

Analisa aktivitas antioksidan serta eksplorasi flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* sebagai inhibitor aldosa reduktase

*Analysis of antioxidant activity and exploration of flavonoid from *Synsepalum dulcificum* leaves as aldose reductase inhibitors*

Wike Adhi Anggono^{1*}, Retno Susilowati¹, Akyunul Jannah²

¹ Program Studi Magister Biologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Jawa Timur

² Program Studi Kimia, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, Jawa Timur

*Email korespondensi: wike73@gmail.com

Informasi artikel:

Dikirim: 03/01/2024; disetujui: 15/04/2024; diterbitkan: 29/09/2024

ABSTRACT

Synsepalum dulcificum leaves are known to contain bioactive compounds, especially flavonoids, which have important biological activities, including inhibition of aldose reductase, an enzyme involved in diabetes complications. This study aims to explore the potential of flavonoids from *Synsepalum dulcificum* leaves as antioxidants and inhibitors of the aldose reductase enzyme. The methods used in this study include in-vitro tests with the DPPH method to evaluate antioxidant activity and molecular docking to predict the interaction between flavonoids and the aldose reductase enzyme. Leaf extracts were isolated using the maceration method with 70% ethanol, and active compounds were identified through LC-MS analysis. Molecular docking tests were performed using PyRx, PyMol, and BIOVIA: Discovery Studio Visualizer software. The results showed that *Synsepalum dulcificum* leaf extract had very strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 11.4108 µg/mL. Molecular docking results revealed that the compounds morin and pinostrobin had a stronger binding affinity to aldose reductase than the standard ligand sorbinyl. In conclusion, flavonoids from *Synsepalum dulcificum* leaves have great potential as antioxidant agents and aldose reductase inhibitors, which can be further developed as natural therapeutic candidates to prevent diabetic complications.

Keywords: *Synsepalum dulcificum* leaf, Flavonoid, Antioxidant, Aldosa reduktase

ABSTRAK

Daun *Synsepalum dulcificum* diketahui mengandung senyawa bioaktif, terutama flavonoid, yang memiliki aktivitas biologis penting, termasuk penghambatan aldosa reduktase, enzim yang terlibat dalam komplikasi diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* sebagai antioksidan dan inhibitor enzim aldosa reduktase. Metode yang digunakan dalam penelitian ini meliputi uji in-vitro dengan metode DPPH untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan serta *molecular docking* untuk memprediksi interaksi antara flavonoid dan enzim aldosa reduktase. Ekstrak daun diisolasi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70%, dan senyawa aktif diidentifikasi melalui analisis LC-MS. Uji *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx, PyMol, dan BIOVIA: Discovery Studio Visualizer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,4108 µg/mL. Hasil *molecular docking* mengungkapkan bahwa senyawa morin dan pinostrobin memiliki afinitas pengikatan yang lebih kuat terhadap aldosa

reduktase dibandingkan ligan standar sorbinil. Kesimpulannya, flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* memiliki potensi besar sebagai agen antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase, yang dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat terapi alami untuk mencegah komplikasi diabetes.

Kata Kunci: daun *Synsepalum dulcificum*, flavonoid, antioksidan, aldosa reduktase

PENDAHULUAN

Synsepalum dulcificum yang lebih dikenal sebagai buah ajaib atau miracle fruit, telah menarik perhatian dalam beberapa dekade terakhir. Buah ini terkenal karena kemampuannya untuk mengubah rasa makanan asam menjadi manis, tetapi penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa bagian lain dari tanaman ini, terutama daunnya, memiliki potensi yang signifikan sebagai sumber senyawa bioaktif, terutama dalam bidang kesehatan (Tchokponhoué *et al.*, 2021).

Selain buahnya, Daun *Synsepalum dulcificum* juga memiliki banyak manfaat. Daun *Synsepalum dulcificum* mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid, terpenoid, fenolik, dan alkaloid, yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Onuminya *et al.*, 2023). Flavonoid, salah satu kelompok senyawa yang banyak ditemukan dalam daun, telah banyak diteliti karena potensinya sebagai antioksidan dan inhibitor enzim yang terlibat dalam stres oksidatif, seperti aldosa reduktase. Penghambatan aldosa reduktase sangat penting dalam pencegahan komplikasi diabetes, seperti neuropati diabetik dan katarak, karena enzim ini berperan dalam metabolisme glukosa yang dapat menyebabkan akumulasi sorbitol dalam sel, yang berbahaya bagi jaringan tubuh (Huang *et al.*, 2019).

