

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BATANG KIPAHIT
(*Tithonia diversifolia*) DAN UJI PENGHAMBATAN AKTIVITAS
ENZIM α -GLUKOSIDASE SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

THESIS

**Diajukan Sebagai Syarat Untuk Memperoleh Gelar Magister
Bidang Studi Kimia**



Oleh:

DANIEL ALFARADO

08092682327001

**PROGRAM MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

2025

HALAMAN PENGESAHAN

**ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BATANG KIPAHIT
(*Tithonia diversifolia*) DAN UJI PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α -
GLUKOSIDASE SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

TESIS

**Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat
Memperoleh Gelar Magister Kimia**

Oleh :

DANIEL ALFARADO

08092682327001

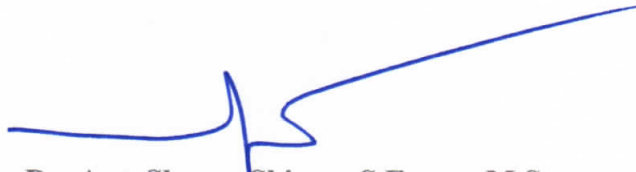
Palembang, 13 Mei 2025

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dr. Ferlinahayati, M.Si.
NIP. 197402052000032001**



**Dr. Apt. Shaum Shiyani, S.Farm., M.Sc.
NIP. 198605282012121005**

**Mengetahui,
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197111191997021001**

HALAMAN PERSETUJUAN

Tesis dengan judul “Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Batang Kipahit (*Tithonia diversifolia*) dan Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase Secara *In Vitro* Dan *In Silico*” telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Sidang Tesis Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sriwijaya Pada tanggal 9 Mei 2025 dan telah diperiksa, diperbaiki dan disetujui dengan saran dan masukan yang diberikan.

Palembang, 13 Mei 2025

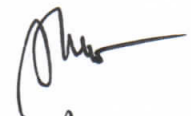
Pembimbing:

1. Dr. Ferlinahayati, M.Si.
NIP. 197402052000032001
2. Dr. Apt. Shaum Shiyani, S.Farm., M.Sc.
NIP. 198605282012121005

()
()

Penguji:

1. Prof. Dr. Muharni, M.Si.
NIP. 196903041994012001
2. Dr. Desnelli, M.Si.
NIP. 196912251997022001

()
()

Mengetahui,

Dekan FMIPA



Prof. Hermansyah, S.Si., M.Si., Ph.D.
NIP. 197111191997021001

Koordinator Program Studi



Dr. Ferlinahayati, M.Si.
NIP. 197402052000032001

**HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH
UNTUK KEPERLUAN AKADEMIS**

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Daniel Alfarado
NIM : 08092682327001
Prodi/ BKU : Magister (S2) Kimia/ Kimia Hayati
Jenis karya : Tesis

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya hak bebas royalty non-eksklusif (*nonexclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul **“Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Batang Kipahit (*Tithonia diversifolia*) dan Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase Secara *In Vitro* Dan *In Silico*”** dengan hak bebas royalty non-eksklusif ini Universitas sriwijaya berhak menyimpan, mengalih, memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir atau tesis saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Palembang, 13 Mei 2025

Yang menyatakan,



Daniel Alfarado

NIM.08092682327001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Daniel Alfarado

NIM : 08092682327001

Program Studi/BKU : Magister (S2) Kimia / Kimia Hayati

Menyatakan bahwa tesis yang berjudul **“Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Batang Kipahit (*Tithonia diversifolia*) dan Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase Secara *In Vitro* Dan *In Silico*”** ini adalah benar karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan persyaratan untuk memperoleh gelar magister (S2) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain.

Semua informasi yang dimuat dalam tesis ini yang berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan maupun tidak, telah diberikan penghargaan dengan mengutip sumber penulis secara benar. Semua isi dari tesis ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Palembang, 13 Mei 2025

Yang menyatakan,



Daniel Alfarado

NIM.08092682327001

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya kami adalah milik Allah, dan sesungguhnya kepada-Nya kami akan kembali”

(Q.S Al Baqarah: 156)

“ Cukupilah Allah menjadi penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik pelindung”

(Q.S Ali Imran: 173)

“ Tidak ada pemberian orang tua yang paling berharga kepada anaknya daripada pendidikan akhlak mulia”

(HR. Bukhari)

“ Tuntutlah ilmu, tapi tidak melupakan ibadah. Kerjakanlah ibadah tapi tidak boleh lupa pada ilmu pengetahuan”

(Hassan Al-Bashri)

Tesis ini sebagai tanda syukurku kepada Allah Subhanahu Wa Ta’aala, Tuhan Yang Maha Esa, atas limpahan rahmat, karunia, dan kasih sayang-Nya yang tak terhingga.

Tesis ini saya persembahkan kepada:

- Almarhuma Ibuku, Rosalina binti Wilhelm Mahler yang membesarkan dan mengajarkan kebaikan dan arti hidup, engkau akan selalu ada di hati, pikiran.
- Ayahku, Mansyur Syarkowi yang telah membesarkan, mendidik, dan menginspirasi serta mendoakan yang terbaik terhadap anaknya.
- Kakak dan adikku, Una Malissa, Wimpi Martin, Octo Sani, Dodi Syabana, yang selalu membantu dan menyemangati
- Dosen pembimbing dan seluruh pendidik, yang telah berbagi ilmu, bimbingan, serta wawasan yang begitu berharga.
- Civitas Akademik Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan tempat saya berkerja dan selalu memberikan inspirasi untuk terus berusaha dan belajar.
- Almamaterku (Universitas Sriwijaya)

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala Nikmat, Rahmat, dan Karunia yang telah dilimpahkan kepada penulis sehingga penulis akhirnya dapat menyelesaikan penulisan tesis yang berjudul “Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Batang Kipahit (*Tithonia diversifolia*) dan Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase Secara *In Vitro* Dan *In Silico*”. Shalawat serta Salam semoga selalu tercurah kepada Rasulullah Muhammad SAW, keluarga, sahabat, serta para saudara umat Islam di manapun berada. Tesis ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Master Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Jurusan Kimia Universitas Sriwijaya.

Proses penyusunan tesis dan penelitian tidak terlepas dari berbagai hambatan dan rintangan yang penulis hadapi. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa semua ini dapat terwujud karena bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibu tersayang **Rosalina (almarhuma)** dan Ayah tersayang **Mansyur Syarkowi**, Sebagai tanda bakti, hormat, dan rasa terima kasih yang tiada terhingga kupersembahkan karya kecil ini kepada Ibu dan Ayah yang telah memberikan kasih sayang, segala dukungan, dan cinta kasih yang tiada terhingga yang tiada mungkin dapat kubalas hanya dengan selembar kertas yang bertuliskan kata cinta dalam kata persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Ayah bahagia karna kusadar, selama ini belum bisa berbuat yang lebih. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan, kesehatan, dan kebahagiaan kepada Ayah dan Ibu, serta membalas segala kebaikan kalian dengan pahala yang berlipat ganda.
2. Saudara saya **Una Malissa, Wimpi Martin, Octo Sani** dan **Dodi Syabana**, terima kasih atas doa dan dukungannya kepadaku.
3. Ibu **Dr. Ferlinahayati, M.Si.** selaku dosen pembimbing I serta orang yang saya anggap sebagai ibu saya sendiri, saya sampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bimbingan, arahan, kesabaran, dan ilmu yang telah diberikan selama proses penelitian penyusunan tesis ini. Terima

kasih atas waktu yang diluangkan, motivasi, serta rasa kekeluargaan yang telah membantu saya menyelesaikan penelitian dan tesis ini. Saya juga mohon maaf apabila terdapat kekeliruan atau kekurangan dalam proses membimbing saya. Semoga segala yang telah Ibu berikan menjadi amal jariyah dan mendapatkan balasan terbaik dari Allah SWT.

4. Bapak **Dr. Apt. Shaum Shiyan, S.Farm., M.Sc.** selaku dosen pembimbing II atas segala bimbingan, kesabaran dan waktu yang diluangkan kepada penulis selama menjalankan penelitian dan penyusunan skripsi hingga selesai. Setiap masukan, bimbingan serta kemudahan yang bapak berikan yang diberikan sangat berarti bagi saya. Saya mohon maaf jika ada kekeliruan atau kekurangan dalam penelitian ini. Tetap selalu jadi dosen yang kece dan selalu menjaga kewarasan mental (seperti yang sering bapak ucapkan hehe)
5. Ibu **Prof. Dr. Muharni, M.Si.** dan Ibu **Dr. Desnelli, M.Si.** selaku dosen pembahas atau penguji, terima kasih atas masukan dan saran terkait penelitian dan dalam penyelesaian tesis. Terimakasih atas kemudahan yang diberikan. Terimakasih secara personal untuk prof. Muharni yang selalu jadi inspirasi dari saya dalam hal ilmu, karir, serta kepemimpinan yang banyak beliau ceritakan baik secara langsung maupun tersirat sehingga merupakan salah satu dosen yang memotivasi saya. Terimakasih juga secara personal terhadap Dr. Desnelli yang mengajarkan kepada saya arti dari kesabaran, lemah lembut dan bertutur kata yang baik yang merupakan juga kiblat dari saya dalam hal bertutur kata sopan santun dan lembut.
6. Seluruh **Dosen Jurusan Magister Kimia FMIPA**, Universitas Sriwijaya yang telah membimbing dan memberikan ilmu kepada penulis selama masa perkuliahan, terima kasih atas setiap pelajaran kehidupan yang diberikan.
7. **Diri sendiri**, yang sudah mengorbankan waktu dan tenaga dalam menjalankan penelitian sampai menyelesaikan tesis ini disaat sibuk berkerja dan memikirkan keluarga merupakan hal yang selalu dipikirkan. Perasaan suka dan duka yang dirasakan terutama masalah keuangan yang meredupkan semangat untuk berkuliah saat perjalanan telah terbalaskan dengan selesainya karya ini dan beberapa karya publikasi serta didapatnya beasiswa. Semangat untuk perjalanan selanjutnya, jalan masih panjang dan hadapi dengan liku.

