asma atopik adalah jenis asma yang paling umum, biasanya dimulai pada masa anak-anak dan merupakan contoh klasik reaksi hipersensitivitas yang dimediasi oleh imunoglobulin E (IgE) tipe I. Penyakit ini dipicu oleh antigen lingkungan, seperti debu, serbuk sari, bulu binatang, makanan, dan Infeksi. Asma non atopik adalah jenis asma yang disebabkan oleh infeksi virus dan polutan udara yang dihirup yang juga dapat memicu asma atopik. Asma yang diinduksi obat yang disebabkan oleh agen farmakologis seperti aspirin yang dapat menghambat jalur siklooksigenase dari metabolisme asam arakidonat tanpa mempengaruhi jalur lipoksigenase, sehingga menggeser keseimbangan produksi ke arah leukotrien yang menyebabkan kejang bronkial. Asma kerja, jenis asma ini dirangsang oleh paparan berulang kali terhadap asap organik, debu kimia (kayu, kapas, platina), dan gas (toluena).^[2]



Gambar 1. Patogenesis asma

Tumbuhan obat adalah tanaman yang digunakan untuk tujuan perawatan kesehatan baik dalam sistem pengobatan modern maupun tradisional dan mencakup berbagai spesies yang digunakan termasuk bumbu, makanan, aromatik, dan kosmetik. Praktik pengobatan tradisional di Asia telah ada sejak jaman dahulu, contoh klasiknya yaitu Ayurveda (Himalaya), Jamu (Indonesia), Pengobatan Tradisional Cina / TCM (Cina), Kampo (Jepang), Pengobatan Thailand (Thailand), dan Pengobatan Herbal (Bangladesh).^[8,9,10] Oleh karena itu, Asia memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan tumbuhan obat dalam berbagai aktivitas seperti anti-asma. Sebagai salah satu pusat *bioresource* penting di dunia, Asia

menyumbang lebih dari 38.660 spesies tumbuhan obat dan sekitar 78 spesies ditanam dan dipublikasikan. Secara historis, jamu memiliki peran penting dalam pengobatan asma. Berbagai turunan dari tumbuhan obat diidentifikasi sebagai obat anti-asma dan beberapa mekanisme kerjanya dipelajari dengan sangat baik.^[12,13,14,11]

Tumbuhan obat yang memiliki aktivitas anti-asma telah ditemukan dan didapatkan sejumlah 30 jenis tumbuhan di seluruh Asia (Tabel 1) dan berpotensi dalam pengobatan asma. Tumbuhan obat tersebut dikategorikan berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap aktivitas anti-asma didukung dengan kandungan senyawa fitokimianya.

Tabel 1. Daftar tumbuhan obat dengan aktivitas anti-asma

No	Nama Tumbuhan	Senyawa Fitokimia	Negara Pengguna	Sumber
Penghambat reseptor H₁ dan H₂				
1.	<i>Abrus precatorius</i>	Lektin dan triterpenoid saponin	India	[05], [16][15]
2.	<i>Adhatoda vasica</i>	<i>Quinazoline alkaloids vasicine, betaine, steroids, triterpines,</i> dan flavonoid (apigenin, astragalin, kaempferol, <i>quercetin, vitexin</i>)	India	[17]
3.	<i>Ailanthus excelsa</i>	Flavonoid, quassinoida, alkaloid, terpenoid, sterol dan saponin	China	[18]
4.	<i>Aerva lanata</i>	β -sitosterol palmitat, α -amyirin, β -sitosterol, steroid, flavonoid, alkaloid, dan saponin	India, Filipina	[19], [20][19]
5.	<i>Alternanthera sessilis</i>	β -karoten, α dan β spinasterol, β -sitosterol, dan stigmasterol, <i>campesterol</i>	India, Thailand	[21], [22]
6.	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	Flavonoid, saponin, <i>tannin</i> , dan alkaloid	Indonesia, Taiwan	[23], [24], [25][23]
7.	<i>Clitoria ternatea</i>	β -karoten, stigmast-4-ene-3, 6, diene, taraxerol, <i>teraxerone, tannin,</i> dan resin	China	[26]
8.	<i>Ficus racemosa</i>	β -sitosterol	India	[27]
9.	<i>Leptadenia reticulata</i>	β -sitosterol	India	[28]
10.	<i>Physalis angulata</i>	Alkaloid, flavonoid dan steroid	India	[29]
11.	<i>Piper longum</i> Linn.	Alkaloid, flavonoid, glikosida, dan steroid	India	[30]
12.	<i>Polyscias fruticosa</i>	Glikosida (saponin dan <i>cyanogenetic</i>), alkaloid, dan sterol	Malaysia, India	[31], [32]
13.	<i>Portulaca oleracea</i> Linn.	<i>Tannin</i> , steroid, flavonoid, saponin, dan alkaloid	Malaysia	[33]
14.	<i>Vitex negundo</i>	Viridiflorol, p-caryophyllene, 4-terpineol, linalool, globulol, elemol, <i>fJ-farnesene,</i> dan <i>aromadendrene</i>	China, India	[34], [35]
Mengurangi kadar IgE				
15.	<i>Achyranthes aspera</i>	Flavonoid	India	[36]
16.	<i>Ailanthus altissima</i>	<i>Scopoletin, quercetin, dan luteolin-7-O-glucoside</i>	China	[37]
17.	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	<i>18β-Glycyrrhetic acid (18Gly)</i>	China	[38]
18.	<i>Hyssopus officinalis</i>	Apigenin, <i>quercetin,</i> diosmin, luteolin, dan glukosida	China	[39]

19.	<i>Sophorae flavescens</i>	Formononetin	China	[40]
Menghambat pelepasan mediator inflamasi				
20.	<i>Gleditsia sinensis</i>	Stigmasterol, glikosida asam, dan flavonoid	China, Korea	[41][41], [42] Error! Reference source not found. , [43], [44]
21.	<i>Hemidesmus indicus</i>	Glikosida pregnan, coumarino-lignoid, terpenoid, dan sterol	India	[45]
Mencegah sekresi sitokin T_H2				
22.	<i>Zizyphus jujuba</i>	Cyclic nucleotides (guanosine 3, 5-cyclic monophosphate dan adenosine 3, 5-cyclic monophosphate), <i>Zizyphus saponins I, II dan III, p-coumaroylates of aliphatic acid</i> , dan JB	China	[46], [47], [48]
23.	<i>Alpinia galanga</i>	1'-acetoxychavicol acetate	India	[49]
Lain-lain				
24.	<i>Centella asiatica</i>	Asam asiatica, madecassic acid, asiaticoside, dan madecassoside	Indonesia	[50]
25.	<i>Moringa oleifera</i>	Isothiocyanate dan glucosinolate	Indonesia	[51]
26.	<i>Ocimum gratissimum</i>	Flavonoid, stilbenes, dan asam fenolat	India, Indonesia	[52], [53], [54]
27.	<i>Picrorhiza kurroa</i>	Tannin, saponin, sterol/triterpen, alkaloid, curcubitacin glikosida, flavonoid, senyawa polifenol, dan iridoid glikosida	China	[55], [56]
28.	<i>Euphorbia thymifolia</i>	Saponin, flavonoid, polifenol, dan glikosida	Thailand	[57]
29.	<i>Curcuma longa</i>	Kurkumin	India, Indonesia	[58]
30.	<i>Pistacia integerrima</i>	Karotenoid, triterpenoid, dan katekin	India	[59]

Efek terapeutik dari tumbuhan obat tergantung pada bahan yang ada di bagian tumbuhan, seperti adanya saponin dan flavonoid yang dapat menghasilkan aktivitas anti-asma. Saponin dilaporkan memiliki stabilisasi sel mast dan beberapa flavonoid telah terbukti memiliki relaksan otot polos dan aktivitas bronkodilator. [8, 55]

Senyawa fitokimia dapat membedakan sifat dan aktivitas dari suatu tumbuhan. Mekanisme molekuler fitokimia telah diteorikan secara konvensional oleh efeknya pada enzim, reseptor, saluran ion, transporter, dan jalur biologis. Fitokimia sebagai zat bioaktif pada tumbuhan obat umumnya berinteraksi dengan membran

biomimetik biologis dan buatan untuk memodifikasi sifat fisikokimia membran, sesuai dengan sifat farmakologisnya.^[6]

Aktivitas asma memiliki empat mekanisme utama kelompok aksi dan mekanisme lainnya. Kelompok pertama adalah penghambat reseptor H₁ dan H₂, hipersensitivitas bronkial yang menyebabkan peradangan dan spasme bronkial yang merupakan bahan eksogen dan bahan yang tidak diketahui yang memiliki aktivitas anti-asma dengan mekanisme ini dievaluasi dengan studi *in-vivo* dan *in-vitro* pada subjek yang berbeda.^[59]

Senyawa fitokimia yang berperan dalam mekanisme anti-asma pada kelompok pertama salah satunya yaitu β -sitosterol. β -sitosterol telah diuji secara *in-vivo* dapat menurunkan kadar histamin secara signifikan dengan mekanisme menghambat pelepasan mediator inflamasi yaitu histamin.^[60]