Meskipun telah ada beberapa penelitian yang mengeksplorasi kandungan bioaktif daun *Synsepalum dulcificum* dan aktivitas antioksidannya, masih terdapat kesenjangan signifikan dalam penelitian yang lebih mendalam mengenai potensinya sebagai inhibitor aldosa reduktase. Penelitian sebelumnya, seperti yang dilakukan oleh Onuminya *et al.* (2023), lebih berfokus pada identifikasi senyawa bioaktif dan aktivitas

antioksidan umum dari daun buah ajaib, namun tidak secara spesifik meneliti kemampuan senyawa-senyawa tersebut dalam menghambat enzim aldosa reduktase. Selain itu, penelitian yang melibatkan pendekatan in-silico untuk memprediksi interaksi molekul bioaktif dengan protein target, termasuk aldosa reduktase, masih sangat terbatas (Jaiswal & Prakash, 2023).

Penelitian sebelumnya umumnya hanya menggunakan metode in-vitro, seperti DPPH, untuk menilai aktivitas antioksidan (Cahyono *et al.*, 2020; Karagöz *et al.*, 2015). Namun, penggunaan metode in-silico yang melibatkan molekular docking untuk memprediksi aktivitas penghambatan enzim secara khusus, seperti pada aldosa reduktase, masih belum banyak dikaji dalam konteks daun *Synsepalum dulcificum*. Kesenjangan ini menunjukkan perlunya studi yang lebih komprehensif menggunakan kombinasi metode in-vitro dan in-silico untuk mengeksplorasi potensi daun *Synsepalum dulcificum* sebagai agen terapeutik alami, terutama dalam konteks penghambatan enzim aldosa reduktase.

Oleh karena itu, penelitian ini berusaha untuk mengisi kesenjangan tersebut dengan mengeksplorasi lebih jauh senyawa flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* sebagai inhibitor aldosa reduktase, menggunakan pendekatan integratif yang menggabungkan metode in-vitro dan in-silico. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru tentang potensi senyawa bioaktif dari daun *Synsepalum dulcificum* dalam aplikasi terapeutik.

Dengan demikian, tujuan penelitian ini adalah untuk mengeksplorasi kandungan flavonoid dalam daun *Synsepalum dulcificum* serta potensi senyawa-senyawa tersebut sebagai antioksidan inhibitor aldosa reduktase.

METODE

Bahan penelitian

Penelitian ini menggunakan daun *Synsepalum dulcificum* (buah ajaib) yang telah dikeringkan sebagai bahan utama. Ekstrak daun diperoleh melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol 70% (SE *et al.*, 2022). Bahan-bahan lain yang digunakan meliputi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) untuk uji antioksidan, serta pereaksi-pereaksi standar laboratorium seperti etanol, larutan standar biotin, dan kloramfenikol (Qiao *et al.*, 2013).

Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain spektrofotometer UV-Vis, rotary evaporator, Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS), serta perangkat lunak bioinformatika seperti PyRx, PyMOL, dan BIOVIA: Discovery Studio Visualizer. Selain itu, digunakan juga alat-alat laboratorium standar seperti pipet volumetrik, tabung reaksi, labu ukur, timbangan analitik, dan vortex mixer (Magaji *et al.*, 2022).

Persiapan sampel

Daun *Synsepalum dulcificum* yang telah dikeringkan selama tujuh hari pada suhu kamar digiling menjadi serbuk halus. Sebanyak 10 gram serbuk daun ditimbang dan dimaserasi dengan 250 ml etanol 70% selama 72 jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring dan diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 45°C hingga diperoleh ekstrak pekat (SE *et al.*, 2022). Ekstrak ini disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terlindung dari sinar matahari langsung.

Uji aktivitas antioksidan (DPPH)

Aktivitas antioksidan dari ekstrak daun diuji menggunakan metode DPPH. Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dalam etanol, kemudian 1 mL ekstrak daun dengan berbagai konsentrasi (blank, 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm) ditambahkan ke 3 mL larutan DPPH. Campuran diinkubasi selama 30 menit dalam kondisi gelap. Absorbansi

diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Persentase pengurangan radikal DPPH dihitung untuk menentukan aktivitas antioksidan (Cahyono *et al.*, 2020). IC₅₀ dihitung dari kurva kalibrasi standar antioksidan, jika nilai IC₅₀ yang lebih rendah, maka menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih kuat (Sukweenadhi *et al.*, 2020).