8. **Ayuni Harum Wulandari.** Terima kasih karena selalu memberikan ruang dan waktu kepada penulis dalam menyampaikan semua kesedihan atau kebahagiaan yang dirasakan oleh penulis selama masa penelitian sampai dengan menyelesaikan tesis. Tesis ini juga merupakan persembahan istimewa untuk orang yang saya cintai. Terima kasih atas dukungan dari awal sampai akhir, kebaikan, perhatian, dan kebijaksanaan. Terima kasih karena memberi tahu saya cara hidup dengan jujur dan Bahagia. Semoga kita bisa sukses bersama-sama dan bisa membanggakan kedua orangtua kita.
9. Sahabat-sahabat saya selama S2 yaitu **Maftuh Gozali** (The Walid Banyuasin), **Muhammad Evan** (The Jamet Paku Santet), dan **Gierrald Abduch** (The G Jamet). Terimakasih telah membantu penulis selama ini dari suka, duka, dan kebutuhannya. Kalian sudah saya anggap sebagai keluarga saya sendiri tanpa mengenal ras dan etnis. saya bangga mempunyai teman seperjuangan yang saling memotivasi, saling menolong serta saling bervisi memajukan indonesia. Sampai jumpa di tempat tertinggi.
10. Teman-teman S2 saya **Yollanda Nurcholifah** (Mbak yollan the Hydrogen Girl), **Dwilia Julia**, **Miftahul**, **Restri Diah Clarissa** (King of Kuntilanak), **Yunia Harum Hariyanti** (The Heksan of slipery), serta **Novia Widia Ningsih**. Terima kasih sudah menjadi teman berharga selama perkuliahan.
11. Pimpinan civitas akademika FKIP Universitas Sriwijaya **Dr. Hartono, M.A.** (Dekan) dan **Prof. Nyimas Aisyah, Ph.D.**(WD 2) yang percaya kepada saya dan memberikan izin untuk berkuliah selagi bekerja di FKIP. Saya siap untuk mengabdikan diri dan mengajarkan ilmu jika diperlukan oleh fakultas demi mewujudkan fakultas yang lebih baik dan berkompeten.
12. Pimpinan jurusan P-MIPA FKIP yaitu **Dr. Ketang Wiyono** (Kajur) dan **Dr. Diah Kartika Sari** (Koor. P.Kimia) yang memotivasi beliau juga dalam bekerja dan kuliah dengan giat. Terima kasih juga kepada bapak yang saya hargai, cintai serta yang menjadi kiblat saya dalam mengajar ilmu yaitu **Drs. Made Sukaryawan, M.Si., Ph.D.** (Dosen Biokimia FKIP), ilmu yang bapak tunjukkan dalam mengajar merupakan sesuatu yang istimewa bagi saya serta patut untuk dicontoh dan ditiru. Terimakasih bapak telah membantu saya

SUMMARY

ISOLATION OF SECONDARY METABOLITES OF KIPAHIT STEM (*Tithonia diversifolia*) AND α -GLUCOSIDASE ENZYME ACTIVITY INHIBITION TEST *IN VITRO* AND *IN SILICO*

Daniel Alfarado: Supervised by Dr. Ferlinahayati, M.Si. And Dr. apt. Shaum Shiyan, M.Sc.

Master of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Science, Sriwijaya University.

xxiii + 162 pages, 31 tables, 89 figures, 12 supplementary

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is a degenerative disease that can be treated by inhibiting the α -glucosidase enzyme using plants, one of which is *Tithonia diversifolia*, which has traditionally been used to treat diabetes. The purpose of this study was to isolate pure compounds from *T. diversifolia* and determine the α -glucosidase enzyme inhibitory activity of extracts, fractions, and stems of the isolated compounds *in vitro* and *in silico*. The stems of *T. diversifolia* were extracted using methanol, followed by fractionation using *n*-hexane and ethyl acetate. The separation of compounds was carried out using various chromatography techniques, while the structure of the compounds was determined using NMR data. The enzyme inhibitory activity *in vitro* was tested using the spectrophotometric method, while *in silico* analysis was carried out using molecular docking. Seven chromene compounds have been successfully isolated from *T. diversifolia*, namely 6-acetyl-7-hydroxy-2,2-dimethylchromene (T1), 6-acetyl-2,2-dimethylchromene (T2), 6-hydroxy-2,2-dimethylchromene (T3), 6-acetyl-8-hydroxy-2,2-dimethylchromene (T4), 6-acetyl-2,2-dimethylchromene-8-O- β -glucose (T5), 6-acetyl-7,14-dihydroxy-2,2-dimethylchromene (T6), and 6-acetyl-14-hydroxy-2,2-dimethylchromene (T7) where compounds T3, T6 and T7 are compounds that have been isolated for the first time from this plant. The IC₅₀ values for inhibition of α -glucosidase enzyme in methanol extract, *n*-hexane fraction, and ethyl acetate fraction were 105.0, 22.76, and 105.1 μ g/mL, respectively, while the IC₅₀ values for isolated compounds T1, T2, T3, T4, T5, T6, and T7 were >1,000; 640.1; 256.7; 23.6; >1,000; 88.6; and 100.6 μ g/mL, respectively. Enzyme kinetic studies of three potential compounds (T4, T6, and T7) revealed that T4 followed a non-competitive mechanism, while T6 and T7 showed competitive inhibition. Molecular docking showed that T5 has similar amino acid interactions with acarbose, while the best binding affinity energy and inhibition constant were observed in T4 (-7.716 kcal/mol and 2.19 μ M). Based on the study, T4 is the best compound in inhibiting enzyme activity *in vitro* and *in silico*.

Keywords: *Tithonia diversifolia*, chromene compound, α -glucosidase enzyme, molecular docking, enzyme kinetics

Citations: 131 (1985 - 2025)

RINGKASAN

ISOLASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BATANG KIPAHIT (*Tithonia diversifolia*) DAN UJI PENGHAMBATAN AKTIVITAS ENZIM α - GLUKOSIDASE SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO*

Daniel Alfarado: dibimbing oleh Dr. Ferlinahayati, M.Si. dan Dr. apt. Shaum Shiyon, M.Sc.

Program Studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sriwijaya

xxiii + 162 halaman, 31 tabel, 89 gambar, 11 lampiran

Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit degeneratif yang dapat ditangani dengan menghambat enzim α -glukosidase menggunakan tumbuhan salah satunya *Tithonia diversifolia*, yang secara tradisional telah digunakan untuk mengobati diabetes. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi senyawa murni dari batang *T. diversifolia* dan menentukan aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak, fraksi, dan senyawa yang diisolasi secara *in vitro* dan *in silico*. Batang *T. diversifolia* diekstraksi menggunakan metanol, diikuti dengan fraksinasi menggunakan n-heksana dan etil asetat. Pemisahan senyawa dilakukan menggunakan berbagai teknik kromatografi, sedangkan struktur senyawa ditentukan menggunakan data NMR. Aktivitas penghambatan enzim secara *in vitro* diuji menggunakan metode spektrofotometri, sedangkan analisis *in silico* dilakukan menggunakan *Molecular Docking*. Tujuh senyawa kromen telah berhasil diisolasi dari batang *T. diversifolia*, yaitu 6-asetil-7-hidroksi-2,2-dimetilkromen (T1), 6-asetil-2,2-dimetilkromen (T2), 6-hidroksi-2,2-dimetilkromen (T3), 6-asetil-8-hidroksi-2,2-dimetilkromen (T4), 6-asetil-2,2-dimetilkromen-8-O- β -glukosa (T5), 6-asetil-7,14-dihidroksi-2,2-dimetilkromen (T6), dan 6-asetil-14-hidroksi-2,2-dimetilkromen (T7) dimana senyawa T3, T6 dan T7 merupakan senyawa yang baru pertama kali diisolasi dari tumbuhan ini. Nilai IC₅₀ untuk penghambatan enzim α -glukosidase pada ekstrak metanol, fraksi n-heksana, dan fraksi etil asetat masing-masing adalah 105.0, 22.76, dan 105.1 μ g/mL, sedangkan nilai IC₅₀ untuk senyawa yang diisolasi T1, T2, T3, T4, T5, T6, dan T7 masing-masing adalah >1.000; 640.1; 256.7; 23.6; >1.000; 88.6; dan 100.6 μ g/mL. Studi kinetik enzim dari tiga senyawa potensial (T4, T6, dan T7) mengungkapkan bahwa T4 mengikuti mekanisme unkompetitif, sedangkan T6 dan T7 menunjukkan penghambatan kompetitif. *Molecular docking* menunjukkan T5 memiliki interaksi asam amino mirip dengan akarbosa, sedangkan energi afinitas pengikatan dan konstanta inhibisi terbaik diamati pada T4 (-7.716 kkal/mol dan 2,19 μ M). Berdasarkan penelitian, T4 merupakan senyawa yang terbaik dalam menghambat aktivitas enzim secara *in vitro* dan *in silico*.