Abrus precatorius (1) kacang jequirity atau kacang rosary memiliki efek antiinflamasi dengan menstimulasi reseptor adrenergik β_2 atau penghambatan reseptor histamin H₁.^[15] *Adhatoda vasica* (2) dikenal sebagai kacang malabar ditemukan memiliki efek terhadap penghambatan kontraksi ileum pada dosis yang diinduksi oleh histamin dan Ach. Efek ini mendukung perbaikan gejala dan parameter fungsi paru-paru terhadap asma.^[17] *Ailanthus excelsa* (3) secara signifikan menghambat kontraksi yang diinduksi histamin yang menunjukkan aktivitas antagonis reseptor H₁-nya.^[18] *Aerva lanata* (4) juga

dianggap sebagai etiologi asma. Alergen pertama-tama berikatan dengan IgE di permukaan sel mast. Hal ini menyebabkan pelepasan banyak mediator seperti histamin yang memiliki peran penting dalam patofisiologi asma dan menginduksi atau meningkatkan serangan asma (tipe-I). Reseptor histamin di organ target terdiri dari dua jenis, yaitu reseptor H₁ dan H₂. Ditemukan 14 tumbuhan obat potensial dikenal sebagai *mountain knot grass* yang berpotensi untuk melawan reseptor H₁ atau penghambatan degranulasi sel mast.^[20] *Alternanthera sessilis* (5) atau ekstrak *joyweed sessile* dapat meredakan bronkokonstriksi. Dugaan ini didasarkan pada pemeriksaan bahwa ekstrak tumbuhan dapat menghambat kontraksi yang dihasilkan oleh histamin dan asetilkolin.^[21] *Bryophyllum pinnatum* (6) atau dikenal sebagai lonceng katedral dan tanaman *goethe* secara umum menghambat bronkospasme yang diinduksi histamin. Pencegahan kejang otot polos saluran napas.^[23] *Clitoria ternatea* (7) atau *butterfly pea* melindungi dari bronkospasme yang diinduksi histamin aerosol pada tikus wister. Hasil dari paradigma bronkospasme yang diinduksi histamin menunjukkan bronkospasmolitik yang menunjukkan aktivitas antagonis reseptor H₁ dan mendukung sifat anti-asma dari tumbuhan.^[26] *Ficus racemosa* (8) atau *cluster tree* untuk melawan reseptor H₁ atau penghambatan degranulasi sel mast.^[27] *Leptadenia reticulata* (9) aktivitas anti-

asma tumbuhan ini dapat dikaitkan dengan antihistamin (antagonis H₁), anti alergi, penstabil sel mast, dan aktivitas anti-inflamasi.^[28] *Physalis angulata* Linn. (10) atau tomat liar yang bekerja melalui reseptor H₁ sebagai antagonis.^[29] *Piper longum* Linn. (12) dikenal sebagai lada panjang menghambat kontraksi yang diinduksi histamin dari preparat ileum babi yang diisolasi menunjukkan aktivitas antagonis reseptor H₁ dan mendukung sifat anti-asma.^[30] *Portulaca oleracea* Linn. (13) menunjukkan perlindungan yang tidak signifikan terhadap asma bronkial yang disebabkan oleh histamin aerosol^[33] dan tumbuhan terakhir yang memiliki mekanisme ini adalah *Vitex negundo* (14) dikenal sebagai pohon suci berdaun lima dapat menstabilkan sel mast dan menghambat reaksi hipersensitivitas langsung.^[34]

Kelompok kedua adalah tumbuhan yang memiliki mekanisme menurunkan kadar IgE, asma alergi didefinisikan oleh degranulasi sel mast yang dimediasi oleh antibodi IgE dan pada asma kelompok 2 sel limfoid bawaan (ILC2) asma non-alergi menginduksi inflamasi eosinofilik tanpa IgE spesifik alergen. Terapi anti-IgE telah menunjukkan kemanjuran yang menonjol dalam pengobatan asma alergi parah yang peka dengan alergen abadi tertentu. *Quercetin* adalah salah satu senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas menghambat IgE. *Quercetin* adalah flavonoid polifenol alami yang kaya antioksidan. Ini memiliki fungsi

anti-alergi yang dikenal untuk menghambat produksi histamin dan mediator pro-inflamasi. *Quercetin* dapat mengatur stabilitas Th1 / Th2, dan menurunkan antibodi IgE spesifik antigen yang dilepaskan oleh sel B.^[61]

Lima tumbuhan obat ditemukan memiliki mekanisme menghambat IgE dengan menggunakan studi in vivo dan in vitro. *Achyranthes aspera* (15) atau bunga sekam berduri dapat menghambat jalur NF- κ B yang terkait dengan penurunan IgE.^[36] *Ailanthus altissima* (16) atau pohon kopal menghambat peningkatan kadar IgE total serum, sebagai akibat dari penghambatan transkripsi mRNA IL-4 dan IL-13.^[37] *Glycyrrhizae Radix* (17) *licorice* menekan produksi IgE melalui penghambatan jalur ROR γ t, STAT6, GATA-3.^[38] *Hyssopus officinalis* (18) mungkin menunjukkan efek anti-inflamasi dengan mengurangi tingkat IgE di jaringan paru-paru; dengan demikian, dapat mengatur kekebalan.^[39] *Sophorae flavescens* (19) menurunkan produksi IgE oleh sel β manusia dengan menghambat fosforilasi NF- κ B, serta ekspresi rantai berat X β P1 dan IgE.^[40]

Mekanisme selanjutnya adalah menghambat pelepasan mediator inflamasi, stigmasterol merupakan salah satu senyawa fitokimia yang memiliki mekanisme ini. Stigmasterol memiliki sifat anti-asthma yang signifikan dan memiliki efek supresan pada asma allergen^[62]. *Gleditsia sinensis* (20) dan *Hemidesmus indicus* (21) mencegah pelepasan mediator inflamasi atau inflamasi pada asma, juga berpotensi

menjadi antagonis reseptor H₁ atau penghambatan degranulasi sel mast.^[41, 45] Mencegah sekresi sitokin T_h2 adalah reaksi alergi langsung untuk waktu yang lama dan dianggap memiliki peran penting dalam patofisiologi asma. Histamin meningkatkan sekresi IFN- γ dari limfosit T_h1, sedangkan histamin menghambat sekresi sitokin T_h2 (IL-4, IL-13) dari limfosit T_h2, dengan menghambatnya, alergi tidak akan terjadi.^[60] *Zizyphus jujuba* (22) dan *Alpinia galanga* (23) merupakan tumbuhan obat yang berhubungan dengan mekanisme ini, menghambat ekspresi T_h2 *cytokines interleukin* (IL) -4 dan IL-13, dan T_h1 *cytokines* IL-12A dan IFN- γ .^[46, 49]

Tumbuhan obat lain yang tidak memiliki mekanisme spesifik namun tetap berpotensi sebagai terapi anti-asma juga ditemukan dalam penelitian ini yaitu *Centella asiatica* (24) atau pegagan yang memiliki aktivitas *tracheospasmolytic* yaitu melemaskan otot trakea. Saat kontak dengan alergen, otot trakea berkontraksi sehingga saluran pernapasan menyempit.^[50] *Moringa oleifera* (25) atau pohon minyak ben mengurangi ketebalan epitel bronkial, sel epitel diaktifkan untuk menghasilkan kemokin yang menyebabkan keparahan peradangan asma.^[51] *Ocimum gratissimum* (26) atau cengkeh basil dapat mengurangi jumlah lendir yang ada di saluran pernapasan.^[52] Ekstrak *Picrorhiza kurroa* (27) menunjukkan aktivitas relaksasi otot.^[53] *Euphorbia thymifolia*

mekanisme lain dari tindakan anti-asma, histamin telah menjadi mediator kimiawi yang dilepaskan dari sel mast dalam (28) dapat menurunkan peningkatan kadar TNF- α .^[57] TNF- α memainkan peran kunci dalam pertahanan tubuh langsung sebelum aktivasi sistem imun adaptif. Peran yang mungkin dari TNF- α berkontribusi pada respons inflamasi didukung oleh pengamatan bahwa TNF- α , mRNA dan level protein meningkat pada asma alergi.^[63] *Curcuma longa* (29) atau kunyit yang ditemukan dapat menurunkan pengalaman serangan gejala asma.^[58] Tumbuhan terakhir adalah *Pistacia integerrima* (30) atau pohon *pistachio* pada asma bronkial yang kemungkinan terkait dengan kemampuannya dalam menghambat saluran Cav subtype L, stabilisasi sel mast, antioksidan, dan angiotatik.^[59]

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menemukan delapan tumbuhan obat yang memiliki aktivitas anti-asma.^[64] Tinjauan pustaka ini memperbarui informasi untuk tumbuhan obat dengan jumlah 30 tumbuhan dan menentukan aktivitasnya berdasarkan mekanisme kerjanya, sehingga akan mempermudah dalam melakukan penelitian selanjutnya seperti untuk isolasi bahan aktifnya. Penelitian ini juga menunjukkan kandungan fitokimia pada masing-masing tumbuhan. Selanjutnya kombinasi dan pencocokan lebih dari dua tumbuhan obat dalam pengobatan asma dianggap lebih bermanfaat daripada menggunakan satu saja.^[65]



4. KESIMPULAN

Sejumlah 30 tumbuhan potensial yang ditemukan di Asia diperoleh sebagai sumber alternatif pengobatan asma. Tumbuhan obat tersebut memiliki berbagai macam mekanisme sebagai anti-asma, antara lain sebagai penghambat reseptor H₁ dan H₂, penurunan kadar imunoglobulin E, mediator inflamasi, pencegahan sekresi sitokin T_h2, dan mekanisme spesifik lainnya. Data mengenai aktivitas tumbuhan yang dikumpulkan dalam tinjauan pustaka ini menunjukkan penggunaannya sebagai bagian dari strategi pengobatan herbal alternatif penyakit asma.

5. SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memformulasikan beberapa tanaman herbal pada penulisan ini sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan tambahan atau alternatif untuk asma.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada pihak-pihak yang mendukung penulisan ini dengan memberikan beberapa masukan dan kritik.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Global Initiative for Asthma. *Pocket Guide for Asthma Management and Prevention* [Internet]. Global Initiative for Asthma. 2020. Tersedia di: <https://ginasthma.org/pocket-guide-for-asthma-management-and-prevention/>
- [2] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology 9th*. Philadelphia, USA, Saunders: Elsevier. 2013:2572013.
- [3] World Health Organization. *Asthma* [Internet]. World Health Organization. 2020 [cited 15 May 2020]. Tersedia di: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/asthma>
- [4] Padam Singh, Yadav RJ, Arvind Pandey. Utilization of Indigenous System of Medicine and Homeopathy in India, Institute for Research in Medical Statistics. *Indian J Med Res*. 2005;122(2): 137-142. PMID: 16177471.
- [5] Pan SY, Chen SB, Dong HG, Yu ZL, Dong JC, Long ZX, Fong WF, Han YF, Ko KM. New Perspectives on Chinese Herbal Medicine (Zhong-Yao) Research and Development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2011. <https://doi.org/10.1093/ecam/nehq056>
- [6] Tsuchiya H. Membrane Interactions of Phytochemicals as Their Molecular Mechanism Applicable to The Discovery of Drug Leads from Plants. *Molecules*. 2015;20(10):18923-66. <https://doi.org/10.3390/molecules201018923>
- [7] Mariotti F, editor. *Vegetarian and Plant-Based Diets in Health and*