Analisis senyawa bioaktif dengan LC-MS

Ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* dianalisis menggunakan LC-MS untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan saponin. Sampel disuntikkan ke dalam sistem LC-MS dengan auto-sampler. Pemisahan senyawa dilakukan dalam kolom LC dengan kondisi operasi yang telah ditentukan, sementara detektor massa mengidentifikasi senyawa berdasarkan massa molekulnya (Beccaria & Cabooter, 2020). Data yang dihasilkan dianalisis untuk menentukan identitas dan kuantitas senyawa yang terkandung dalam ekstrak.

Molecular docking (In-silico)

Uji in-silico dilakukan untuk memprediksi interaksi antara senyawa bioaktif dalam ekstrak daun dengan enzim aldosa reduktase menggunakan metode molecular docking. Struktur senyawa yang diidentifikasi oleh LC-MS diunduh dari basis data PubChem dan dipersiapkan sebagai ligan. Target protein aldosa reduktase diperoleh dari Protein Data Bank (PDB ID: 1ADS) (Kousaxidis *et al.*, 2020). Docking molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx, kemudian di preparasi dengan software PyMol. Sementara dan residu asam amino yang terlibat dilakukan menggunakan BIOVIA: Discovery Studio Visualizer (Magaji *et al.*, 2022).

Analisis data

Data yang diperoleh dari uji in-vitro (DPPH) dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA untuk melihat signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan dengan selang kepercayaan 5%. Sedangkan data dari molecular docking

dianalisis secara deskriptif dengan membandingkan energi afinitas pengikatan antara flavonoid dan ligan standar.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas antioksidan dengan DPPH

Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* memiliki kemampuan antioksidan yang sangat signifikan. Hal ini terlihat dari persentase inhibisi yang meningkat seiring dengan

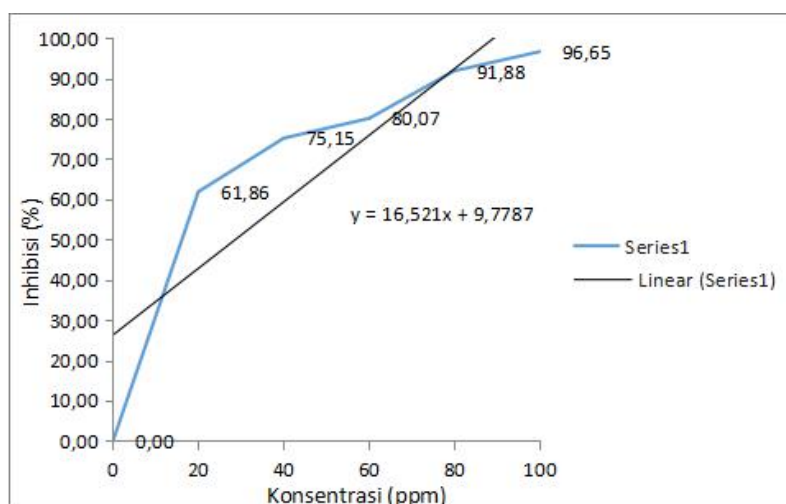
bertambahnya konsentrasi ekstrak. Pada konsentrasi 20 ppm, inhibisi DPPH tercatat sebesar 61,61%, yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang baik pada konsentrasi rendah. Namun, yang lebih mengesankan adalah pada konsentrasi tertinggi, yaitu 100 ppm, di mana inhibisi mencapai 97,05%. Angka ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi tinggi, ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* hampir sepenuhnya mampu menghambat radikal bebas DPPH, menegaskan potensi ekstrak ini sebagai sumber antioksidan yang kuat.

Tabel 1. Hasil analisis aktivitas antioksidan dengan DPPH

Concentration (ppm)	Absorbance	% Inhibition
Blank	1,016±0	0±0
20	0,39±0,009	61,61±0,84
40	0,25±0,010	75,39±0,98
60	0,2±0,010	80,31±0,98
80	0,08±0,006	92,13±0,57
100	0,03±0,006	97,05±0,57

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa ekstrak daun memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 11,4108 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} ini termasuk dalam kategori sangat kuat (Gambar 1). Semakin rendah nilai IC_{50} maka aktivitas antioksidan

semakin kuat (Akter *et al.*, 2019). Nilai IC_{50} yang rendah ini mendukung hipotesis bahwa daun *Synsepalum dulcificum* kaya akan senyawa flavonoid yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan sesuai dengan penelitian.