Kata Kunci: *Tithonia diversifolia*, senyawa kromen, enzim α -glukosidase, *molecular docking*, kinetika enzim

Kepustakaan: 131 (1985 - 2025)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPERLUAN AKADEMIS	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH.....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
SUMMARY.....	x
RINGKASAN	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR TABEL.....	xxi
DAFTAR LAMPIRAN	xxiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Hipotesis Penelitian	4
1.4. Tujuan Penelitian	4
1.5. Manfaat penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. Deskripsi Tumbuhan <i>T. diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray	6
2.2. Manfaat Tumbuhan <i>T. diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray	6
2.3. Metabolit Sekunder Tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	7
2.3.1. Terpenoid.....	8
2.3.2. Steroid.....	17
2.3.3. Fenil Propanoid dan Asam Galat.....	19
2.3.4. Flavonoid.....	23
2.3.5. Alkaloid	26
2.4. Bioaktivitas tumbuhan <i>T. diversifolia</i>	27
2.5. Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi.....	30
2.5.1. Spektroskopi UV-Vis	30

2.5.2.	Spektroskopi IR	31
2.5.3.	Spektroskopi Resonansi Magnet Inti.....	32
2.6.	Penyakit Diabetes Mellitus dan Senyawa Aktif sebagai Obat Antidiabetes.	37
2.7.	Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -glukosidase.	39
2.8.	Kinetika Enzim	41
2.9.	Uji aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase secara <i>in silico</i>	43
BAB III METODE PENELITIAN		47
3.1.	Waktu dan Tempat.....	47
3.2.	Alat dan Bahan	47
3.2.1.	Alat.....	47
3.2.2.	Bahan	47
3.3.	Prosedur Penelitian	48
3.3.1.	Persiapan sampel.....	48
3.3.2.	Ekstraksi dan Fraksinasi Batang Kipahit	48
3.3.3.	Pemisahan dan Pemurnian Senyawa Metabolit Sekunder	48
3.3.4.	Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Isolasi	49
3.3.5.	Pengujian Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase (Ferlinahayati <i>et al.</i> 2020).....	49
3.3.5.1.	Penyiapan larutan uji.....	49
3.3.5.2.	Uji Aktivitas Penghambatan enzim α -glukosidase.....	49
3.3.5.3.	Uji Kinetikvitas Penghambatan Kerja Enzim α -glukosidase.....	51
3.3.6.	Studi <i>In Silico</i> Penambatan Molekul pada Penghambatan Enzim α -glukosidase	51
3.3.6.1.	Perangkat Lunak dan Database	51
3.3.6.2.	Preparasi Ligan	52
3.3.6.3.	Preparasi Molekul Reseptor	52
3.3.6.4.	Pengaturan Grid, Persiapan Text dan Validasi Metode (Redocking).....	52
3.3.6.5.	Simulasi Docking Ligan dengan Enzim Reseptor	53

3.3.5.6. Analisis Hasil Docking (RMSD, Interaksi Ikatan, Nilai Energi Afinitas, dan Konstanta Inhibisi	53
BAB IV PEMBAHASAN.....	55
4.1. Ekstraksi dan Fraksinasi <i>T. diversifolia</i>	55
4.2. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi <i>n</i> -heksana <i>T. diversifolia</i>	55
4.3. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat <i>T. diversifolia</i>	61
4.3.1. Pemisahan Senyawa T3 dan T4	62
4.3.2. Pemisahan Senyawa T5	66
4.3.3. Senyawa T6 dan T7	69
4.4. Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi Fraksi <i>n</i> -Heksan <i>T. diversifolia</i>	71
4.4.1. Senyawa T1	71
4.4.2. Senyawa T2	74
4.5. Penentuan Struktur Senyawa Hasil Isolasi Fraksi etil asetat <i>T. diversifolia</i>	80
4.5.1. Senyawa T3	80
4.5.2. Senyawa T4	85
4.5.3. Senyawa T5	87
4.5.4. Senyawa T6	93
4.5.5. Senyawa T7	98
4.6. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase <i>T. diversifolia</i> secara <i>in vitro</i>	103
4.6.1. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase ekstrak dan fraksi batang <i>T. diversifolia</i>	103
4.6.2. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase senyawa hasil isolasi dari batang <i>T. diversifolia</i> ...	105
4.7. Kinetika penghambatan Enzim senyawa hasil isolasi <i>T. diversifolia</i>	107
4.8. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim α -glukosidase <i>T. diversifolia</i> secara <i>in silico</i> : Studi <i>Molecular Docking</i>	110
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	115
5.1. Kesimpulan.....	115
5.2. Saran	115

DAFTAR PUSTAKA	117
LAMPIRAN	128

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tumbuhan <i>T. diversifolia</i> beserta klasifikasi ilmiahnya.....	6
Gambar 2. (a) Kerangka dasar dan (b) biosintesis terpenoid.....	9
Gambar 3. Kerangka dasar seskuiterpen lakton	10
Gambar 4. (a) Kerangka dasar dan (b) biosintesis steroid.....	18
Gambar 7. Biosintesis flavonoid.....	23
Gambar 8. Kerangka utama kelompok flavonoid.....	24
Gambar 9. Asam amino prekursor pembentuk senyawa alkaloid	26
Gambar 10. Hubungan antara energi dan transisi elektron.	31
Gambar 11. Skala pergeseran kimia resonansi proton dalam senyawa organik..	33
Gambar 12. Pergeseran kimia atom C pada C-NMR secara umum	34
Gambar 13. Spektrum H,H-COSY Asam Glutamat.....	36
Gambar 14. Spektrum 2D-RMI (a) HSQC dan (b) HMBC.....	37
Gambar 16. Struktur molekul senyawa miglitol.....	39
Gambar 17. Reaksi Enzimatis α -glukosidase dan pNPG	40
Gambar 18. Kurva sigmoidal IC ₅₀ respons inhibitor terhadap enzim	41
Gambar 19. Plot Lineweaver-Burk pada inhibitor kompetitif, unkompetitif, dan nonkompetitif.....	43
Gambar 20. Permodelan Uji <i>in silico</i> vs <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i>	45
Gambar 21. Interaksi senyawa sintesis dengan enzim α -glukosidase	46
Gambar 22. Hasil KLT pemisahan KCV I fraksi <i>n</i> -heksana di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	56
Gambar 23. Hasil KLT pemisahan kromatotron fraksi A di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	57
Gambar 24. Senyawa T1 hasil isolasi dari fraksi <i>n</i> -heksana batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) dengan total berat 114,9 mg.	58
Gambar 25. Hasil KLT senyawa T1 menggunakan berbagai variasi eluen (a) <i>n</i> -heksana : kloroform (9:1), (b) <i>n</i> -heksana : etil asetat (9:1) dan (c)	

<i>n</i> -heksan : aseton (95:5) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	58
Gambar 26. Hasil KLT kromatotron fraksi A.5 di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	59
Gambar 27. Hasil KLT kromatotron fraksi A.5.2. di bawah lampu UV λ 254 nm (kiri) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (kanan)	60
Gambar 28. Hasil KLT senyawa T2 menggunakan berbagai variasi eluen (a) <i>n</i> -heksana : kloroform (2:8), (b) <i>n</i> -heksana : etil asetat (9:1) dan (c) <i>n</i> -heksan : dietil eter (9:1) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	60
Gambar 29. Senyawa T2 hasil isolasi dari fraksi <i>n</i> -heksana batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) dengan total berat 44,1 mg	61
Gambar 30. Hasil KLT pemisahan KCV fraksi etil asetat di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	62
Gambar 31. Hasil KLT kromatotron fraksi A ₁ di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	62
Gambar 32. (a) Hasil KLT pencucian kristal fraksi A _{1.3} di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah) dan (b) Senyawa T4 hasil isolasi dari fraksi etil asetat.....	63
Gambar 33. Hasil KLT senyawa T4 menggunakan berbagai variasi eluen (a) <i>n</i> -heksana : kloroform (3:7), (b) <i>n</i> -heksana : aseton (7:3) dan (c) <i>n</i> -heksan : etil asetat (7:3) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	64
Gambar 34. Hasil KLT kromatotron fraksi A _g gabungan di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	64
Gambar 35. Senyawa T3 hasil isolasi dari fraksi etil asetat batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) dengan total berat 8,9 mg	65
Gambar 36. Hasil KLT senyawa T3 menggunakan berbagai variasi eluen (a) <i>n</i> -heksana : aseton (8:2), (b) <i>n</i> -heksan : etil asetat (7:3) dan (c) <i>n</i> -	

heksana : kloroform (4:6) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	65
Gambar 37. Hasil KLT kolom gravitasi fraksi G_1 di bawah lampu UV λ 254 nm (atas) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	66
Gambar 38. Hasil KLT kromatotron fraksi $G_{1.2}$ di bawah lampu UV λ 254 nm (kiri) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	67
Gambar 39. Hasil KLT kromatotron fraksi $G_{1.2.2}$ di bawah lampu UV λ 254 nm (kiri) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (bawah)	67
Gambar 40. Senyawa T5 hasil isolasi dari fraksi etil asetat batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>).....	68
Gambar 41. KLT hasil KLT senyawa T5 menggunakan berbagai variasi eluen (a) etil asetat : aseton (9:1), (b) etil asetat : metanol (9:1) dan (c) etil asetat : <i>n</i> -butanol (6:4) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	68
Gambar 42. KLT hasil KLT hasil kolom gravitasi fraksi B_1 di bawah lampu UV λ 254 nm (kiri) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (kanan)	69
Gambar 43. Hasil KLT kromatotron fraksi $B_{1.5}$ di bawah lampu UV λ 254 nm (kiri) dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat (kanan)	70
Gambar 44. Senyawa T6 (kiri) dan T7 (kanan) hasil isolasi dari fraksi etil asetat batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>).....	70
Gambar 45. Hasil KLT senyawa T6 menggunakan berbagai variasi eluen yaitu (a) <i>n</i> -heksana: etil asetat (4:6); (b) <i>n</i> -heksana: aseton (75:25) dan (c) kloroform: aseton (9:1) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	71
Gambar 46. KLT hasil KLT senyawa T7 menggunakan berbagai variasi eluen yaitu (a) kloroform: aseton (9:1), (b) <i>n</i> -heksana: aseton (75:25) dan (c) <i>n</i> -heksana: etil asetat (4:6) dibawah lampu UV λ 254 nm dan setelah disemprot pereaksi serum sulfat.	71
Gambar 47. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T1.....	72
Gambar 48. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) senyawa T1.	73
Gambar 49. Struktur senyawa T1	73