- Disease Prevention. *Academic Press*; 2017 May 23.
- [8] Farnsworth NR. Screening Plants
- [9] Pan SY, Zhou SF, Gao SH, Yu ZL, Zhang SF, Tang MK, Sun JN, Ma DL, Han YF, Fong WF, Ko KM. New Perspectives on How to Discover Drugs from Herbal Medicines: CAM's Outstanding Contribution to Modern Therapeutics. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/627375>
- [10] Schippmann UW, Leaman D, Cunningham AB. A Comparison of Cultivation and Wild Collection of Medicinal and Aromatic Plants Under Sustainability Aspects. *Frontis*. 2006:75-95. https://doi.org/10.1007/1-4020-5449-1_6
- [11] Smith-Hall C, Larsen HO, Pouliot M. People, Plants and Health: A Conceptual Framework for Assessing Changes in Medicinal Plant Consumption. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*. 2012;8(1):1-11. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-43>
- [12] Astutik S, Pretzsch J, Ndzifon Kimengsi J. Asian Medicinal Plant's Production and Utilization Potentials: A Review. *Sustainability*. 2019;11(19):5483. <https://doi.org/10.3390/su11195483>
- [13] Sydara K, Xayvue M, Souliya O, for New Medicines. *Biodiversity*. 1998;15(3):81-99. ISBN: 0-309-56736-X.
- Elkington BG, Soejarto DD. Inventory of Medicinal Plants of The Lao Peoples Democratic Republic: A Mini Review. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2014;8(43):1262-74. <https://doi.org/10.5897/JMPR2014.5534>
- [14] Phumthum M, Srithi K, Inta A, Junsongduang A, Tangjitman K, Pongamornkul W et al. Ethnomedicinal Plant Diversity in Thailand. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018;214:90-8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.003>
- [15] Taur DJ, Patil RN, Patil RY. Antiasthmatic Related Properties of *Abrus precatorius* Leaves on Various Models. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2017;7(4):428-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.007>
- [16] Anam EM. Anti-Inflammatory Activity of Compounds Isolated from The Aerial Parts of *Abrus precatorius* (Fabaceae). *Phytomedicine*. 2001;8(1):24-7. <https://doi.org/10.1078/0944-7113-00001>
- [17] Dangi A. Phytochemical Screening and Assessment of *Adhatoda vasica* (Leaf) for Antiasthmatic Activity. *Panacea Journal of*

- Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2015;4(3):680-704. ISSN: 2349-7025.
- excelsa* Roxb. on Guinea Pigs. *Journal of Scientific Research.* 2010;2(1):196-202. P-ISSN: 2070-0237; E-ISSN: 2070-0245 / <https://doi.org/10.3329/jsr.v2i1.2740>
- [19] Kumar D, Prasad DN, Parkash J, Bhatnagar SP, Dinesh K. Antiasthmatic Activity of Ethanolic Extract of *Aerva lanata* Linn. *Pharmacologyonline.* 2009;2, 1075-81. ISSN: 1827-8620.
- [20] Pervykh LN, Karasartov BS, Zapesochnaya GG. A Study of The Herb *Aerva lanata* IV, Flavonoid Glycosides. *Chemistry of Natural Compounds.* 1993;28,509-10. <https://doi.org/10.1007/BF00630669>
- [21] Vani M, Rahaman SKA, Rani AP. In Vivo Antiasthmatic Studies and Phytochemical Characterization on The Stem Extracts of *Alternanthera sessilis* L. using Guinea Pigs Model. *Journal of Entomology and Zoology Studies.* 2012;5(2):1160-71. ISSN: 2349-6800. E-ISSN: 2320-7078; P-ISSN: 2349-6800.
- [22] Pullaiah T. *Encyclopedia of World Medicinal Plants, Vol 1.* New Delhi: Published by Regency Publication; 2011.
- [23] Salami EO, Ozolua RI, Okpo SO, Eze GI, Uwaya DO. Studies on The Anti-Asthmatic and Antitussive Properties of Aqueous Leaf Extract of *Bryophyllum pinnatum* in Rodent
- [18] Kumar D, Bhujbal SS, Deoda RS, Mudgade SC. In-Vitro and In-Vivo Antiasthmatic Studies of *Ailanthus* Species. *Asian Pac J Trop Med.* 2013;6(6):421-5. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(13\)60067-X](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(13)60067-X)
- [24] Okwu DE, Josiah C. Evaluation of The Chemical Composition of Two Nigerian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology.* 2006;5(4):357-61. E-ISSN: 1684-5315.
- [25] Okwu DE, Nnamdi FU. Two Novel Flavonoids from *Bryophyllum pinnatum* and Their. *J Chem.* 2011;3(2):1-10. ISSN: 0975-7384.
- [26] Chauhan PS, Subhashini DD, Singh R. Intranasal Curcumin Attenuates Airway Remodeling in Murine Model of Chronic Asthma. *Int Immunopharmacol.* 2014;21, 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2014.03.021>
- [27] Suvarna S, S Rao P, B Santosh D, P Dukare T. Isolation of Phytochemical and Evaluation of Antiasthmatic Potency of *Ficus racemosa*. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.* 2019;9(6-s):107-9. ISSN: 2250-1177 / <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i6-s.3773>
- [28] Baheti J, Awati S. Antiasthmatic Activity of *Leptadenia reticulata* (Retz) Wt & Arn Leaves. In 3rd International Conference on Applied Mathematics and

- Pharmaceutical Sciences (ICAMPS'2013), Singapore 2013 Apr 29 (pp. 335-9).
- [29] Rathore C, Dutt KR, Sahu S, Deb L. Antiasthmatic Activity of The Methanolic Extract of *Physalis angulata* Linn. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2011;5(22):5351-5. ISSN: 1996-0875.
- [30] Kaushik D, Rani R, Kaushik P, Sacher D, Yadav J. In Vivo and In Vitro Antiasthmatic Studies of Plant *Piper longum* Linn. *International Journal of Pharmacology*. 2012;8(3):192-7. ISSN: 1811-7775 / <https://doi.org/10.3923/ijp.2012.192.197>
- [31] George AK, Alex B, Samuel K, Jones OA, et al. Anti-Asthmatic Property and Possible Mode of Activity of An Ethanol Leaf Extract of *Polyscias fruticosa*, *Pharm Biol*. 2016;54(8):1354-63. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1077465>
- [32] Koffuor GA, Boye A, Ofori-Amoah J, et al. Antiinflammatory and Safety Assessment of *Polyscias fruticosa* (L.) Harms (Araliaceae) Leaf Extract in Ovalbumin-Induced Asthma. *J Phytopharmacol*. 2014;3(5):337-42. ISSN: 2230-480X.
- [33] Iyekowa O, Uzama-Avenbuan O, Edema MO, Enadeghe OR, Odaro SI. Antiasthmatic Activity of *Portulaca oleracea* Linn. *Sky Journal of Biochemistry Research*. 2012;1(1):1-6. <https://dx.doi.org/10.3831%2FKPI.2019.22.016>
- [34] Patel J, Shah S, Deshpande S, Shah G. Evaluation of The Antiasthmatic Activity of Leaves of *Vitex negundo*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2009;1:81-6. E-ISSN: 2455-3891; P-ISSN: 0974-2441.
- [35] Singh V, Dayal R, Bartley JP. Chemical Constituents of *Vitex negundo* Leaves. *J Med Arom Plant Sci*. 2003;25(1):94-8. <https://doi.org/10.3126/sw.v6i6.2630>
- [36] Kandasamy R, Hellermann GR, Mohapatra SS, Lockey RF. Flavanoid-Rich Alcoholic Extract of Leaves of *Achyranthes aspera* Reduces Inflammation in a Murine Model of Ova-Induced Asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2012;129(2):AB78. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2011.12.614>
- [37] Jin M, Yang JH, Lee E, Lu Y, Kwon S, Son KH, Son JK, Chang HW. Antiasthmatic Activity of Luteolin-7-O-glucoside from *Ailanthus altissima* through the Downregulation of T Helper 2 Cytokine Expression and Inhibition of Prostaglandin E₂ Production in an Ovalbumin-Induced Asthma Model. *Biol Pharm Bull*. 2009;32(9):1500-3. <https://doi.org/10.1248/bpb.32.1500>
- [38] Kim SH, Hong JH, Lee JE, Lee YC.

- 18 β -Glycyrrhetic Acid, The Major Bioactive Component of *Glycyrrhizae Radix*, Attenuates Airway Inflammation by Modulating Th2 Cytokines, GATA-3, STAT6, and Foxp3 Transcription Factors in an Asthmatic Mouse Model. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2017;52:99-113. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.03.011>
- [39] Ma X, Ma X, Ma Z, Wang J, Sun Z, Yu W, Li F, Ding J. Effect of *Hyssopus officinalis* L. on Inhibiting Airway Inflammation and Immune Regulation in a Chronic Asthmatic Mouse Model. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2014;8(5):1371-4. <https://doi.org/10.3892/etm.2014.1978>
- [40] Musa I, Yang N, MS PhD, Li XM, MD. Formononetin Isolated from Ku Shen (*Radix sophorae flavescentis*) Inhibits B cell IgE Production by Inhibiting STAT 6 and NF-kB Phosphorylation and XBP1 and IgE Heavy Chain Expression. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020;145(2):AB78. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2019.12.045>
- [41] Lee MY, Shin IS, Seo CS, Ha H, Shin HK. Antiasthmatic Effects of *Gleditsia sinensis* in an Ovalbumin-Induced Murine Model of Asthma. *International Journal of Toxicology*. 2011;30(5):528-37. <https://doi.org/10.1177/1091581811412398>
- [42] Lim JC, Park JH, Budesinsky M, et al. Antimutagenic Constituents from The Thorns of *Gleditsia sinensis*. *Chem Pharm Bull*. 2005;53(5):561-4. <https://doi.org/10.1248/cpb.53.561>
- Zhou L, Li D, Wang J, Liu Y, Wu J. Two Ellagic Acid Glycosides from *Leditsia sinensis* Lam. with Antifungal Activity on *Magnaporthe grisea*. *Nat Prod Res*. 2007;21(4):303-9. <https://doi.org/10.1080/14786410701192702>
- [43] Zhou L, Li D, Wang J, et al. Antibacterial Phenolic Compounds from The Spines of *Gleditsia sinensis* Lam. *Nat Prod Res*. 2007;21(4):283-91. <https://doi.org/10.1080/14786410701192637>
- [44] Bhujbal SS, Kumar D, Deoda RS, Deore TK, Patil MJ. Antiasthmatic Activity of Roots of *Hemidesmus indicus* R. Br. *Pharmacologyonline*. 2009;1:209-16. ISSN: 1827-8620.
- [45] Ninave PB and Patil SD. Antiasthmatic Potential of *Zizyphus jujuba* Mill and Jujuboside B.- Possible Role in The Treatment of Asthma. *Respiratory Physiology and Neurobiology*. 2019;260, 28-6. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2018.12.001>
- [46] Khare CP. *Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary*. New Delhi: Springer; 2011. ISBN: 978-0-387-70637-5.