Gambar 1. Diagram persamaan regresi linier DPPH

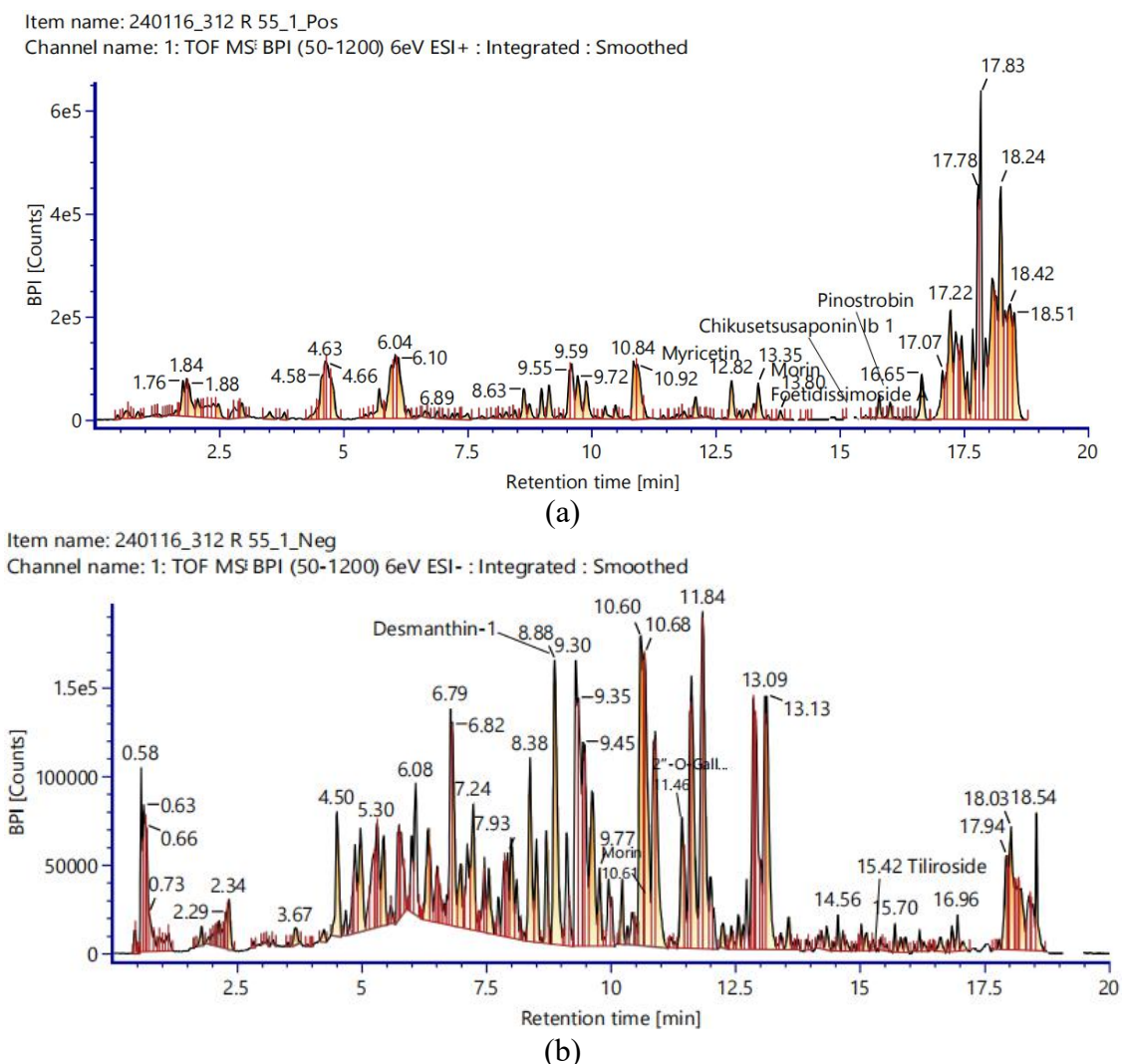
Hasil analisis flavonoid dengan LC-MS

Analisis senyawa bioaktif dalam ekstrak daun *Synsepalum dulcificum*

dilakukan menggunakan metode *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) (Araujo *et al.*, 2020).

BPI-Plot menunjukkan bahwa sampel mengandung berbagai senyawa dengan konsentrasi yang bervariasi (Gambar 2).

Hasil uji LC-MS menunjukkan bahwa telah teridentifikasi yaitu 9 senyawa golongan flavonoid (Tabel 2).