Gambar 50. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) senyawa T2	75
Gambar 51. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T2.....	76
Gambar 52. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T2 (a) bagian alifatik dan (b) bagian aromatik dan vinilik	77
Gambar 53. Spektrum HMBC senyawa T2 unit isoprenil.....	77
Gambar 54. Spektrum HMBC senyawa T2 (a) unit aromatik dan (b) unit asetil	78
Gambar 55. Beberapa korelasi penting spektrum HMBC senyawa hasil isolasi T2.....	78
Gambar 56. Struktur senyawa T2.....	79
Gambar 57. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T3.....	80
Gambar 58. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T3.....	81
Gambar 59. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T2 (a) alifatik dan (b) bagian aromatik dan vinilik.....	82
Gambar 60. Spektrum HMBC senyawa T3 unit isoprenil.....	82
Gambar 61. Spektrum HMBC senyawa T3 unit aromatik AB-X.....	83
Gambar 62. Beberapa korelasi penting spektrum HMBC senyawa hasil isolasi T3.....	83
Gambar 63. Struktur senyawa T3.....	84
Gambar 64. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T4.....	85
Gambar 65. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T6.....	86
Gambar 66. Struktur senyawa T4.....	87
Gambar 67. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T5.....	88
Gambar 68. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T5.....	89
Gambar 69. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T5 (a) alifatik dan (b) bagian aromatik dan vinilik.....	90
Gambar 70. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T5 bagian gula.....	90
Gambar 71. Spektrum HMBC senyawa T5 unit glukosa	92
Gambar 72. Beberapa korelasi penting spektrum HMBC senyawa hasil isolasi T5.....	92
Gambar 73. Struktur senyawa T5.....	93
Gambar 74. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T6.....	94
Gambar 75. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T6.....	95

Gambar 76. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T6 (a) bagian aromatik dan vinilik; (b) alifatik	96
Gambar 77. Spektrum HMBC senyawa T6 unit metilen hidroksi	96
Gambar 78. Beberapa korelasi penting spektrum HMBC senyawa hasil isolasi T6.	97
Gambar 79. Struktur senyawa T6	98
Gambar 80. Spektrum ^1H -NMR (500 MHz, CDCl_3) Senyawa T7	99
Gambar 81. Spektrum ^{13}C -NMR (125 MHz, CDCl_3) Senyawa T6	100
Gambar 82. Spektrum HSQC senyawa hasil isolasi T7 (a) bagian aromatik dan vinilik; (b) alifatik	100
Gambar 83. Spektrum HMBC senyawa T7 unit metilen hidroksi	101
Gambar 84. Struktur senyawa T7	103
Gambar 85. Grafik aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase dari ekstrak dan fraksi <i>T. diversifolia</i> serta kontrol positifnya (akarbosa)	104
Gambar 86. Grafik aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase Senyawa hasil isolasi <i>T. diversifolia</i> serta kontrol positifnya (akarbosa)	106
Gambar 87. Hubungan biogenesis senyawa hasil isolasi <i>T. diversifolia</i> dan data IC_{50} hasil pengujian <i>in vitro</i> penghambatan aktivitas α -glukosidase	107
Gambar 88. Kinetika penghambatan enzim α -glukosidase (a) senyawa T4, (b) senyawa T6, (c) senyawa T7, dan (d) akarbosa	108
Gambar 89. Visualisasi hasil docking senyawa 6-asetil-8-hidroksi-2,2-dimetilkromen dengan reseptor enzim α -glukosidase	113

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Daftar bilangan gelombang dari berbagai jenis ikatan	32
Tabel 2. Pergeseran kimia beberapa proton secara umum (Dachriyanus, 2004). .	33
Tabel 3. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi <i>n</i> -heksana pertama dan kedua batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) menggunakan KCV.	56
Tabel 4. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi A menggunakan kromatotron	57
Tabel 5. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi A.5 menggunakan Kromatotron.....	59
Tabel 6. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi A.5.2 menggunakan Kromatotron.....	60
Tabel 7. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi etil asetat batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) menggunakan KCV	61
Tabel 8. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi A ₁ menggunakan Kromatotron.....	63
Tabel 9. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi A _g menggunakan Kromatotron.....	65
Tabel 10. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi G ₁ menggunakan kromatografi kolom gravitasi	66
Tabel 11. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi G _{1.2} menggunakan Kromatotron.....	67
Tabel 12. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi G _{1.2.2} menggunakan kromatotron	67
Tabel 13. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi B ₁ menggunakan Kromatotron.....	69
Tabel 14. Penggabungan eluat hasil pemisahan terhadap fraksi B _{1.5} menggunakan Kromatotron.....	70
Tabel 15. Data spektrum ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR senyawa T1 dengan senyawa pembanding	74
Tabel 16. Data spektrum ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, HSQC dan HMBC senyawa T2..	79

Tabel 17. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa hasil isolasi dengan senyawa pembanding.....	79
Tabel 18. Data spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC dan HMBC senyawa T3..	84
Tabel 19. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa T3 dengan senyawa T2.....	84
Tabel 20. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa T4 dengan senyawa pembanding	87
Tabel 21. Data spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC dan HMBC senyawa T5..	91
Tabel 22. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa T1 dengan senyawa pembanding	93
Tabel 23. Data spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC dan HMBC senyawa T6..	97
Tabel 24. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa T6 dengan senyawa T7.....	97
Tabel 25. Data spektrum ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, HSQC dan HMBC senyawa T7	102
Tabel 26. Data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR senyawa T7 dengan senyawa pembandingnya.....	102
Tabel 27. Tabel nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi <i>T. diversifolia</i> serta akarbosa	104
Tabel 28. Tabel nilai IC_{50} ekstrak dan fraksi <i>T. diversifolia</i> serta akarbosa	105
Tabel 29. Nilai K_m , V_{max} , serta tipe inhibisi senyawa potensial hasil isolasi dan akarbosa	109
Tabel 30. Analisis <i>molecular docking</i> pada senyawa hasil isolasi dari batang <i>T. diversifolia</i>	110
Tabel 31. Hasil Analisis <i>binding affinity</i> dan Konstanta Inhibisi Docking Molekuler Senyawa Hasil Isolasi <i>T. diversifolia</i>	112

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Identifikasi <i>T. diversifolia</i> di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat.....	129
Lampiran 2. Skema ekstraksi batang tumbuhan <i>T. diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray.....	130
Lampiran 3. Skema pemisahan ekstrak methanol batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>) dengan ekstraksi pelarut cair-cair.....	131
Lampiran 4. Skema isolasi dan pemurnian senyawa T1 dan T2 dari fraksi n-heksana batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>).....	132
Lampiran 5. Skema isolasi dan pemurnian senyawa T4, T5, T6, T7 dari fraksi etil asetat batang kipahit (<i>T. diversifolia</i>).....	133
Lampiran 6. Penyiapan larutan uji penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase	135
Lampiran 7. Hasil Uji Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase ekstrak dan fraksi.....	137
Lampiran 8. Hasil Uji Aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase Senyawa hasil isolasi.....	141
Lampiran 9. Data Pengujian Kinetika Enzim senyawa hasil isolasi	148
Lampiran 10. Hasil Visualisasi <i>molecular docking</i> pada analisis <i>in silico</i> senyawa hasil isolasi	158
Lampiran 11. Perhitungan Hasil Analisis <i>binding affinity</i> dan Konstanta Inhibisi <i>Molecular Docking</i> Senyawa Hasil Isolasi <i>T. diversifolia</i>	162

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Penyakit diabetes mellitus (DM) atau tingginya kadar gula dalam darah merupakan salah satu ancaman terbesar terhadap kesehatan di abad ke-21 yang diperkirakan akan terdapat 380 juta penderita DM pada tahun 2025 (Atkins & Zimmet, 2010). DM juga dikaitkan dengan penurunan respons sel T, fungsi neutrofil, dan gangguan imunitas humoral yang dapat menyebabkan komplikasi penyakit lain, seperti seperti kebutaan, serangan jantung, stroke, gagal ginjal, dan amputasi kaki (Triyaniarta *et al.*, 2022; Berbudi *et al.*, 2020; Neto *et al.*, 2017). Penyakit diabetes mellitus dilihat dari tipe penyakitnya dapat dibedakan menjadi 2 tipe yaitu tipe DM1 dan DM2. Berbeda dengan DM Tipe 1 yang ditandai dengan kekurangan insulin, sebagian besar individu yang terkena DM2 mengalami peningkatan kadar insulin (puasa dan/atau pasca konsumsi glukosa), kecuali jika terjadi kegagalan sel beta (Westman, 2021).

Terapi penyakit DM2 dapat dilakukan dengan berbagai cara, salah satunya menghambat enzim α -glukosidase yang berperan aktif dalam menghidrolisis gula kompleks menjadi gula sederhana sehingga meningkatkan kadar gula dalam darah (Dirir *et al.*, 2022). Inhibitor enzim tersebut akan menunda sementara penyerapan karbohidrat di usus sehingga menekan peningkatan kadar glukosa darah postprandial. Saat ini, terdapat tiga inhibitor α -glukosidase yang digunakan dalam praktik klinis yaitu acarbose, miglitol dan voglibosa (Derosa & Maffioli, 2012). Inhibitor α -glukosidase yang telah digunakan sebagai pengobatan non-invasif tersebut mempunyai efek samping yang mengganggu bagi tubuh gastrointestinal (GI) ringan dan bergantung pada dosis, selain itu juga dapat menimbulkan efek lain termasuk diare, sakit perut, dan perut kembung (Dirir *et al.*, 2022). Efek samping inilah yang mendorong peneliti untuk mencari inhibitor baru dengan efek yang sama atau bahkan lebih kuat aktivitasnya sebagai inhibitor. Salah satu cara pencarian obat lain sebagai inhibitorynya dengan cara menggunakan tumbuhan alami yang berkhasiat secara tradisional (Mohd Bukhari *et al.*, 2017).

Tumbuhan obat dan pengobatan tradisional digunakan sepanjang sejarah sebagai obat untuk semua jenis gangguan medis termasuk diabetes (Baharvand-Ahmadi *et al.*, 2016). Tumbuhan yang mempunyai banyak bioaktivitas sebagai obat tradisional dengan kelimpahan yang banyak ditemukan di Indonesia adalah kipahit. Tumbuhan kipahit (*Tithonia diversifolia*) banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional diberbagai negara seperti di negara Kakamega sebagai pengobatan malaria (Mukungu *et al.*, 2016). Masyarakat meksiko menggunakan tumbuhan tersebut sebagai obat infeksi luka pada kulit dan anti radang (DeFilipps & Krupnick, 2018). Tumbuhan tersebut juga digunakan di negara-negara asia untuk pengobatan sakit tenggorokan, sakit pada bagian hati, demam, mengobati hepatitis, sakit perut, dan penyakit hati (Hiransai *et al.*, 2016; Ngenge Tamfu *et al.*, 2022). Di Indonesia tumbuhan tersebut dikenal sebagai obat tradisional penyakit liver, kusta, perut kembung, dan luka memar (Plumeriastuti *et al.*, 2021; Sari *et al.*, 2016). Banyaknya khasiat tradisional dan penggunaan tumbuhan tersebut sebagai obat antidiabetes oleh Rakyat Cina (Solfaine *et al.*, 2019) menunjukkan potensi tumbuhan tersebut sebagai penghambat aktivitas enzim α -glukosidase.