- [47] Duke JA. Handbook of Medicinal Herbs, 2nd edn. New Delhi: CRPress 2001. ISBN: 0-8493-1284-1.
- [48] Seo JW, Cho SC, Park SJ, Lee EJ, Lee JH, Han SS, Pyo BS, Park DH, Immunopharmacol. 2012;13(1):126-34.
<https://doi.org/10.1016/j.intimp.2012.03.012>
- [49] Kim BH. 1'-Acetoxychavicol Acetate Isolated from *Alpinia galanga* ameliorates Ovalbumin-Induced Asthma in Mice. PloS One. 2013;8(2):e56447.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056447>
- [50] Moerad EB, Paramita S, Iskandar A, Ismail S, Pratiningrum M, Irawiraman H. Uji Aktivitas Trakeospasmodik Ekstrak Etanol *Centella asiatica* (L.) Urb. pada Organ Terpisah *Trakea Marmut* untuk Melihat Efek *Antiasmanorvegicus*. J Trop Pharm Chem. 2017;4(2). 52-8.
<https://doi.org/10.25026/jtpc.v4i2.139>
- [51] Dian AP and Elma M. Efek Pemberian Minyak Biji Kelor (*Moringa oliefera* L.) sebagai Terapi Asma terhadap Gambaran Histopatologi Epitel Bronkiolus Mencit BALB/c. Cendekia J of Pharm. 2019;3(1):37-43. P-ISSN: 2559-2163; E-ISSN: 2599-2155.
- [52] Costa RS, Carneiro TC, Cerqueira-Lima AT, et al. *Ocimum gratissimum* Linn. and Rosmarinic Acid, Attenuate Eosinophilic Airway Inflammation in An Experimental Model of Respiratory Allergy to *Blomia tropicalis*. Int
- [53] Ola SS, Catia G, Marzia I, Francesco VF, Afolabi AA, Nadia M. HPLC/DAD/MS Characterisation and Analysis of Flavonoids and Cynnamoil Derivatives in Four Nigerian Green-Leafy Vegetables. Food Chem. 2009;115(4):1568-74.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.013>
- [54] Vieira RF, Grayer RJ, Paton A, Simon JE. Genetic Diversity of *Ocimum gratissimum* L. Based on Volatile Oil Constituents, Flavonoids and RAPD Markers. Biochem Syst Ecol. 2001;29:287-304.
[https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00062-4)
- [55] Sehgal R, Chauhan A, Gilhotra UK, Gilhotra A. In-Vitro and In-Vivo Evaluation of Antiasthmatic Activity of *Picrorhiza kurroa* Plant. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2013;4(9):3440. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148.
[http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4\(9\).3440-43](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.4(9).3440-43)
- [56] Rathee D, Rathee P, Rathee S, Rathee D. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Picrorhiza kurroa*, An Indian Traditional Plant Used to Treat Chronic Diarrhea. Arabian Journal of Chemistry. 2016;9:S1307-13.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2012.>

02.009

- [57] Parmar G, Pundarikakshudu K, Balaraman R. Anti-Anaphylactic and Antiasthmatic Activity of *Euphorbia thymifolia* L. on Experimental Animals. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 2019;9(1):60-5. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.03.002>
- [58] Karaman M, Ayyildiz ZA, Firinci F, et al. Effects of Curcumin on Lung Histopathology and Fungal Burden in a Mouse Model of Chronic Asthma and Oropharyngeal Candidiasis. *Archives of Medical Research*. 2011;42(2):79-87. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2011.01.011>
- [59] Shirole RL, Shirole NL, Kshatriya AA, Kulkarni R, Saraf MN. Investigation Into the Mechanism of Action of Essential Oil of *Pistacia integerrima* for Its Antiasthmatic Activity. *Journal of Ethnopharmacology*. 2014;153(3):541-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.02.009>
- [60] Mahajan SG, Mehta AA. Suppression of Ovalbumin-Induced Th2-Driven Airway Inflammation by β -sitosterol in a Guinea Pig Model of Asthma. *European Journal of Pharmacology*. 2011;650(1):458-64. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.075>
- [61] Jafarinia M, Sadat Hosseini M, kasiri N, Fazel N, Fathi F, Ganjalikhani Hakemi M, Eskandari N. Quercetin with The Potential Effect on Allergic Diseases. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*. 2020;16(36):1-11. <https://doi.org/10.1186/s13223-020-00434-0>
- [62] Antwi AO, Obiri DD, Osafo N. Stigmasterol Modulates Allergic Airway Inflammation in Guinea Pig Model of Ovalbumin-Induced Asthma. *Mediators of Inflammation*. 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2953930>
- [63] Yamauchi K, Ogasawara M. The Role of Histamine in The Pathophysiology of Asthma and The Clinical Efficacy of Antihistamines in Asthma Therapy. *Int. J. of Molecular Sciences*. 2019;20(7):1733. <https://doi.org/10.3390/ijms20071733>
- [64] Rizki MI, Chabib L, Nabil A, Yusuf B. Tanaman dengan Aktivitas Anti-asma. *Jurnal Pharmascience*. 2019;2(1):1-9. ISSN: 2355-5386.
- [65] Hazekamp A, Verpoorte R, Panthong A. Isolation of a Bronchodilator Flavonoid from The Thai Medicinal Plant *Clerodendrum petasites*. *J. of Ethnopharmacology*. 2001;78(1):45-9. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00320-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00320-8)



ABSTRAK

Terapi diabetes dengan obat anti diabetes (OAD) yang umum digunakan memiliki efek samping yang tidak diinginkan serta masih tingginya harga OAD menjadi permasalahan, sehingga perlu dicari atau dikembangkan alternatif OAD lain yang lebih aman, efektif, dan murah. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, flavonoid memiliki khasiat dalam menurunkan kadar glukosa darah. Kulit buah jeruk mengandung banyak senyawa flavonoid. Namun pemanfaatannya belum maksimal walaupun jumlah produksi jeruk dunia sangat tinggi. Penulisan *review* ini bertujuan untuk mengulas informasi terkini mengenai efek flavonoid pada kulit jeruk dalam manajemen diabetes serta mekanisme molekulernya. Sebuah tinjauan pustaka dilakukan menggunakan database elektronik *Scopus*, *ScienceDirect*, dan *American Chemical Society* mencakup literatur terbaru dengan tahun publikasi penelitian dari 2010 sampai sekarang. Beberapa kata kunci dikombinasikan untuk memastikan semua penelitian *in vitro* dan *in vivo* didapatkan. Kata kunci yang digunakan: "*citrus peel*", "*flavonoid*", "*diabetes melitus*", "*mechanism*", dan "*blood glucose*". Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti sebelumnya didapatkan bahwa flavonoid kulit jeruk dapat memperbaiki metabolisme glukosa, aktivitas enzim hati, pensinyalan insulin dan regulasi lipogenesis, memperbaiki kerusakan pada sel islet pankreas dan stimulasi sekresi insulin, dan melindungi dari penyakit komplikasi diabetes. Secara keseluruhan, flavonoid kulit jeruk sebagai antidiabetes yang dapat mencegah peningkatan kadar gula darah dan menurunkan resistensi insulin. Flavonoid berperan dalam penghambatan enzim yang utamanya merupakan mekanisme utama obat-obatan dan juga penghambatan pada level ekspresi gen dan sifatnya sebagai antioksidan. Penelitian lebih lanjut mengenai keamanan dan efikasi flavonoid dibutuhkan untuk pengembangan flavonoid kulit buah jeruk sebagai terapi alternatif diabetes melitus.

Kata kunci: kulit jeruk, flavonoid, diabetes melitus, mekanisme, glukosa darah

ABSTRACT

Diabetes therapy with commonly used of anti-diabetes drugs (OAD) have unwanted side effects and the high price become problematic, so it is necessary to find or develop other safer, more effective, and inexpensive OAD alternatives. Based on in vitro and in vivo research models, flavonoids are proven to have efficacy in lowering blood glucose levels. In the citrus peel, flavonoid compounds are abundant. However their utilization is not optimal even though the mass production is very high.

This study is to review current information regarding the effects of flavonoids on citrus peel in diabetes management and their molecular mechanisms.

A literature review was conducted using the electronic databases of Scopus, ScienceDirect, and the American Chemical Society covering the most recent literature published from the years 2010 till present. Several keywords were combined to ensure all in vitro and in vivo studies were obtained. Key words used were "citrus peel", "flavonoid", "diabetes mellitus", "mechanism", and "blood glucose".

Based on the results of research that has been conducted by previous researchers, it was found that the flavonoids of citrus peel can improve glucose metabolism, hepatic enzyme activity, insulin signalling and lipogenesis regulation, repair damage to pancreatic islet cells and stimulate insulin secretion, and protect against complications of diabetes.

Overall, citrus peel flavonoids as an antidiabetic can prevent an increase in blood sugar

levels and reduce insulin resistance, the two hallmarks in diabetes melitus. Flavonoids play a role in enzyme inhibition, which is the main mechanism of medicine as well as inhibition at the level of gene expression and its antioxidant properties. Further research on the safety and efficacy of flavonoids is needed for the development of citrus fruit peel flavonoids as an alternative therapy for diabetes melitus.

Keywords: citrus peel, flavonoid, diabetes mellitus, mechanism, blood glucose

1. PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit kelainan metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah yang prevalensinya terus meningkat.^[1] Penyakit kronis yang membutuhkan konsumsi obat antidiabetes terus menerus dalam jangka waktu panjang menimbulkan efek samping seperti asidosis laktat pada metformin dan efikasi obat yang berkurang apabila progresif penyakit DM meningkat.^[2] Selain itu, beberapa obat-obatan antidiabetes tergolong mahal seperti injeksi insulin.^[Error! Reference source not found.]