Gambar 2. a) Plot BPI ekstrak daun SD dengan mode ESI positif [+H]; b) Plot BPI ekstrak daun SD dengan mode ESI negatif [-H]

Berdasarkan Tabel 2, senyawa seperti Morin, Myricetin, dan Pinostrobin terdeteksi dalam mode ionisasi positif (+), dengan waktu retensi masing-masing 13,80 menit, 12,09 menit, dan 15,79 menit. Morin memiliki massa molekul terukur sebesar 303,0498 u, sementara Myricetin dan Pinostrobin masing-masing memiliki massa molekul terukur sebesar 319,0451 u dan 271,0956 u.

Sementara itu, senyawa seperti 2''-O-Galloylhyperin, Cyanidin 3-glucoside Chloride, Desmanthin-1, Luteolin-7-O-[β-

D-apiofuranosyl(1 → 6)] β -D-glucopyranoside, Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)-β -D-glucopyranoside, dan Tiliroside terdeteksi dalam mode ionisasi negatif (-). Senyawa-senyawa ini memiliki waktu retensi dan massa molekul yang bervariasi. Misalnya, Desmanthin-1 dan 2''-O-Galloylhyperin memiliki massa molekul yang dihitung hampir sama, yaitu sekitar 616 u, dan waktu retensi masing-masing 8,88 menit dan 11,47 menit.

Tabel 2. Hasil analisis senyawa bioaktif menggunakan metode LC-MS

ESI Mode	Group	Compound	Molecular formula	Retention Time	Molecular weight	
					Calculation mass	Measurable mass
(+)	Flavonoid	Morin	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	13,80	302,23	303,0498
(+)	Flavonoid	Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	12,09	318,23	319,0451
(+)	Flavonoid	Pinostrobin	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	15,79	270,28	271,0956
(-)	Flavonoid	2''-O-Galloylhyperin	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	11,47	616,5	615,0975
(-)	Flavonoid	Cyanidin 3-glucoside Chloride	C ₂₁ H ₂₁ ClO ₁₁	10,71	484,8	483,0692
(-)	Flavonoid	Desmanthin-1	C ₂₈ H ₂₄ O ₁₆	8,88	616,5	615,0982
(-)	Flavonoid	Luteolin-7-O-[[β-D-apiofuranosyl(1→6)]β-D-glucopyranoside	C ₂₆ H ₂₈ O ₁₅	9,71	580,5	579,1353
(-)	Flavonoid	Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)-β-D-glucopyranoside	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	15,87	506,4	505,0971
(-)	Flavonoid	Tiliroside	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₃	15,42	594,5	593,1276

Pembahasan *screening* fisikokimia lipinski

Screening fisikokimia menggunakan kriteria *Lipinski's Rule of Five* merupakan langkah penting dalam penilaian potensi senyawa bioaktif dari ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* sebagai kandidat obat (Chen *et al.*, 2020). Berdasarkan aturan lipinski, untuk menjadi calon obat yang efektif, senyawa harus memenuhi beberapa parameter fisikokimia tertentu. Kriteria ini mencakup jumlah hidrogen donor (HBD) dan akseptor (HBA), berat molekul (MW), dan koefisien distribusi log P (LogP).

Berdasarkan hasil *screening* yang dilakukan pada senyawa flavonoid yang teridentifikasi dari ekstrak daun, Morin dan Pinostrobin menunjukkan hasil yang sesuai dengan kriteria Lipinski yang memiliki berat molekul yang berada dalam rentang yang diizinkan (berat molekul ≤ 500 Da), dengan nilai LogP yang menunjukkan kelarutan yang baik dalam lipid, yang merupakan indikasi kemampuan senyawa untuk menembus membran sel. Morin memiliki 5 donor hidrogen dan 7 akseptor hidrogen, sedangkan Pinostrobin memiliki 1 donor hidrogen dan 4 akseptor hidrogen. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 3, yang memberikan gambaran lebih rinci mengenai kemampuan interaksi masing-masing senyawa dengan target biologis berdasarkan Lipinski.

Interaksi ligan dengan reseptor aldosa reduktase

Molecular docking adalah salah satu metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi molekuler antara senyawa bioaktif dengan target protein, dalam hal ini senyawa flavonoid yang diisolasi dari daun *Synsepalum dulcificum* dan enzim aldosa reduktase (AR). AR merupakan enzim kunci dalam jalur poliol, yang berperan dalam mengkatalisis konversi glukosa menjadi sorbitol. Pada kondisi hiperglikemia, aktivitas AR yang berlebihan dapat menyebabkan peningkatan akumulasi sorbitol dalam jaringan, karena sorbitol tidak mudah berdifusi keluar dari sel. Akumulasi sorbitol ini diketahui berkontribusi pada patogenesis berbagai komplikasi diabetes, termasuk neuropati diabetik, retinopati, nefropati, dan katarak. Penelitian yang dilakukan oleh Huang *et al.* (2019) menunjukkan bahwa penghambatan aktivitas enzim aldosa reduktase dapat menjadi strategi potensial untuk mencegah atau mengurangi komplikasi yang terkait dengan diabetes. Temuan ini menyoroti pentingnya pengembangan terapi yang menargetkan aldosa reduktase sebagai cara untuk mengurangi risiko komplikasi kronis yang sering dialami oleh penderita diabetes.