Khasiat tradisional tumbuhan tersebut tidak lepas dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tumbuhan kipahit. Tumbuhan kipahit dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, fenilpropanoid, flavonoid, polifenol dan alkaloid (Ajao & Moteetee, 2017). Tagitinin C merupakan senyawa seskuiterpen lakton khas dari tumbuhan *T. diversifolia* dengan aktivitas fitotoksik kategori kuat (Miranda *et al.*, 2022), aktivitas antivirus (Zhao *et al.*, 2017) serta aktivitas sitotoksik terhadap sel MiaPaca-2 sebagai sel kanker (Au *et al.*, 2021). Senyawa tagitinin F dan tagitinin A juga dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi pada neutrofil dengan aktivitas tertinggi terdapat pada senyawa tagitinin F (Abe *et al.*, 2015). Senyawa tagitinin G, tagitinin H dan tagitinin I dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes dengan mekanisme adsorpsi penurunan gula darah pada 3T3-L1 secara signifikan (Zhao *et al.*, 2012). Senyawa semi polar golongan fenil propanoid berhasil di laporkan oleh Devi *et al.* (2022) berupa asam dihidro-*p*-kumarat memiliki aktivitas antifungi.

Bioaktivitas pada ekstrak dan fraksi tumbuhan *T. diversifolia* berhasil dilaporkan seperti aktivitas antioksidan dari ekstrak air (Hiransai *et al.*, 2016),

ekstrak aseton bagian daun (Ojo *et al.*, 2018), ekstrak etil asetat dan ekstrak metanol (Ngege Tamfu *et al.*, 2022) menggunakan metode ABTS (asam 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat) dan DPPH (1,1-difenil-1-pikrihidrazil). Inácio *et al.* (2020) melaporkan bahwa ekstrak diklorometan *T. diversifolia* memiliki aktivitas insektisida. Aktivitas antibakteri dari tumbuhan *T. diversifolia* pada ekstrak metanol daun memiliki aktivitas antibakteri dimana aktivitas terbaik pada bakteri *Salmonella typhimurium* (Omokhua *et al.*, 2018).

Pemanfaatan senyawa bioaktif tumbuhan sebagai komponen utama obat DM2 merupakan prototipe molekul yang penting untuk pengembangan obat konvensional baru (Zakaria *et al.*, 2023). Proses interaksi senyawa terhadap sisi aktif enzim sehingga penghambatan enzim α -glukosidase dapat dipelajari melalui studi *in silico* dengan proses *molecular docking*. Hal tersebut merupakan proses ilmu terapeutik baru yang potensial diidentifikasi, menggunakan kombinasi model komputasi, eksperimental, translasi, dan klinis (Zhou & Zhong, 2017). Studi literatur yang dilakukan terhadap tumbuhan *T. diversifolia* sebagai obat menunjukkan potensi yang menjanjikan sebagai pengganti obat terapi dari DM2. Melihat potensi tersebut, maka penting dilakukan penelitian untuk mengoptimalkan potensi senyawa bioaktif pada *T. diversifolia* berdasarkan pada studi skrinning *in silico* dan *molecular docking* agar pengembangan obat dari tumbuhan alami ini semakin memperkuat validitas dan akurasi serta presisi dari kinerja obat untuk tubuh. Berdasarkan hal tersebut, dilakukan isolasi senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan kipahit (*T. diversifolia*) dan studi *in vitro* dan *in silico* terhadap penghambatan enzim α -glukosidase.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana kemampuan ekstrak dan fraksi dari batang *T. diversifolia* terhadap bioaktivitasnya pada penghambatan enzim α -glukosidase?
2. Senyawa metabolit sekunder apa yang berhasil diisolasi pada tumbuhan *T. diversifolia* bagian batang serta bagaimana aktivitasnya sebagai penghambat enzim α -glukosidase beserta kinetika penghambatan enzim yang dilakukan oleh senyawa tersebut?

3. Bagaimana mekanisme kerja senyawa hasil isolasi secara *in silico* sebagai inhibitor enzim α -glukosidase?

1.3. Hipotesis Penelitian

T. diversifolia mempunyai bioaktivitas yang beragam. Komponen-komponen senyawa bioaktif dari tumbuhan tersebut menghasilkan hipotesa bahwa senyawa metabolit sekunder dari *T. diversifolia* dapat menghambat kinerja enzim α -glukosidase. Hal ini diperkuat dengan beberapa studi literatur yang menyatakan bahwa ekstrak *T. diversifolia* mempunyai bioaktivitas sebagai antidiabetes. Senyawa-senyawa metabolit dari golongan seskuiterpen lakton pada tumbuhan ini juga dilaporkan dapat mengurangi gula darah lewat jalur antihiperglikemik. *In silico* juga digunakan untuk memperkuat keyakinan bahwa ekstrak *T. diversifolia* atau senyawa yang diisolasi dapat berfungsi sebagai inhibitor potensial enzim tersebut. Berdasarkan hal tersebut, hipotesis pada penelitian ini yaitu bahwa ekstrak, fraksi dan senyawa hasil isolasi dari tumbuhan *T. diversifolia* mempunyai potensi inhibitor terhadap aktivitas enzim α -glukosidase secara *in vitro* dan *in silico*.

1.4. Tujuan Penelitian

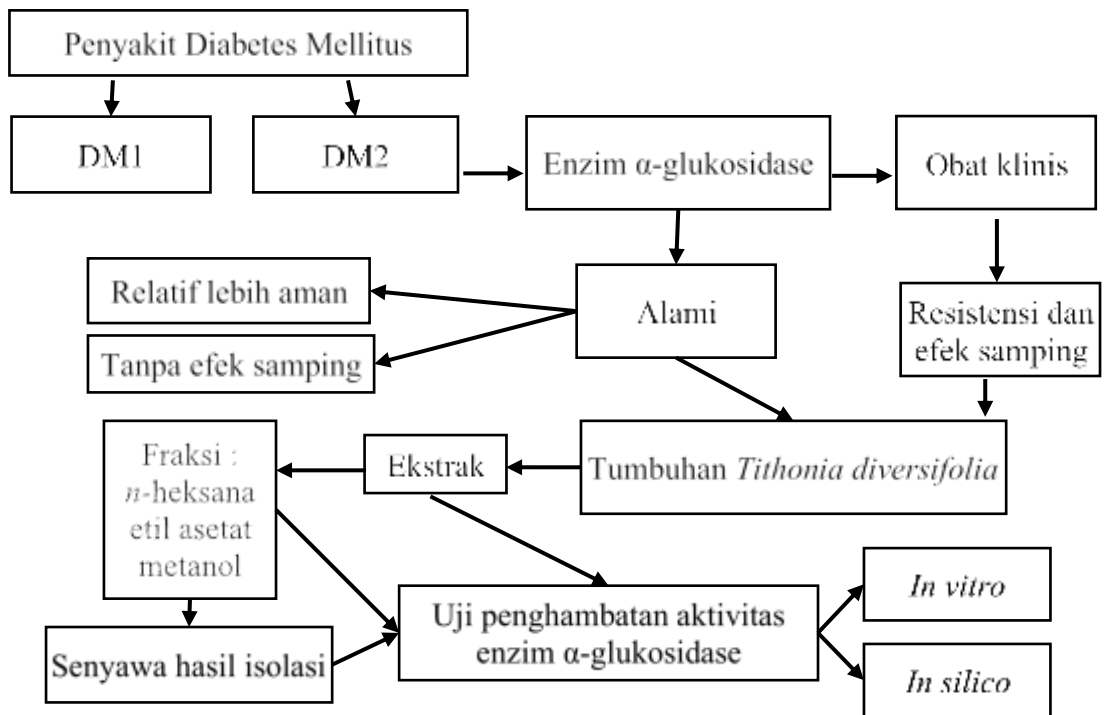
Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Melakukan pengujian terhadap ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol terhadap penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase serta menentukan kemampuan aktivitasnya .
2. Mengisolasi senyawa metabolit sekunder dari fraksi terkuat pada penghambatan enzim α -glukosidase dan mengidentifikasi senyawa hasil isolasi menggunakan spektroskopi NMR.
3. Menganalisa dan melakukan uji *in silico* dengan metode penambatan molekul (*molecular docking*) pada senyawa hasil isolasi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase

1.5. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada batang *T. diversifolia* dan potensi antidiabetesnya dengan menghambat enzim α -glukosidase serta interaksi senyawanya sebagai obat inhibitorynya.