Di Indonesia, senyawa bahan alam merupakan alternatif pengobatan favorit masyarakat.^[Error! Reference source not found.] Senyawa bioaktif yang terkandung dalam kulit buah jeruk flavonoid memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes.^[Error! Reference source not found.] Menurut penelitian yang dilakukan Muhtadi dkk. (2012), ekstrak kulit jeruk dapat menormalkan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi dengan aloksan.^[Error! Reference source not found.] Flavonoid dilaporkan memiliki peran meningkatkan metabolisme dan *uptake* glukosa.^[7] Adapun senyawa bioaktif flavonoid yang terkandung dalam kulit buah jeruk antara lain

hesperidin, narirutin, rutin, katekin naringin, eriocitrin, kuersetin, iso quercetin, kaempferol, sinensetin, naringenin, dan hesperitin.^{[8],[9],[10]} Secara umum, pada buah jeruk senyawa flavonoid tersebut ditemukan dalam kadar yang lebih tinggi pada bagian kulit dibandingkan dengan bagian lainnya.^[11] Beberapa spesies jeruk ditandai dengan flavonoid dominan masing-masing, jeruk mandarin ditandai dengan hesperidin, nobiletin dan tangeretin. Sedangkan pamelon ditandai dengan naringin. Penelitian lain menunjukkan kandungan dan jenis flavonoid pada buah jeruk bervariasi karena perbedaan spesies dan kultivar.^{[11],[12]} Menurut Chen *et al.* (2020) kulit jeruk mandarin mengandung total flavonoid, total fenolik dan kapasitas antioksidan yang tinggi daripada spesies jeruk lain.^[11] Melihat masalah-masalah obat antidiabetes dan potensi senyawa flavonoid yang dimiliki kulit buah jeruk, dalam *review* ini akan dibahas mengenai potensi limbah kulit jeruk sebagai agen antidiabetes.

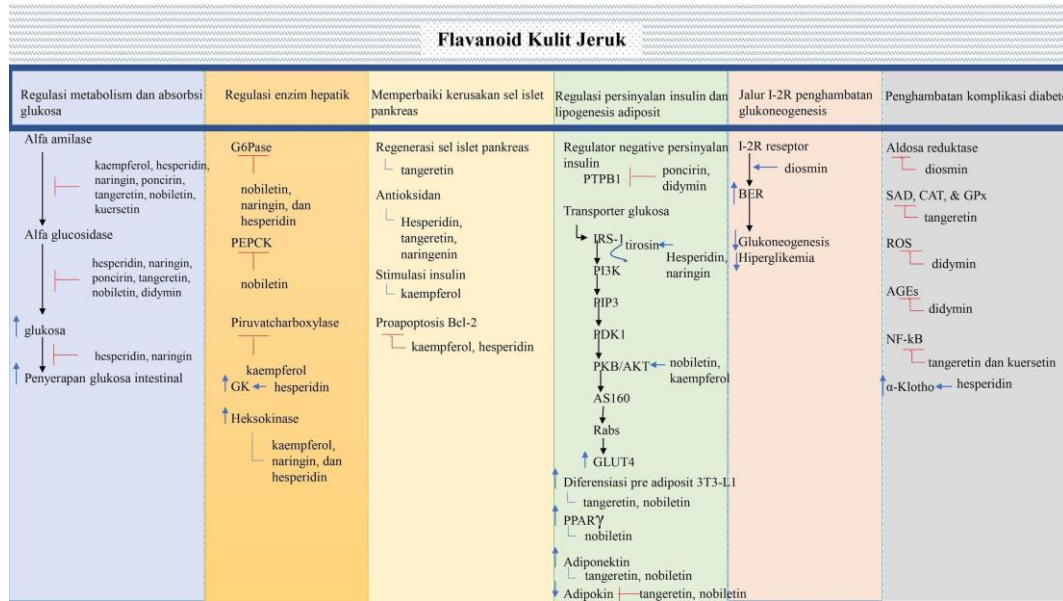
2. METODE

Literatur primer didapatkan dari berbagai *database* antara lain *Scopus*, *ScienceDirect*, *American Chemical*

Society dan sumber lainnya dengan kata kunci “*citrus peel*”, “*flavonoid*”, “*diabetes melitus*”, “*mechanism*”, dan “*blood glucose*”. Artikel disortir berdasarkan kata kunci dan abstrak sehingga didapatkan 57 artikel penelitian sesuai. Artikel tersebut kemudian dibaca penuh untuk

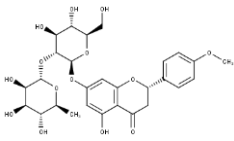
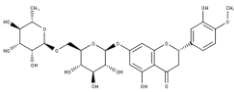
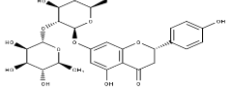
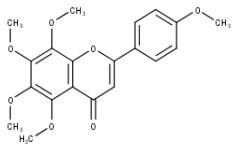
mendapatkan artikel yang membahas mekanisme antidiabetes senyawa flavonoid kulit jeruk. Berdasarkan hasil bacaan, terdapat 17 artikel relevan yang kemudian disajikan dan dibahas dalam artikel review ini.

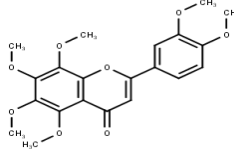
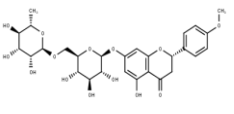
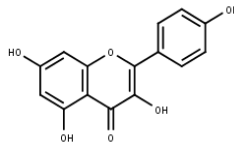
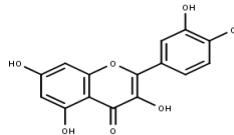
3. HASIL



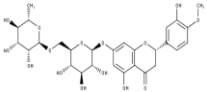
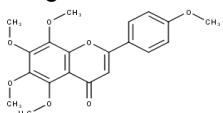
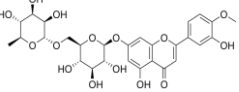
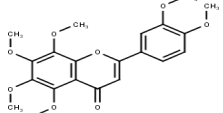
Gambar 1. Skema Mekanisme Aksi Flavonoid Meregulasi Homeostasis Glukosa Darah (↑ peningkatan, ↓ penurunan, --- penghambatan, ← memicu aktivitas)

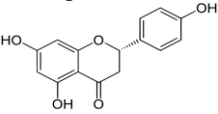
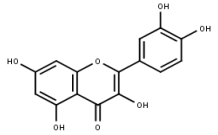
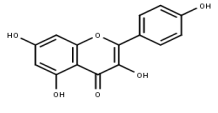
Tabel 1. Pengujian *in vitro* Mekanisme Senyawa Flavonoid Antidiabetes

No	Nama senyawa dan struktur	Mekanisme	Model yang digunakan	Kontrol	IC ₅₀ (µM)		Sumber
					Kontrol	Senyawa Uji	
1.	<p>Poncirin</p> 	Inhibisi alfa-amilase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	43 ± 0,3	1 ± 0,2	[13]
		Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	108,2 ± 0,4	125,5 ± 0,2	
				Akarbose	122,3 ± 1,56	21,31 ± 1,26	[14]
		Inhibisi HRAR	Protein rekombinan	Kuersetin	4,91 ± 0,23	3,56 ± 0,33	
Inhibisi RLAR	Protein aldosa tikus	Kuersetin	5,47 ± 0,63	11,91 ± 0,21			
2.	<p>Hesperidin</p> 	Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	108,2 ± 0,4	111 ± 0,3	[13]
		Inhibisi alfa-amilase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	43 ± 0,3	6 ± 0,2	
3.	<p>Naringin</p> 	Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	108,2 ± 0,4	0,55 ± 0,3	[13]
		Inhibisi alfa-amilase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	43 ± 0,3	8 ± 0,1	
4.	<p>Tangeretin</p> 	Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	108,2 ± 0,4	141 ± 0,2	[13]
		Inhibisi alfa-amilase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	43 ± 0,3	14,8 ± 0,1	
5.	<p>Nobiletin</p>	Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbose	108,2 ± 0,4	4,2 ± 0,3	[13]

		Inhibisi alfa-amilase	Enzim pankreas manusia	Akarbosa	43 ± 0,3	50 ± 0,3	
6.	Didymin	Inhibisi PTP1B	Metode pNPP	Asam Ursolat	5,58 ± 0,31	1,23 ± 0,11	[15]
		Inhibisi alfa-glukosidase	Enzim pankreas manusia	Akarbosa	129,8 ± 0,77	48,77 ± 1,02	
		Aktivitas inhibisi RLAR	Protein aldosa tikus	Kuersetin	4,63 ± 0,13	2,18 ± 0,18	
		Inhibisi HRAR	Protein rekombinan manusia	Kuersetin	2,84 ± 0,11	0,87 ± 0,01	
		Inhibisi pembentukan AGE	Serum albumin sapi	Aminoguanidine	526,5 ± 3,78	1,39 ± 0,12	
		Penangkap an radikal ONOO ⁻	Fluoresensi rhodamine	L-penicillamine	1,21 ± 0,19	20,63 ± 1,37	
		Penghambatan produksi ROS	Fluoresensi DCFH-DA	Trolox	8,23 ± 0,77	27,11 ± 0,91	
7.	Kaempferol	Inhibisi alfa-amilase	Enzim alfa amilase babi	akarbosa	1,3 ± 0,2	118 ± 7	[16]
		Inhibisi alfa-amilase	Enzim alfa amilase babi	akarbosa	0,996 ± 0,011	21,4 ± 4,3	[17]
8.	Kuersetin	Inhibisi alfa-amilase	Enzim alfa amilase babi	akarbosa	1,3 ± 0,2	138 ± 5	[16]
							