Tabel 3. Screening aktivitas sifat fisiko kimia dengan lipinski

NO	Ligan	Mass	HBD	HBA	LogP	MR
1	Morin	302	5	7	2,010900	74,050476
2	Myricetin	318	6	8	1,716500	75,715279
3	Pinostrobin	270	1	4	3,107298	73,417282
4	2''-O-Galloylhyperin	616	10	16	0,250901	140,906982
5	Cyanidin 3-glucoside Chloride	449	8	11	0,191990	106,450348
6	Desmanthin-1	616	10	16	0,984100	141,159973
7	Luteolin-7-O-[[β -D-apiofuranosyl(1 \rightarrow 6)] β -D-glucopyranoside	580	11	15	-2,205899	131,912247
8	Quercetin-3-O-(6''-O-acetyl)- β -D-glucopyranoside	506	7	13	-0,159800	115,821037
9	Tiliroside	594	7	13	1,533700	145,623154

Deskripsi

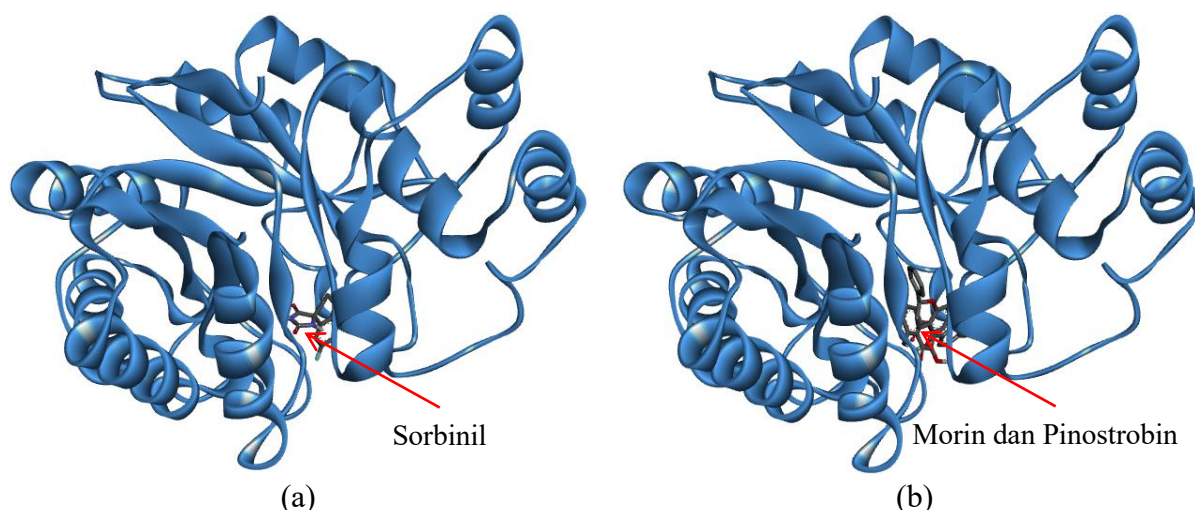
Mass : The molecular mass of the compound.

HBD : The number of hydrogen bond donors.

HBA : The number of hydrogen bond acceptors.

LogP : The logarithm of the octanol-water partition. This value indicates how lipophilic (fat-loving) a compound is.

MR : Molar refractivity, a measure of the volume of a molecule.



Gambar 3. Struktur 3D aldosa reduktase dengan ligan: (a) aldosa reduktase dengan Sorbinil; (b) aldosa reduktase dengan morin dan pinostrobin

Gambar 3 menunjukkan representasi struktur tiga dimensi (3D) dari enzim aldosa reduktase yang berinteraksi dengan tiga ligan, yaitu sorbinil, morin, dan pinostrobin. Pada gambar tersebut, terlihat bahwa ketiga ligan tersebut berada pada posisi pengikatan yang sama di dalam situs aktif aldosa reduktase. Struktur pita biru menunjukkan bentuk sekunder enzim aldosa reduktase, dengan bagian ligan terikat di pusat situs aktif enzim.