1.6. Kerangka Berpikir



DAFTAR PUSTAKA

- Abe, A. E., de Oliveira, C. E., Dalboni, T. M., Chagas-Paula, D. A., Rocha, B. A., de Oliveira, R. B., Gasparoto, T. H., Da Costa, F. B., & Campanelli, A. P. (2015). Anti-inflammatory Sesquiterpene Lactones from *T. diversifolia* Trigger Different Effects On Human Neutrophils. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(2), 111–116.
- Adefegha, S.A., Oboh, G., Ejakpovi, I.I., & Oyeleye, S.I. (2015). Antioxidant And Antidiabetic Effects Of Gallic And Protocatechuic Acids: A Structure–Function Perspective. *Comparative Clinical Pathology*, 24: 1579-1585.
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezech, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I., and Aja, P. M. (2023). Molecular Docking As A Tool For The Discovery Of Molecular Targets Of Nutraceuticals In Diseases Management. *Sci Rep*. 13(1): 13398.
- Ahmed, M.Z., Hameed, S., Ali, M., Hizbullah, S., and Zaheer, A. 2021. In Silico Molecular Docking Analysis of Limonene with The Fat Mass and Obesity-Associated Protein by Using Autodock Vina. *Scientific Journal of Informatics*. 8(1): 154-160.
- Ahmed, S., Ali, M. C., Ruma, R. A., Mahmud, S., Paul, G. K., Saleh, M. A., Alshahrani, M. M., Obaidullah, A. J., Biswas, S. K., Rahman, M. M., Rahman, M. M., and Islam, M. R. (2022). Molecular Docking and Dynamics Simulation of Natural Compounds from Betel Leaves (*Piper betle L.*) for Investigating the Potential Inhibition of Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase of Type 2 Diabetes. *Molecules*. 27(14): 4526.
- Ajao, A. A., & Moteetee, A. N. (2017). *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray. (Asteraceae: Heliantheae), An Invasive Plant Of Significant Ethnopharmacological Importance: A review. *South African Journal of Botany*, 113, 396–403.
- Akmal, M., Patel, P. dan Wadhwa, R. (2024). Alpha Glucosidase Inhibitors. [Updated 2024 Feb 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557848/>
- Alfarado, D. (2019). Isolasi Senyawa Turunan Floroglusinol dari Fraksi Etil Asetat Buah Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) dan Uji Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase. *Skripsi*. Universitas Sriwijaya
- Alqahtani, A. S., Hidayathulla, S., Rehman, M. T., ElGamal, A. A., Al-Massarani, S., Razmovski-Naumovski, V., Alqahtani, M. S., El Dib, R. A., & Al-Ajmi, M. F. (2019). Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Enzyme Inhibition and Antioxidant Potential of 3-Oxolupenal and Katononic Acid Isolated from *Nuxia oppositifolia*. *Biomolecules*, 10(1): 61.

- Ambrósio, S. R., Oki, Y., Heleno, V. C. G., Chaves, J. S., Nascimento, P. G. B. D., Lichston, J. E., Constantino, M. G., Varanda, E. M., & Da Costa, F. B. (2008). Constituents of glandular trichomes of *T. diversifolia*: Relationships to herbivory and antifeedant activity. *Phytochemistry*, 69(10), 2052–2060.
- Apriansyah, A.O. (2023). Isolasi Senyawa Turunan Poliketida Dari Fraksi Etil Asetat Batang Tumbuhan *Tithonia diversifolia*. *Skripsi*. Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya.
- Atkins, R. C., & Zimmet, P. (2010). Diabetic kidney disease: act now or pay later. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation: An Official Publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*, 21(2), 217–221.
- Au, T. H., Skarbek, C., Pethe, S., Labruere, R., Baltaze, J.-P., Nguyen, T. P. H., Vu, T. T. H., & Vo-Thanh, G. (2021). Structural modification and biological activity studies of tagitinin C and its derivatives. *Tetrahedron*, 92, 132248.
- Aziz, A., Andrianto, D., and Safithri, M. (2022). Molecular Docking of Bioactive Compounds from Wungu Leaves (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) as Tyrosinase Inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*. 9(2):96-107.
- Azwana, A., Mardiana, S., & Zannah, R. R. (2019). Efikasi Insektisida Nabati Ekstrak Bunga Kembang Bulan (*T. diversifolia* A. Gray) Terhadap Hama Ulat Grayak (*Spodoptera litura* F.) Pada Tanaman Sawi Di Laboratorium. *Biolink. Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan*, 5(2): 131–141.
- Baharvand-Ahmadi, B., Bahmani, M., Tajeddini, P., Naghdi, N., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). An Ethno-Medicinal Study Of Medicinal Plants Used For The Treatment Of Diabetes. *Journal of Nephropathology*, 5(1), 44–50.
- Banerjee, S., Jakupovic, J., Bohlmann, F., King, R. M., & Robinson, H. (1985). Chromenes from *ageratina riparia*. *Phytochemistry*, 24(11), 2681–2683.
- Baruah, N. C., Sarma, J. C., Barua, N. C., Sarma, S., & Sharma, R. P. (1994). Germination And Growth Inhibitory Sesquiterpene Lactones And A Flavone from *T. diversifolia*. *Phytochemistry*, 36(1), 29–36.
- Berbudi, A., Rahmadika, N., Tjahjadi, A. I., & Ruslami, R. (2020). Type 2 Diabetes and its Impact on the Immune System. *Current Diabetes Reviews*, 16(5), 442–449.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L. and Stryer, L. (2002). *Biochemistry, eight Edition (8th)*. New York: W. H. Freeman And Company.
- Bergman, M. E., Davis, B., & Phillips, M. A. (2019). Medically Useful Plant Terpenoids: Biosynthesis, Occurrence, and Mechanism of Action. In *Molecules*, 24(21): 1-12.

- Boral, D., & Moktan, S. (2022). Mapping The Spatial Distribution Of The Invasive Mexican Sunflower *T. diversifolia* (Asteraceae) in South East Asia. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 15(3), 425–434.
- Bordoloi, M., Barua, N. C., & Ghosh, A. C. (1996). An Artemisinic Acid Analogue from *T. diversifolia*. *Phytochemistry*, 41(2), 557–559.
- Bramachari, G. (2011). *Bioactive Natural Products*. WORLD SCIENTIFIC.
- Bubb, W. A. (2003). NMR spectroscopy in the Study of Carbohydrates: Characterizing the Structural Complexity. *Concepts in Magnetic Resonance*, 19A(1): 1-19.
- Buchhlolz, K., Kasche, V. and Bornscheuer, U. T. (2012). *Biocatalyst and Enzyme Technology, second Edition*. Germany: Willey-VCH Verlag & Co.
- Ccana-Ccapatinta, G. V, Sampaio, B. L., dos Santos, F. M., Batista, J. M., & Da Costa, F. B. (2017). Absolute Configuration Assignment Of Caffeic Acid Ester Derivatives from *T. diversifolia* by vibrational circular dichroism: the pitfalls of deuteration. *Tetrahedron: Asymmetry*, 28(12), 1823–1828.
- Chagas-Paula, D. A., Oliveira, R. B., Rocha, B. A., & Da Costa, F. B. (2012). Ethnobotany, Chemistry, and Biological Activities of the Genus *Tithonia* (Asteraceae). *Chemistry & Biodiversity*, 9(2), 210–235.
- Chao, C.-T., Wang, J., Huang, J.-W., & Chien, K.-L. (2018). Acarbose Use and Liver Injury in Diabetic Patients With Severe Renal Insufficiency and Hepatic Diseases: A Propensity Score-Matched Cohort Study. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 860.
- Cheng, A.Y. and Fantus, I.G. (2005). Oral Antihyperglycemic Therapy For Type 2 Diabetes Mellitus. *CMAJ*. 172(2):213-26.
- Chunudom, L., Thongsom, M., Karim, N., Rahman, M. A., Rana, M. N., & Tangpong, J. (2020). *T. diversifolia* Aqueous Fraction Plays A Protective Role Against Alloxan-Induced Diabetic Mice Via Modulating GLUT2 expression. *South African Journal of Botany*, 133, 118–123.
- Claridge, T. D. W. (2016). *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*. Elsevier.
- Dachriyanus. (2004). *Analisis Stuktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK): Universitas Andalas.
- DeFilipps, R. A., & Krupnick, G. A. (2018). The medicinal plants of Myanmar. *PhytoKeys*, 341(102), 1–341.
- Delaune, K.P., and Alsayouri, K. 2024. Physiology. Noncompetitive Inhibitor. [Updated 2022 Sep 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545242/>

- De Pascual, J. T., Gonzalez, M. S., Muriel, M. R., & Bellido, I. S. (1983). 2-Methyl-2-hydroxymethylchromenes from *Artemisia campestris subsp. glutinosa*. *Phytochemistry*, 22(11), 2587–2589.
- Derosa, G., & Maffioli, P. (2012). α -Glucosidase Inhibitors And Their Use In Clinical Practice. *Archives of Medical Science : AMS*, 8(5), 899–906.
- Devi, T. B., Raina, V., & Rajashekar, Y. (2022). A Novel Biofumigant from *T. diversifolia* (Hemsl.) A. Gray for Kontrol Of Stored Grain Insect Pests. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 184, 105116.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M. (2022). Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach Seventh Edition. In *Osteoarthritis Health Professional Training Manual*. United States: McGraw Hill Medical.
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., and Yousef, L. F. (2022). A Review Of Alpha-Glucosidase Inhibitors From Plants As Potential Candidates For The Treatment Of Type-2 Diabetes. *Phytochem Rev.* 21(4): 1049–79.
- Farias, A. L. F., Rodrigues, A. B. L., Martins, R. L., Rabelo, É. de M., Farias, C. W. F., & de Almeida, S. S. M. da S. (2019). Chemical Characterization, Antioxidant, Cytotoxic And Microbiological Activities Of The Essential Oil Of Leaf of *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray (Asteraceae). *Pharmaceuticals*, 12(1):1-8.
- Ferlinahayati, F., Alfarado, D., Eliza, E., and Untari, B. 2020. α -Glucosidase Inhibitory and A Leptospermone Derivative from *Rhodomyrtus tomentosa*. *Indones. J. Chem.*, 20(2): 307 – 313.
- Firoozpour, L., Moghimi, S., Salarinejad, S., Toolabi, M., Rafsanjani, M., Pakrad, R., Salmani, F., Shokrolahi, S.M., Ebrahimi, S.E.S., Karima, S., and Foroumadi, A. 2023. Synthesis, α -Glucosidase Inhibitory Activity And Docking Studies Of Novel Ethyl 1,2,3-triazol-4-ylmethylthio-5,6-diphenylpyridazine-4-carboxylate derivatives. *BMC*, 17(6): 1-10.
- Fitriyanto, R. E., Sugiarto, S., & Ardiyanto, D. T. (2020). Effects Of Methanol Extracts Of Insulin Leaves (*T. diversifolia* (hemsl.) A. Gray) on Insulin Resistance And Secretion Of Alloxan Induced-Obese Diabetic Rats. *JKKI : Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 11(2 SE-Original Article), 180–190.
- Ganeshpurkar, A., & Saluja, A. K. (2017). The Pharmacological Potential of Rutin. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(2), 149–164.
- Ghani, U., Ashraf, S., Ul-Haq, Z., Kaplancikli, Z. A., Demirci, F., Özkay, Y., and Afzal, S. (2022). The 4-(dimethylaminoalkyl)piperazine Inhibitors Of α -Glucosidase: Allosteric Enzyme Inhibition And Identification Of Interacting Chemical Groups. *Turk J Chem.* 46(5):1484-1492.