Tabel 2. Pengujian *in vivo* Senyawa Flavonoid Antidiabetes

No	Nama senyawa dan struktur	Mekanisme	Model yang digunakan	Kontrol	Konsentrasi glukosa darah (mg/dl)		Sumber
					Kontrol	Senyawa Uji	
1.	 <p>Hesperidin</p>	α-Klotho/jalur FGF-23	Tikus diinduksi STZ	Tanpa intervensi	128 ± 7,00	205	[18]
		Regulasi aktivitas enzim metabolisme glukosa (GK dan G6Pase)	Tikus diinduksi STZ	Tikus DM (Tanpa obat pembanding)	131,67 ± 5,02	94,36 ± 4,77	[19]
		Melindungi sel islet langerhans pankreas dengan mekanisme antioksidan	Tikus diinduksi STZ	Tikus DM (Tanpa obat pembanding)	602,66 ± 20,18	436,12 ± 14,30	[18]
2.	 <p>Tangeretin</p>	↑ aktivitas enzim glikolisis dan stimulasi produksi insulin	Tikus diinduksi STZ	Glibenklamid	128,33	133,16 (100 mg/kg B)	[20]
3.	 <p>Diosmin</p>	Menurunkan glukoneogenesis karena peningkatan sekresi β-endorfin	Tikus diinduksi STZ	Tikus DM (Tanpa obat pembanding)	339 ± 16,72	273,86 ± 16,07	[21]
4.	 <p>Nobiletin</p>	Menurunkan tingkat ekspresi mRNA adipokin/sitokin (TNF)	Tikus obesitas/diabetik	Tikus DM (Tanpa obat pembanding)	263,96 ± 8,1082*	236,03 ± 86 ± 7,56*	[22]

		<p>alfa, IL6, dan MCP1)</p> <p>Meningkatkan sekresi adiponektin</p> <p>Meningkatkan ekspresi mRNA dan protein PPARγ dan gen targetnya perilipin</p> <p>Meningkatkan ekspresi GLUT4, GLUT1, dan fosforilasi Akt2</p> <p>Menurunkan ekspresi mRNA PEPCK dan G6Pase</p>					
5.	<p>Naringenin</p> 	<p>Melindungi sel islet pankreas dari radikal bebas</p>	<p>Tikus diinduksi STZ-nicotinamide</p>	<p>Gliklazid</p>	<p>116,18 \pm 9,71</p>	<p>118,26 \pm 5,74</p>	<p>[23]</p>
6.	<p>Kuersetin</p> 	<p>Menurunkan kadar glukosa dan inhibisi NF-κB</p>	<p>Tikus diinduksi STZ</p>	<p>Tikus DM (Tanpa obat pembanding)</p>	<p>602,66 \pm 20,18</p>	<p>494,43 \pm 12,89</p>	<p>[18]</p>
7.	<p>Kaempferol</p> 	<p>Meningkatkan ekspresi Akt dan heksokinase</p> <p>Menurunkan aktivitas <i>pyruvate carboxylase</i></p>	<p>Mencit jantan C57BL/6</p>	<p>Tanpa intervensi</p>	<p>183,7 \pm 5,6</p>	<p>155,6 \pm 7,5</p>	<p>[24]</p>

*(dalam mmol/l dikonversi ke mg/dl dengan mengonversinya dengan faktor pengali 18,0182)
Keterangan: AGE (*advanced glycation end products*); DM (*diabetes melitus*); DCFH-DA (*2'-7'-dichlorofluorescein diacetate*); FGF (*fibroblast growth factor*); HRAR (*human retinoic acid receptor*); RLAR (*rat lens aldose reductase*); PTP1B (*protein tyrosine phosphatase 1B*); pNPP (*para-Nitrophenylphosphate*); ROS (*reactive oxygen species*); GK (*glucokinase*); G6Pase (*glucose 6-phosphatase*); NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*); TNF α (*tumor necrosis factor alpha*); IL6 (*interleukin 6*); MCP1 (*monocyte chemoattractant protein-1*); PPAR γ (*peroxisome proliferator activated receptor gamma*); GLUT (*glucose transporter*); STZ (*streptozotocin*).

4. PEMBAHASAN

4.1 Regulasi metabolisme dan absorpsi glukosa

Enzim pencernaan karbohidrat pada mamalia dibutuhkan untuk memecah karbohidrat menjadi bentuk monomer glukosa. Pada saliva terjadi proses pemecahan parsial karbohidrat menjadi oligosakarida yang lebih pendek (10-30%) kemudian proses pencernaan lebih lanjut terjadi pada lumen usus karena adanya enzim yang dihasilkan pankreas dan menghasilkan oligosakarida yang sangat kecil seperti maltose, maltotriosa, dan dekstrin α -limit.^[24] Oligosakarida dipecah menjadi glukosa. Glukosa yang terbentuk akan diserap oleh mukosa usus menggunakan transporter glukosa (GLUT2) dan *sodium-glucose co-transporter 1* (SGLT1) dan menyebabkan peningkatan signifikan glukosa darah postprandial.^[26] Hal tersebut menjadi tantangan bagi penderita diabetes agar kadar glukosa tidak terlampaui tinggi pada saat setelah makan.^[17] Secara luas akarbosa digunakan untuk mengatasi hiperglikemia postprandial, meskipun begitu akarbosa memiliki efek samping pada pasien seperti distensi abdomen, perut kembung, dan diare.^{[27][29]} Secara *in*

vitro, potensi naringin dalam menghambat α -glukosidase dan poncirin dalam menghambat α -amilase lebih baik dibanding akarbosa. Naringin merupakan senyawa yang paling baik diantara senyawa lain dalam menghambat kedua enzim α -amilase dan α -glukosidase dibandingkan akarbosa.^{[13][14][15][16][17]} Hingga saat ini, belum ada uji klinis yang dilakukan terhadap naringin dalam menghambat α -glukosidase sebagai pengobatan anti diabetes sehingga meskipun memiliki hasil yang lebih baik, naringin tidak dijadikan sebagai kontrol positif.^[48] Hesperidin dan naringin memiliki efek menurunkan absorpsi glukosa intestinal sehingga menurunkan kadar glukosa darah dengan melihat kemampuan perfusi menggunakan pompa mini dalam penelitian pada tikus yang dilakukan oleh Mahmoud dkk (2015).^[30]

4.2 Regulasi aktivitas enzim hati

Pada penderita diabetes, ekspresi mRNA dari PC, PEPCK, dan G6Pase di hati akan mengalami peningkatan. Penekanan ekspresi gen tersebut dapat menurunkan kadar glukosa di plasma hasil dari glukoneogenesis.^{[31][32]} Beberapa

senyawa flavonoid kulit jeruk seperti nobiletin, naringin, dan hesperidin memiliki kemampuan untuk menurunkan aktivitas G6Pase sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Selain dapat menurunkan aktivitas G6Pase, hesperidin juga dapat meningkatkan mRNA enzim GK.^{[19][22],[29]} Nobiletin berperan dalam menurunkan ekspresi mRNA PEPCK dan G6Pase, tetapi nobiletin tidak memiliki pengaruh terhadap glukoneogenesis di hati.^[22] Selain itu, kaempferol menunjukkan penurunan aktivitas PC secara signifikan pada tikus diabetes, tetapi tidak menunjukkan penurunan ekspresi dari protein PEPCK, G6Pase, dan PC. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kaempferol dapat memperbaiki hiperglikemia pada tikus diabetes dengan menekan proses glukoneogenesis melalui regulasi piruvat karboksilase di hati.^[24]

Pada penderita diabetes, umumnya terjadi peningkatan glikolisis dan glukoneogenesis dan penurunan sintesis glikogen di hati.^{[32][33]} Heksokinase merupakan enzim di hati yang memiliki peran dalam pembentukan glikogen karena dapat mengkatalisis langkah awal pemanfaatan glukosa menjadi glukosa-6-fosfat yang dapat mengarah pada pembentukan glikogen dan jalur pentosa fosfat. Peningkatan ekspresi heksokinase dapat menurunkan glukosa darah karena adanya peningkatan penyimpanan glikogen di hati.^[34] Aktivitas heksokinase meningkat secara

signifikan pada pemberian kaempferol, hesperidin, dan naringin yang ditandai dengan peningkatan glikogen hati.^{[24],[30]}

4.3 Jalur I-2R yang menghambat glukoneogenesis dan perbaikan glikogen hati

Flavonoid pada kulit jeruk yaitu diosmin dapat dimanfaatkan untuk terapi kelainan metabolisme glukosa karena dapat menginduksi *β-endorphine-like immunoreactivity* (BER). β -endorfin dapat menurunkan hiperglikemia pada tikus diabetes dengan mengubah tingkat glikogen hati, lemak, dan ekspresi PEPCK. Diosmin dapat menginduksi penghambatan glukoneogenesis dan memperbaiki penurunan sintesis glikogen hati dengan mengaktifkan reseptor imidazoline I-2 (I-2R).^[35] Diosmin mengaktifkan sel *Chinese Hamster Ovary* (CHO) yang menghasilkan I-2R yang berkaitan dengan metabolisme glukosa jaringan perifer. Diosmin dapat mengaktifkan I-2R untuk meningkatkan sekresi β -endorfin dari kelenjar adrenal, menjaga homeostasis metabolisme, sehingga menurunkan hiperglikemia dan lipid.^{[21],[36],[37]} Dengan demikian, adanya blokade oleh antagonis pada I-2R dapat menghambat ekspresi peningkatan BER oleh diosmin dan efek lainnya yang diinduksi oleh diosmin.