Posisi ligan sorbinil (sebagai ligan standar), morin, dan pinostrobin yang berada pada area pengikatan yang sama menunjukkan bahwa kedua senyawa

flavonoid ini (morin dan pinostrobin) berpotensi untuk menghambat aktivitas aldosa reduktase secara kompetitif. Kedua senyawa ini mampu berinteraksi dengan residu asam amino kunci pada situs aktif enzim yang juga terlibat dalam interaksi sorbinil.

Dengan morin dan pinostrobin yang menunjukkan pengikatan di lokasi yang sama dengan ligan standar, hal ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut dapat bertindak sebagai inhibitor efektif terhadap aldosa reduktase, serupa dengan sorbinil, tetapi dengan potensi aktivitas

penghambatan yang lebih kuat berdasarkan hasil molecular docking.

Hasil molecular docking menunjukkan bahwa morin dan pinostrobin memiliki afinitas pengikatan yang kuat dengan enzim aldosa reduktase. Pinostrobin menunjukkan nilai afinitas pengikatan sebesar -10,4 kkal/mol, sementara morin memiliki afinitas pengikatan yang sama yaitu -10,4 kkal/mol.

Afinitas pengikatan ini lebih kuat dibandingkan dengan ligan standar, yaitu sorbinil, yang memiliki nilai afinitas pengikatan -7,4 kkal/mol (Tabel 4). Hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa flavonoid ini memiliki potensi yang baik sebagai inhibitor aldosa reduktase (Huang *et al.*, 2019).

Tabel 4. Docking molekuler ligan dengan reseptor AR

Receptor	Ligand	Binding, Affinity, (Kcal/mol)	Amino acid residues
AR	Sorbinil (Standar ligan)	-7,4	TRP20, TRP111, TRP219, CYS298, LEU300
	Pinostrobin	-10,4	TRP20, TYR48, TYR209, TRP219, CYS298, LEU300, LEU301
	Morin	-10,4	TRP20, TRP79, HIS110, TRP111, PHE122, TRP219, SER302

Catatan: Font **Bolts** adalah residu yang memiliki kesamaan dengan ligan standar

Dari hasil di atas, terlihat bahwa baik morin maupun pinostrobin menunjukkan interaksi yang kuat dengan residu asam amino kunci seperti TRP20, TRP111, TRP219, CYS298, LEU300 pada enzim aldosa reduktase, yang juga merupakan residu yang berinteraksi dengan ligan standar sorbinil. Hal ini menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut dapat berinteraksi secara kompetitif dengan enzim aldosa reduktase, yang berpotensi menghambat aktivitas enzim ini. Dengan nilai afinitas pengikatan yang lebih negatif dibandingkan dengan sorbinil, dapat disimpulkan bahwa morin dan pinostrobin dari daun *Synsepalum dulcificum* berpotensi menjadi agen penghambat aldosa reduktase yang lebih efektif (Suharoschi *et al.*, 2023; Upadhyaya *et al.*, 2023). Penelitian ini menunjukkan bahwa flavonoid memiliki potensi besar sebagai kandidat obat alami untuk mencegah komplikasi diabetes yang berkaitan dengan aktivitas enzim aldosa reduktase. Namun, untuk memastikan efektivitas dan keamanannya, diperlukan uji lebih lanjut yang mencakup validasi secara in-vitro dan in-vivo. Uji in-vitro akan

membantu memahami mekanisme kerja flavonoid pada tingkat seluler, sedangkan uji in-vivo akan memberikan gambaran tentang efeknya dalam organisme hidup. Dengan demikian, penelitian lanjutan ini sangat penting untuk mengonfirmasi manfaat terapeutik flavonoid dan potensi penggunaannya dalam pengobatan diabetes.

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil mengidentifikasi potensi flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* sebagai antioksidan dan inhibitor enzim aldosa reduktase. Hasil uji antioksidan dengan metode DPPH menunjukkan bahwa ekstrak daun *Synsepalum dulcificum* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat, dengan nilai IC₅₀ sebesar 11,4108 µg/mL, yang menempatkannya dalam kategori sangat kuat. Hasil analisis LC-MS mengungkapkan adanya 9 senyawa flavonoid dalam ekstrak daun. Analisis molecular docking menunjukkan bahwa senyawa morin dan pinostrobin memiliki afinitas pengikatan yang lebih tinggi

terhadap enzim aldosa reduktase dibandingkan dengan ligan standar sorbinil, dengan nilai binding affinity sebesar -10,4 kkal/mol untuk keduanya. Interaksi antara senyawa morin dan pinostrobin dengan residu aktif aldosa reduktase, seperti TRP20, TRP111, TRP219, CYS298, dan LEU300, mengindikasikan bahwa kedua senyawa ini dapat bertindak sebagai inhibitor yang efektif terhadap enzim tersebut, sehingga berpotensi mencegah komplikasi diabetes yang disebabkan oleh aktivitas aldosa reduktase.