- Glerone, G. (2023). Impact of Enzyme Inhibitors in Regulating Biochemical Pathways in Plants. *J Plant Biochem Physiol.* 11: 287.
- Gu, J.-Q., Gills, J. J., Park, E. J., Mata-Greenwood, E., Hawthorne, M. E., Axelrod, F., Chavez, P. I., Fong, H. H. S., Mehta, R. G., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D. (2002). Sesquiterpenoids from *T. diversifolia* with Potential Cancer Chemopreventive Activity. *Journal of Natural Products*, 65(4), 532–536.
- Gunther, H. (2013). *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*. Wiley-VCH.
- Hanson, J. (2003). *Tutorial Chemistry Texts -- Natural Products: The Secondary Metabolites*. 154.
- Herrera, J., Troncone, G., Sánchez, M. R., Miguel, V., & Lopez, S. E. (2007). The Effect Of Furanoheliangolides from *T. diversifolia* on Superoxide Anion Generation In Human Neutrophils. *Fitoterapia*, 78(7), 465–469.
- Hiransai, P., Tangpong, J., Kumbuar, C., Hoonheang, N., Rodpech, O., Sangsuk, P., Kajklangdon, U., & Inkaow, W. (2016). Anti-Nitric Oxide Production, Anti-Proliferation And Antioxidant Effects Of The Aqueous Extract from *T. diversifolia*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(11), 950–956.
- Hossain, U., Das, A. K., Ghosh, S., & Sil, P. C. (2020). An Overview On The Role Of Bioactive A-Glucosidase Inhibitors In Ameliorating Diabetic Complications. *Food and Chemical Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 145, 111738. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111738>
- Idris, F. N. and Mohd Nadzir, M. (2021). Comparative Studies on Different Extraction Methods of *Centella asiatica* and Extracts Bioactive Compounds Effects on Antimicrobial Activities. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(4): 457.
- Inácio, G., Alves, J. V. B., Santos, M. F. C., Vacari, A. M., Figueiredo, G. P., Bernardes, W. A., Veneziani, R. C. S., & Ambrósio, S. R. (2020). Feeding Deterrence Towards *Helicoverpa armigera* by *T. diversifolia* tagitinin C-enriched Extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(5), 5292–5298.
- Jenie, U. A., Kardono, L. B. S., Hanafi, M., Rumampuk, R. J., & Darmawan, A. (2014). *Teknik Modern Spektroskopi NMR : Teori dan Aplikasi dalam Elusidasi Struktur Molekul Organik*. LIPI press.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining fitokimia. In *Jakarta penerbit buku kedokteran EGC* 53(9).
- Juniarti, S.M. (2023). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Fraksi *n*-Heksana Batang Tumbuhan Kipahit (*Tithonia diversifolia*) serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus pyogenes*. *Skripsi*. Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Sriwijaya.

- Kulkarni, M. M., Nagasampagi, B. A., Deshpande, S. G., & Sharma, R. N. (1987). Five chromenes from *Blepharispermum subsessile*. *Phytochemistry*, 26(11), 2969–2971.
- Kumar, Y., Kumar Thakur, A., & K Goyal, K. (2018). Pharmacotherapeutics of miglitol: an α -glucosidase inhibitor. *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research*, 7(6), 617–619.
- Kuo, Y.-H., & Chen, C.-H. (1998). Sesquiterpenes from the Leaves of *T. diversifolia*. *Journal of Natural Products*, 61(6), 827–828.
- Kuroda, M., Yokosuka, A., Kobayashi, R., Jitsuno, M., Kando, H., Nosaka, K., Ishii, H., Yamori, T., & Mimaki, Y. (2007). Sesquiterpenoids and Flavonoids from the Aerial Parts of *T. diversifolia* and Their Cytotoxic Activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 55(8), 1240–1244.
- Lankatillake, C., Luo, S., Flavel, M., Lenon, G. B., Gill, H., Huynh, T., & Dias, D. A. (2021). Screening natural product extracts for potential enzyme inhibitors: protocols, and the standardisation of the usage of blanks in α -amylase, α -glucosidase and lipase assays. *Plant Methods*, 17(1), 3.
- Li, K., Yao, F., Xue, Q., Fan, H., Yang, L., Li, X., Sun, L., & Liu, Y. (2018). Inhibitory Effects Against α -glucosidase and α -amylase of the Flavonoids-Rich Extract From *Scutellaria baicalensis* Shoots And Interpretation Of Structure-Activity Relationship Of Its Eight Flavonoids By A Refined Assign-Score Method. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 82.
- Li, X., Huang, G., Zhao, G., Chen, W., Li, J., & Sun, L. (2013). Two new monoterpenes from *T. diversifolia* and their anti-hyperglycemic activity. *Records of Natural Products*, 7(4), 351–354.
- Lichman, B. R. (2021). The scaffold-forming steps of plant alkaloid biosynthesis. *Natural Product Reports*, 38(1), 103–129.
- Lin, H. R. (2012). Sesquiterpene lactones from *T. diversifolia* act as peroxisome proliferator-activated receptor agonists. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 22(8), 2954–2958.
- Litwack, G. (2018). *Enzymes. Human Biochemistry*, 95–129
- Liu, W., Feng, Y., Yu, S., Fan, Z., Li, X., Li, J., & Yin, H. (2021). The flavonoid biosynthesis network in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 1–18.
- Lu, H.; Xie, T.; Wu, Q.; Hu, Z.; Luo, Y.; Luo, F. Alpha-Glucosidase Inhibitory Peptides: Sources, Preparations, Identifications, and Action Mechanisms. *Nutrients* **2023**, 15, 4267.
- Malikhana, Yuniastuti, Susanti, R., & WH, N. (2021). Studi *In Silico* Potensi Senyawa Bioaktif Gembili (*Dioscorea esculenta*) Sebagai Ligan Pada Reseptor G6PD dan PTPN1. *Prosiding Semnas Biologi Ke-9*, 29–34.
- Mannito, P. (1982). *Biosynthetic of Natural Product*. Ellis Horwood Limited.

- Miranda, M. A. F. M., Matos, A. P., Volante, A. C., Cunha, G. O. S., & Gualtieri, S. C. J. (2022). Insecticidal activity from leaves and sesquiterpene lactones of *T. diversifolia* (Helms.) A. Gray (Asteraceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *South African Journal of Botany*, 144, 377–379.
- Miranda, M. A. F. M., Varela, R. M., Torres, A., Molinillo, J. M. G., Gualtieri, S. C. J., & Macías, F. A. (2015). Phytotoxins from *T. diversifolia*. *Journal of Natural Products*, 78(5), 1083–1092.
- Mohd Bukhari, D. A., Siddiqui, M. J., Shamsudin, S. H., Rahman, M. M., & So'ad, S. Z. M. (2017). α -Glucosidase Inhibitory Activity of Selected Malaysian Plants. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 9(3), 164–170.
- Muchtaridi, M., Yusuf, M., & Megantara, S. (2017). *Penambatan Molekul (Molecular Docking) : teori dan praktek*. Deep publish.
- Mukungu, N., Abuga, K., Okalebo, F., Ingwela, R., & Mwangi, J. (2016). Medicinal Plants Used For Management Of Malaria Among The Luhya Community Of Kakamega East Sub-County, Kenya. *Journal of Ethnopharmacology*, 194, 98–107.
- Nelson, D. L and Cox, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry: International Edition*. New York: Macmillan Learning.
- Neto, A. F., Dell'Armeline Rocha, P. R., Perez, E. C., Xavier, J. G., Peres, G. B., Spadacci-Morena, D. D., Alvares-Saraiva, A. M., & Lallo, M. A. (2017). Diabetes mellitus increases the susceptibility to encephalitozoonosis in mice. *PLOS ONE*, 12(11), e0186954.
- Netzker, T., Fischer, J., Weber, J., Mattern, D. J., König, C. C., Valiante, V., Schroeckh, V., & Brakhage, A. A. (2015). Microbial communication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters. *Frontiers in Microbiology*, 6, 299.
- Nurjanah, S., Isbiyantoro, I., & Fadillah, H. (2018). Ekstrak Daun Kembang Bulan (*T. diversifolia* (Hemsl.) a. Gray) Sebagai Antibakteri Terhadap Streptococcus Mutans Dan Streptococcus Sanguinis. *Jurnal Farmasi Lampung*, 7(1): 1-8.
- Ojo, O. A., Ojo, A. B., Ajiboye, B. O., Olaiya, O., Okesola, M. A., Boligon, A. A., de Campos, M. M. A., Oyinloye, B. E., & Kappo, A. P. (2018). HPLC-DAD Fingerprinting Analysis, Antioxidant Activities of *T. diversifolia* (Hemsl.) A. Gray leaves and Its Inhibition Of Key Enzymes Linked To Alzheimer's Disease. *Toxicology Reports*, 5, 585–592.
- Olukunle, J. (2014). Hypoglycaemic and Hypolipidaemic Effects of the Aqueous Leaf Extracts of *T. diversifolia*. *Annual Research & Review in Biology*, 4(16), 2655–2662.
- Omokhua, A., Abdalla, M., van Staden, J., & McGaw, L. (2018). A Comprehensive Study Of The Potential Phytomedicinal Use And Toxicity Of Invasive Tithonia Species In South Africa. *BMC Complementary and Alternative*

Medicine, 18(272), 1–15.