4.4 Memperbaiki kerusakan pada sel islet pankreas dan stimulasi sekresi insulin

Kaempferol dapat menurunkan kadar glukosa darah tanpa mengubah

konsentrasi insulin dan glukagon pada tikus diabetes melalui efek peningkatan aktivitas heksokinase di hati dan otot.^[38] Terapi dengan tangeretin meningkatkan kemampuan regeneratif sel islet dan memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengatur enzim glikolitik dan metabolisme glukosa pada jaringan hati tikus diabet dengan menstimulasi produksi insulin pada sel beta.^[20] Hesperidin memiliki khasiat antioksidan yang dapat melindungi sel islet pankreas dari kerusakan, meningkatkan insulin, dan menurunkan glukosa darah, membantu pembentukan glikogen, dan mengatasi glikolisis serta enzim glukoneogenesis.^[19] Studi histologi menunjukkan naringenin memiliki efek protektif terhadap jaringan pankreas tikus diabetes sebagai efek antioksidan, memicu stimulasi sekresi insulin, memperbaiki pensinyalan insulin, dan sensitivitasnya.^{[23],[39]}

4.5 Regulasi pensinyalan insulin dan lipogenesis adiposit

Ekspresi GLUT4 dalam memfasilitasi pengambilan glukosa dipengaruhi oleh jalur pensinyalan insulin melalui mekanisme fosforilasi pada reseptor insulin yang kemudian mengaktifkan jalur pensinyalan fosfatidil inositol 3 kinase (PI3K) dan protein kinase B (Akt).^[40] Protein kinase B yang terfosforilasi berperan sebagai katalis fosforilasi dari subunit protein AS160 untuk translokasi transporter glukosa ke membran sel untuk pengambilan glukosa dan enzim *glycogen synthase*

kinase 3 (GSK3) yang berfungsi dalam sintesis glikogen.^[41] Menurut penelitian yang dilakukan oleh Lee et al. (2013) dan Alkhalidy et al. (2018), konsentrasi protein kinase B yang berperan penting dalam regulasi pensinyalan insulin ini dapat dimaksimalkan dengan pemberian nobiletin dan kaempferol dari kulit buah jeruk.^{[22],[24]}

Jalur pensinyalan insulin juga berhubungan dengan jaringan adiposa di dalam tubuh. Proses diferensiasi dari fenotip fibroblas sel 3T3-L1 menjadi adiposit dewasa umumnya menggunakan agen yang mendukung diferensiasi, salah satunya ialah insulin.^[42] Menurut Miyata dkk. (2011), nobiletin dan tangeretin dapat menginduksi diferensiasi *cell line* pre-adiposa 3T3-L1 dan meningkatkan sensitivitas insulin.^[43] Sensitivitas insulin juga dapat ditingkatkan dengan tingginya aktivitas *peroxisome proliferator-activated receptors-γ* (PPAR γ) suatu reseptor nukleus dan faktor transkripsi pada jaringan adiposa.^[22] Pengaktifan PPAR γ akan meregulasi ekspresi adipokin atau protein yang dihasilkan oleh jaringan adiposa, seperti adiponektin dan resistin.^[44] Peningkatan ekspresi PPAR γ oleh flavonoid kulit jeruk dapat ditunjukkan pada pemberian nobiletin. Adiponektin merupakan salah satu jenis adipokin yang berperan sebagai *insulin sensitizing factor*.^[43] Adiponektin yang berikatan dengan AdipoR1 dan AdipoR2, kemudian mengaktifkan jalur pensinyalan insulin PI3K/Akt.^[45]

Nobiletin dan tangeretin dalam kulit jeruk mampu meningkatkan sekresi adiponektin sehingga sensitivitas sel terhadap insulin meningkat.^[43] Adipokin yang dihasilkan oleh jaringan adiposa juga dapat berperan sebagai *insulin resistance factor*, diantaranya adalah resistin dan *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1).^[43] Kadar resistin dapat diturunkan dengan pemberian nobiletin, sedangkan kadar MCP-1 dapat diturunkan oleh nobiletin dan tangeretin.^[43]

4.6 Peran Flavonoid pada Penghambatan Komplikasi Diabetes

Enzim aldosa reduktase mengubah aldehyd toksik pada sel menjadi alkohol. Namun saat konsentrasi glukosa terlalu tinggi, aldosa reduktase akan mereduksi glukosa menjadi sorbitol.^[46] Aktivitas penghambatan enzim aldosa reduktase ditunjukkan oleh poncirin dan didymin pada pengujian *in vitro*.^{[14],[15]} Peningkatan sorbitol akan mengurangi jumlah glutathion tereduksi yang selanjutnya akan berpengaruh pada pengurangan kapasitas menghilangkan radikal bebas.^[14] Radikal bebas produksinya meningkat oleh penurunan aktivitas katalase (CAT), superoksida dismutase (SOD), dan glutathion peroksidase (GPx).^[47] Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Liu et al. (2018), tangeretin diketahui memiliki efek meningkatkan aktivitas SOD, CAT, dan GPx.^[24] Radikal bebas yang telah

diproduksi efeknya masih bisa dihambat oleh sebuah antioksidan. Flavonoid yang merupakan antioksidan alami memiliki aktivitas penangkapan radikal spesies oksigen reaktif (ROS) dan ONOO⁻ adalah didymin.^[14]

Pada keadaan hiperglikemia berkepanjangan, glukosa mampu membentuk ikatan kovalen dengan protein plasma melalui proses glikasi menghasilkan produk berupa *advanced glycation end products* (AGEs) yang mampu diinhibisi oleh didymin.^[14] Pembentukan AGE secara memicu aktivasi faktor transkripsi NF- κ B.^[29] Aktivitas inhibisi aktivasi faktor tersebut dimiliki oleh tangeretin dan kuersetin.^{[16],[47]}

Pada patogenesis nefropati diabetes, α -klotho sebagai agen protektif renal menghasilkan efek antioksidan sehingga memproteksi nefron ginjal dari stress oksidatif.^[48] Hesperidin mampu meningkatkan aktivitas α -Klotho menurut penelitian yang dilakukan oleh Dokumacioglu et al. (2019).^[18] Beberapa flavonoid seperti tangeretin dan nobiletin terbukti mampu menurunkan sekresi MCP-1 dari situs inflamasi yang dihasilkan sehingga menghambat nefropati diabetes.^[43]

5. KESIMPULAN

Sebagai alternatif herbal anti diabetes, kulit buah jeruk memiliki efek mengurangi kadar glukosa darah yang potensial untuk dimanfaatkan. Efek tersebut dimiliki oleh senyawa flavonoid yang terkandung dalam kulit buah jeruk.

Suatu senyawa flavonoid memiliki mekanisme beragam dalam menurunkan kadar glukosa darah dalam manajemen penyakit diabetes melalui penghambatan enzim metabolisme, peningkatan sekresi insulin, menurunkan apoptosis dan promosi proliferasi sel islet pankreas, serta menurunkan resistensi insulin dan stres oksidatif. Flavonoid memiliki potensi mencegah terjadinya diabetes dan komplikasinya.

6. SARAN

Hasil kajian pustaka ini menunjukkan bahwa kulit jeruk memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah. Saat ini penelitian pemberian dosis flavonoid kulit jeruk telah dilakukan pada hewan uji, sehingga dosis tersebut belum bisa diberikan pada manusia. Dengan demikian, penelitian lebih lanjut mengenai keamanan dan efikasi flavonoid dibutuhkan untuk pengembangan flavonoid kulit buah jeruk sebagai terapi alternatif diabetes melitus. Kulit jeruk dapat juga dikembangkan menjadi suplemen atau olahan bebas gula ataupun bahan campuran pada makanan sebagai pencegah diabetes.

7. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang turut berkontribusi dalam penyelesaian tulisan ini, Kepada Direktorat Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia yang

telah memberikan bantuan finansial melalui program PKM tahun 2020, dan dosen pembimbing.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] WHO. (2020). Diabetes. Diakses dari: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1
- [2] Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V. S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Shekhawat, N. S., Montales, M. T., Kuriakose, K., Sasapu, A., Beebe, A., Patil, N., Musham, C. K., Lohani, G. P., & Mirza, W. (2017). Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Melitus Management. *Frontiers in endocrinology*, 8, 6. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00006>
- [3] Liu, C., Zhang, X., Liu, C., Ewen, M., Zhang, Z., & Liu, G. (2017). Insulin prices, availability and affordability: a cross-sectional survey of pharmacies in Hubei Province, China. *BMC Health Services Research*, 17(1). doi: 10.1186/s12913-017-2553-0
- [4] Mahato, N., Sharma, K., Sinha, M., Baral, E., Koteswararao, R., & Dhyani, A. et al. (2020). Bio-sorbents, industrially important chemicals and novel materials from citrus processing waste as a sustainable and renewable bioresource: A review. *Journal Of Advanced Research*, 23, 61-82. doi: 10.1016/j.jare.2020.01.007
- [5] AL-Ishaq, Abotaleb, Kubatka, Kajo, &

- Büsselberg. (2019). Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels. *Biomolecules*, 9(9), 430. doi: 10.3390/biom9090430
- [6] Marles, R.J., Farnsworth, N.R., (1995). Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine* 2, 137–189.
- [7] Sarian, M. N., Ahmed, Q. U., Mat So'ad, S. Z., Alhassan, A. M., Murugesu, S., Perumal, V., Syed Mohamad, S., Khatib, A., & Latip, J. (2017). Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. *BioMed research international*, 2017, 1-14. doi.org/10.1155/2017/8386065
- [8] Ghasemi, K., Yosef, G. & Mohammad A., (2009). Antioxidant Activity, Phenol And Flavonoid Contents of 13 Citrus Species Peels and Tissues, *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22
- [9] Gattuso G, Barreca D, Gargiulli C et al (2007) Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* 12:1641–1673
- [10] Tripoli E, Guardia ML, Giammanco S, Majo DD, Giammanco M (2007) Citrus flavonoids: molecular structure, biological activity and nutritional properties: a review. *Food Chem* 104(2): 466–479
- [11] Chen, Q., Wang, D., Tan, C., Hu, Y., Sundararajan, B., & Zhou, Z. (2020). Profiling of Flavonoid and Antioxidant Activity of Fruit Tissues from 27 Chinese Local Citrus Cultivars. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(2), 196.
- [12] Zhao, Z.Y.; He, S.S.; Hu, Y.; Yang, Y.; Jiao, B.N.; Fang, Q.; Zhou, Z.Q. Fruit flavonoid variation between and within four cultivated Citrus species evaluated by UPLC-PDA system. *Acta Horticulturae Sin.* 2017, 224, 93–101, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.05.038>
- [13] Sahnoun, M., Trabelsi, S., & Bejar, S. (2017). Citrus flavonoids collectively dominate the α -amylase and α -glucosidase inhibitions. *Biologia*, 72, 764–773
- [14] Ali, M., Zaib, S., Rahman, M., Jannat, S., Iqbal, J., Park, S., & Chang, M. (2019). Didymin, a dietary citrus flavonoid exhibits anti-diabetic complications and promotes glucose uptake through the activation of PI3K/Akt signaling pathway in insulin-resistant HepG2 cells. *Chemico-Biological Interactions*, 305, 180-194. doi: 10.1016/j.cbi.2019.03.018
- [15] Yousof Ali, M., Zaib, S., Mizanur Rahman, M., Jannat, S., Iqbal, J., Kyu Park, S., & Seog Chang, M. (2020). Poncirin, an orally active flavonoid exerts antidiabetic complications and improves glucose uptake activating PI3K/Akt signaling pathway in insulin resistant C2C12 cells with anti-glycation capacities. *Bioorganic Chemistry*, 102, 104061. doi: 10.1016/j.bioorg.2020.104061

- [16] Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Tomé, S. M., Oliveira, E., Viegas, M. F., Araújo, A. N., Ramos, M. J., Silva, A., Fernandes, P. A., & Fernandes, E. (2019). Evaluation of a flavonoids library for inhibition of pancreatic α -amylase towards a structure-activity relationship. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 34(1), 577–588.
<https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1558221>
- [17] Lo Piparo, E., Scheib, H., Frei, N., Williamson, G., Grigorov, M., & Chou, C. J. (2008). Flavonoids for controlling starch digestion: structural requirements for inhibiting human alpha-amylase. *Journal of medicinal chemistry*, 51(12), 3555–3561.
<https://doi.org/10.1021/jm800115x>
- [18] Dokumacioglu, E., Iskender, H., & Musmul, A. (2019). Effect of hesperidin treatment on α -Klotho/FGF-23 pathway in rats with experimentally-induced diabetes. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 109, 1206–1210.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.192>
- [19] Akiyama, S., Katsumata, S., Suzuki, K., Ishimi, Y., Wu, J., & Uehara, M. (2010). Dietary Hesperidin Exerts Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects in Streptozotocin-Induced Marginal Type 1 Diabetic Rats. *Journal Of Clinical Biochemistry And Nutrition*, 46(1), 87-92. doi: 10.3164/jcbrn.09-82
- [20] Sundaram, R., Shanthi, P., & Sachdanandam, P. (2014). Effect of tangeretin, a polymethoxylated flavone on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 21(6), 793–799.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.01.007>
- [21] Hsu, C., Lin, M., Cheng, J., & Wu, M. (2017). Diosmin, a Citrus Nutrient, Activates Imidazoline Receptors to Alleviate Blood Glucose and Lipids in Type 1- Like Diabetic Rats. *Nutrients*, 9(7), 684. doi: 10.3390/nu9070684
- [22] Lee, Y., Cha, B., Choi, S., Choi, B., Yonezawa, T., & Teruya, T. et al. (2013). Nobiletin improves obesity and insulin resistance in high-fat diet-induced obese mice. *The Journal Of Nutritional Biochemistry*, 24(1), 156-162. doi: 10.1016/j.jnutbio.2012.03.014
- [23] T, Annadurai & Dharan, Murali & Joseph, T & Hsu, M & Thomas, Philip & Geraldine, Pitchairaj. (2012). Antihyperglycemic and antioxidant effects of a flavanone, naringenin, in streptozotocin–nicotinamide-induced experimental diabetic rats. *Journal of physiology and biochemistry*. 68. 307- 18. 10.1007/s13105-011-0142-y
- [24] Alkhalidy, H., Moore, W., Wang, Y.,

- Luo, J., McMillan, R. P., Zhen, W., Zhou, K., & Liu, D. (2018). The Flavonoid Kaempferol Ameliorates Streptozotocin- Induced Diabetes by Suppressing Hepatic Glucose Production. *Molecules* (Basel, Switzerland), 23(9), 2338. <https://doi.org/10.3390/molecules23092338>
- [25] Martinez-Gonzalez, A. I., Díaz-Sánchez, Á. G., Rosa, L. A., Vargas-Requena, C. L., Bustos-Jaimes, I., & Alvarez-Parrilla, A. E. (2017). Polyphenolic Compounds and Digestive Enzymes: In Vitro Non-Covalent Interactions. *Molecules* (Basel, Switzerland), 22(4), 669. <https://doi.org/10.3390/molecules22040669>
- [26] Patel, H., Royall, P. G., Gaisford, S., Williams, G. R., Edwards, C. H., Warren, F. J., Flanagan, B. M., Ellis, P. R., & Butterworth, P. J. (2017). Structural and enzyme kinetic studies of retrograded starch: Inhibition of α -amylase and consequences for intestinal digestion of starch. *Carbohydrate polymers*, 164, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.040>
- [27] Etxeberria, U., de la Garza, A. L., Campión, J., Martínez, J. A., & Milagro, F. I. (2012). Antidiabetic effects of natural plant extracts via inhibition of carbohydrate hydrolysis enzymes with emphasis on pancreatic alpha amylase. *Expert opinion on therapeutic targets*, 16(3), 269–297. <https://doi.org/10.1517/14728222.2012.664134>
- [28] Salehi, B., Fokou, P., Sharifi-Rad, M., Zucca, P., Pezzani, R., Martins, N., & Sharifi-Rad, J. (2019). The Therapeutic Potential of Naringenin: A Review of Clinical Trials. *Pharmaceuticals* (Basel, Switzerland), 12(1), 11. <https://doi.org/10.3390/ph12010011>
- [29] Chaudhuri, J., Bains, Y., Guha, S., Kahn, A., Hall, D., & Bose, N. et al. (2018). The Role of Advanced Glycation End Products in Aging and Metabolic Diseases: Bridging Association and Causality. *Cell Metabolism*, 28(3), 337–352. doi: 10.1016/j.cmet.2018.08.014
- [30] Mahmoud, A., Ahmed, O., Ashour, M., & Abdel-Moneim, A. (2015). In vivo and in vitro antidiabetic effects of citrus flavonoids; a study on the mechanism of action. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 35, 250-263.
- [31] Waltner-Law, M. E., Wang, X. L., Law, B. K., Hall, R. K., Nawano, M., & Granner, D. K. (2002). Epigallocatechin gallate, a constituent of green tea, represses hepatic glucose production. *The Journal of biological chemistry*, 277(38), 34933–34940. <https://doi.org/10.1074/jbc.M204672200>
- [32] Jung, U. J., Lee, M. K., Jeong, K. S., & Choi, M. S. (2004). The

- hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose- regulating enzymes in C57BL/KsJ-db/db mice. *The Journal of nutrition*, 134(10), 2499–2503.
<https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2499>
- [33] Raju, J., Gupta, D., Rao, A. R., Yadava, P. K., & Baquer, N. Z. (2001). Trigonellafoenum graecum (fenugreek) seed powder improves glucose homeostasis in alloxan diabetic rat tissues by reversing the altered glycolytic, gluconeogenic and lipogenic enzymes. *Molecular and cellular biochemistry*, 224(1-2), 45–51.
<https://doi.org/10.1023/a:1011974630828>
- [34] Ilyedjian, P. B., Gjinovci, A., & Renold, A. E. (1988). Stimulation by insulin of glucokinase gene transcription in liver of diabetic rats. *The Journal of biological chemistry*, 263(2), 740–744.
- [35] Hwang, S. L., Liu, I. M., Tzeng, T. F., & Cheng, J. T. (2005). Activation of imidazoline receptors in adrenal gland to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia*, 48(4), 767–775.
<https://doi.org/10.1007/s00125-005-1698-2>
- [36] Hudson, A. L., Gough, R., Tyacke, R., Lione, L., Lallies, M., Lewis, J., Husbands, S., Knight, P., Murray, F., Hutson, P., & Nutt, D. J. (1999). Novel selective compounds for the investigation of imidazoline receptors. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 881, 81-91.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb09344.x>
- [37] Cheng, J. T., Liu, I. M., Tzeng, T. F., Tsai, C. C., & Lai, T. Y. (2002). Plasma glucose-lowering effect of beta-endorphin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*, 34(10), 570–576.
<https://doi.org/10.1055/s-2002-35418>
- [38] Ilyedjian, P. B., Jotterand, D., Nospikel, T., Asfari, M., & Pilot, P. R. (1989). Transcriptional induction of glucokinase gene by insulin in cultured liver cells and its repression by the glucagon-cAMP system. *The Journal of biological chemistry*, 264(36), 21824–21829.
- [39] Kannappan, S., & Anuradha, C. V. (2010). Naringenin enhances insulin-stimulated tyrosine phosphorylation and improves the cellular actions of insulin in a dietary model of metabolic syndrome. *European journal of nutrition*, 49(2), 101–109.
<https://doi.org/10.1007/s00394-009-0054-6>
- [40] Kousaxidis, A., Petrou, A., Lavrentaki, V., Fesatidou, M., Nicolaou, I., & Geronikaki, A. (2020). Aldose reductase and protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors as a promising therapeutic approach

- for diabetes melitus. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 207, 112742. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112742
- [41] Świdarska, E., Strycharz, J., Wróblewski, A., Szemraj, J., Drzewoski, J., & Śliwińska, A. (2020). Role of PI3K/AKT Pathway in Insulin-Mediated Glucose Uptake. Blood Glucose Levels. *Intechopen.80402* doi: 10.5772/intechopen.80402
- [42] Zebisch, K., Voigt, V., Wabitsch, M., & Brandsch, M. (2012). Protocol for effective differentiation of 3T3-L1 cells to adipocytes. *Analytical Biochemistry*, 425(1), 88-90. doi: 10.1016/j.ab.2012.03.005
- [43] Miyata, Y., Tanaka, H., Shimada, A., Sato, T., Ito, A., Yamanouchi, T., & Kosano, H. (2011). Regulation of adipocytokine secretion and adipocyte hypertrophy by polymethoxyflavonoids, nobiletin and tangeretin. *Life sciences*, 88(13-14), 613–618. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.01.024>
- [44] Choi, S., Park, J., & Choi, J. (2014). Revisiting PPAR γ as a target for the treatment of metabolic disorders. *BMB Reports*, 47(11), 599-608. doi: 10.5483/BMBRep.2014.47.11.174
- [45] Achari, A. E., & Jain, S. K. (2017). Adiponectin, a Therapeutic Target for Obesity, Diabetes, and Endothelial Dysfunction. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1321. <https://doi.org/10.3390/ijms18061321>
- [46] Brownlee, Michael. (2004). The Pathobiology of Diabetic Complications: A Unifying Mechanism. *Diabetes* 54(6): 1615-1625. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.6.1615>
- [47] Liu, Y., Han, J., Zhou, Z., & Li, D. (2019). Tangeretin inhibits streptozotocin-induced cell apoptosis via regulating NF- κ B pathway in INS-1 cells. *Journal of cellular biochemistry*, 120(3), 3286–3293. <https://doi.org/10.1002/jcb.27596>
- [48] Nakhoul Nakhoul, F. (2015). The Non Mineral Axis Klotho-Vitamin D in Diabetic Nephropathy: Review. *Journal Of Diabetes & Metabolism*, 06(07). doi: 10.4172/2155-6156.1000563