- Ozyigit, I. I., Dogan, I., Hocaoglu-Ozyigit, A., Yalcin, B., Erdogan, A., Yalcin, I. E., Cabi, E., & Kaya, Y. (2023). Production Of Secondary Metabolites Using Tissue Culture-Based Biotechnological Applications. *Frontiers in Plant Science*, 14(June), 1–28.
- Pal, R., Kulshreshtha, D. K., & Rastogi, R. P. (1976). Antileukemic And Other Constituents of *tithonia tagitiflora* desf. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 65(6), 918–920.
- Palmer, T. and Bonner, P. L. (2007) ENZYMES: Biochemistry, Biotechnology, and Clinical Chemistry, Second Edition. United Kingdom : Horwood Publishing Limited.
- Parmar, K., Aggarwal, G., and Sharma, U. (2025). α -Glucosidase Inhibiting Chromene Derivatives from *Ageratum conyzoides* L. Essential Oil Extracted via NADES-Assisted Hydrodistillation. *Chem Biodivers*. 22(1): e202401324.
- Pereira, P. S., Dias, D. A., Vichnewski, W., Tucci Nasi, A. M. T., & Herz, W. (1997). Sesquiterpene Lactones From Brazilian *T. diversifolia*. *Phytochemistry*, 45(7), 1445–1448.
- Plaskova, A. and Mlcek, J. (2023). New Insights of The Application Of Water Or Ethanol-Water Plant Extract Rich In Active Compounds In Food. *Frontiers in nutrition*, 10, 1118761.
- Plumeriastuti, H., Habibi, M. A., Tehupuring, B. C., Effendi, M. H., Theresia, A., Estoe pangestie, S., Sarudji, S., & Witaningrum, A. M. (2021). Antimicrobial effect of Methanol and Ethanol Extracts of Kembang Bulan (*T. diversifolia*) Leaves against *Staphylococcus aureus*. 97–104.
- Pretsch, E., Buhlmann, P., & Badertscher, M. (2009). *Structure Determination of Organic Compounds*. Springer Berlin Heidelberg.
- Pretti, I. R., Luz, A. C. da, Jamal, C. M., & Batitucci, M. do C. P. (2018). Variation of biochemical and antioxidant activity with respect to the phenological stage of *T. diversifolia* Hemsl. (Asteraceae) populations. *Industrial Crops and Products*, 121, 241–249.
- Pulido, K. D. P., Colmenares Dulcey, A. J., & Isaza Martínez, J. H. (2017). New caffeic acid derivative from *T. diversifolia* (Hemsl.) A. Gray Butanolic Extract And Its Antioxidant Activity. *Food and Chemical Toxicology*, 109, 1079–1085.
- Puspita, P. J., Liliyani. N. P. P., dan Ambarsari, L. (2022). In Silico Analysis of Active Compounds of Avocado Fruit (*Persea Americana* Mill.) as Tyrosinase Enzyme Inhibitors. *Current Biochemistry*. 9(2):73-87.
- Puspita, P.J., Ambarsari1, L., Adiva1, A., and Sumaryada, T.I. (2021). In Silico Analysis of Glucose Oxidase H516r and H516d Mutations for an Enzymatic Fuel Cell. *Jurnal Kimia Valensi*. 7(2): 1-11.

- Ramsay, R.R. and Tipton, K.F. (2017). Assessment of Enzyme Inhibition: A Review with Examples from the Development of Monoamine Oxidase and Cholinesterase Inhibitory Drugs. *Molecules*. 22(7): 1192.
- Ren, F., Ji, N., & Zhu, Y. (2023). Research Progress of α -Glucosidase Inhibitors Produced by Microorganisms and Their Applications. In *Foods*, 12(18).
- Riyaphan, J., Pham, D. -C., Leong, M. K., & Weng, C. -F. (2021). In Silico Approaches to Identify Polyphenol Compounds as α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitors against Type-II Diabetes. *Biomolecules*, 11(12), 1877.
- Robinson P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in biochemistry*, 59: 1–41.
- Rouzbehan, S., Moein, S., Homaei, A., & Moein, M. R. (2017). Kinetics of α -glucosidase Inhibition by Different Fractions Of Three Species Of Labiatae Extracts: A New Diabetes Treatment Model. *Pharmaceutical biology*, 55(1): 1483–1488.
- Rouzer, C. A. & Marnett, L. J. (2020). Structural and Chemical Biology of the Interaction of Cyclooxygenase with Substrates and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Chemical reviews*, 120(15): 7592–7641.
- Saifudin, A. (2014). *Secondary natural metabolites compound theories, concepts, and purification techniques*. Yogyakarta: Deepublish.
- Salempa, P., & Muharram, M. (2016). Senyawa Steroid dalam Tumbuhan Bayur. In *Universitas Negeri Makassar Makassar*, 1(3): 1-78.
- Sanchez, S., & Demain, A. L. (2011). 1.10 - *Secondary Metabolites* (M. B. T.-C. B. (Third E. Moo-Young (ed.), Pergamon. 131-143.
- Sari, Y. O., Dillasamola, D., Dharma, S., & Clara, M. (2016). The Influence Of Ethanol Extract And Variety Of Fraction from *T. diversifolia* on Blood Glucose Level Of Male White Mice. *Der Pharmacia Lettre*, 8(19), 446–449.
- Segel, I.H. (1993). *Enzyme kinetics Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Shah, A., & Smith, D. L. (2020). Flavonoids in agriculture: Chemistry and roles in, biotic and abiotic stress responses, and microbial associations. *Agronomy*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/agronomy10081209>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th Edition. John Wiley & Sons.
- Sitorus, M. (2009). *Spektroskopi : Elusidasi Struktur Molekul Organik*. Graha Ilmu.
- Solfaine, R., Muniroh, L., & Mubarakah, W. W. (2019). Aktivitas Ekstrak Daun *T. diversifolia* Terhadap Regulasi Kadar Adiponektin pada Diabetes Melitus Tikus Putih Wistar. *Jurnal Sain Veteriner*, 37(2), 143.

- Strelow, J., Dewe, W., Iversen, P.W., Brooks, H.B., Radding, J.A., McGee, J., and Weidner, J. *Mechanism of Action Assays for Enzymes*. 2012 May 1 [Updated 2012 Oct 1]. Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92001/>.
- Supratman, U. (2010). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Widya Padjajaran.
- Sut, S., Dall'Acqua, S., Baldan, V., Ngahang Kamte, S. L., Ranjbarian, F., Biapa Nya, P. C., Vittori, S., Benelli, G., Maggi, F., Cappellacci, L., Hofer, A., & Petrelli, R. (2018). Identification Of Tagitinin C from *T. diversifolia* as Antitrypanosomal Compound Using Bioactivity-Guided Fractionation. *Fitoterapia*, 124, 145–151.
- Tamfu, A.N., Roland, N., Mfifen, A.M., Kucukaydin, S., Gaye, M., Botezatu, V.A., Duru, M.E., and Dinica, M.R., 2022, Phenolic Composition, Antioxidant And Enzyme Inhibitory Activities of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., *T. diversifolia* (Hemsl) A. Gray, and *Crossopteryx febrifuga* (Afzel.) Benth, *Arabian Journal of Chemistry*, 15(4), 103675.
- The American Diabetes Association (ADA). (2022). Classification and Diagnosis of Diabetes : Standards of Medical Care in Diabetes — 2022. *Diabetes Care*, 45(Suppl), 17–38.
- Thompson, J. M. (2018). *Infrared Spectroscopy*. PAN Stanpord.
- Tjay, T., & Raharja, R. (2007). *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya Edisi ke-6*. Pt. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia.
- Triyaniarta, A. R., Martini, S., Artanti, K. D., Widati, S., & Nastiti, R. D. (2022). Determinants of Type 2 Diabetes Mellitus among Passive Smokers. *Kesmas*, 17(3), 191–197
- Twaij, B. M., & Hasan, M. N. (2022). Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. In *International Journal of Plant Biology* (Vol. 13, Issue 1, pp. 4–14).
- Vinsiah, R. dan Fadhillah, F. (2018). Studi ikatan hydrogen system methanol-metanol dan etanoletanol dengan metode molekuler dinamik. *Sainmatika*. 15(1):14-22
- Vogt, T. (2010). Phenylpropanoid Biosynthesis. *Molecular Plant*, 3(1), 2–20.
- Wahyuningsih, M. S. H., Wijayanti, M. A., Budiyo, A., & Hanafi, M. (2015). Isolation and identification of potential cytotoxic compound from kembang bulan [*T. diversifolia* (Hemsl) a gray] leaves. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(6): 298–301.
- Westman, E. C. (2021). Type 2 Diabetes Mellitus: A Pathophysiologic Perspective. *Frontiers in Nutrition*, 8(August): 1–5.

- Wiyono, A.S., Siswandono, S., and Diyah, N.W. (2023). Molecular docking of 5-o-benzoylpinoestrobin derivatives from *Boesenbergia pandurata* roxb. as anti-inflammatory. *J Public Health Afr.* 14(1): 2532.
- Yung-Chi, C. and Prusoff, W. H. (1973). Relationship Between The Inhibition Constant (KI) And The Concentration Of Inhibitor Which Causes 50 Per Cent Inhibition (I50) Of An Enzymatic Reaction. *Biochemical Pharmacology*, 22(23): 3099–3108.
- Zainol, N. and Ismail, A.S. 2019. Evaluation of Enzyme Kinetic Parameters to Produce Methanol Using Michaelis-Menten Equation. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, 14(2): 436-442.
- Zakaria, M. N. Z., Aththar, A. F., Ali Hamami, S. M., Fai, M., & Rahayu, S. (2023). In Silico Study of α -Amylase and α -Glucosidase Inhibitory Compounds in Aloe vera as Antidiabetic Agent. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 11(1), 28–37.
- Zhai, H. L., Zhao, G. J., Yang, G. J., Sun, H., Yi, B., Sun, L. N., Chen, W. S., and Zheng, S. Q. (2010). A New Chromene Glycoside from *T. diversifolia*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(2): 198–200.
- Zhao, G., Li, X., Chen, W., Xi, Z., and Sun, L. (2012). Three new sesquiterpenes from *T. diversifolia* and Their Anti-Hyperglycemic Activity. *Fitoterapia*, 83(8), 1590–1597.
- Zhao, L., Dong, J., Hu, Z., Li, S., Su, X., Zhang, J., Yin, Y., Xu, T., Zhang, Z., & Chen, H. (2017). Anti-TMV Activity And Functional Mechanisms Of Two Sesquiterpenoids Isolated from *T. diversifolia*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 24–29
- Zhou, S. F., & Zhong, W. Z. (2017). Drug design and discovery: Principles and applications. *Molecules*, 22(2), 1–6.