Penelitian ini telah menunjukkan potensi flavonoid dari daun *Synsepalum dulcificum* sebagai antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase. Namun, penelitian lanjutan diperlukan untuk mengoptimalkan dan memvalidasi temuan ini. Pertama, disarankan agar dilakukan uji in-vitro tambahan untuk mengeksplorasi lebih lanjut aktivitas biologis senyawa flavonoid, terutama terhadap enzim aldosa reduktase dan target enzim lainnya yang terkait dengan komplikasi diabetes. Selain itu, uji in-vivo diperlukan untuk menilai efek farmakologis dan toksikologis senyawa ini pada model hewan, guna memastikan keamanan dan efektivitasnya sebelum aplikasi klinis.

DAFTAR PUSTAKA

- Akter, J., Hossain, M. A., Takara, K., Islam, M. Z., & Hou, D.-X. (2019). Antioxidant activity of different species and varieties of turmeric (*Curcuma* spp): Isolation of active compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 215, 9-17.
- Araujo, N. M. P., Arruda, H. S., Dos Santos, F. N., de Moraes, D. R., Pereira, G. A., & Pastore, G. M. (2020). LC-MS/MS screening and identification of bioactive compounds in leaves, pulp and seed from *Eugenia calycina* Cambess. *Food Research International*, 137, 109556.
- Beccaria, M., & Cabooter, D. (2020). Current developments in LC-MS for pharmaceutical analysis. *Analyst*, 145(4), 1129–1157.
- Cahyono, B., Setyadewi, C., Suzery, M., & Aminin, A. L. (2020). The comparison of spectrophotometric and TLC-densitometric for dpph radical scavenging activity analysis of three medicinal plant extracts. *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)*, 5(2), 110–122.
- Chen, X., Li, H., Tian, L., Li, Q., Luo, J., & Zhang, Y. (2020). Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology*, 27(9), 1397–1406. <https://doi.org/10.1089/cmb.2019.0323>
- Huang, Q., Liu, Q., & Ouyang, D. (2019). Sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in fighting against diabetic complications. *Medicinal Chemistry*, 15(1), 3–7. <https://doi.org/10.2174/1573406414666180524082445>
- Jaiswal, A. K., & Prakash, B. (2023). Bioinformatics approaches: Elucidation of novel sites of action, toxicity prediction tool, and perception of bioactive compounds. In *Green Products in Food Safety* (pp. 309–327). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95590-4.00010-2>
- Karagöz, A., Artun, F. T., Özcan, G., Melikoğlu, G., Anıl, S., Kültür, Ş., & Sütülpınar, N. (2015). In vitro evaluation of antioxidant activity of some plant methanol extracts. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(6), 1184–1189. <https://doi.org/10.1080/13102818.2015.1080600>
- 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 mellitus. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 207, 112742.
- Magaji, Y., Abdullahi, Z., Haroun, A. A., Alhaji, A. I., & Sani, A. M. (2022).

- Structure based docking of secondary metabolites against alpha-amylase and alpha-glucosidase activities in treating diabetes. *Journal of Applied Life Sciences International*, 25(3), 40–50.
- Onuminya, T. O., Asekunowo, A. K., Ifelaja, F. M., & Ogundipe, O. T. (2023). Phytochemical, proximate and hypoglycemic potential of for management of in Nigeria. *Annals of Science and Technology*, 8(1), 1–9. <https://doi.org/10.2478/ast-2023-0005>
- Qiao, L., Lewis, R., Hooper, A., Morphet, J., Tan, X., & Yu, K. (2013). Using natural products application solution with UNIFI for the identification of chemical ingredients of green tea extract. *Report No. APNT134775221*, (Waters, 2013). <https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2013/720004837/720004837-ko.pdf>
- SE, X. O., Anie, C. O., & Omoh, J. O. (2022). Evaluation of herbal creams formulated using ethanolic extract of Carica papaya leaves. *International Journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences*, 11(5), 2179–2190.
- Suharoschi, R., Pop, O. L., Ciont, C., Muresan, C. I., & Hegheş, S. C. (2023). Chalcones: Extraction Methods, Food Industry Applications. In S. M. Jafari, A. Rashidinejad, & J. Simal-Gandara (Eds.), *Handbook of Food Bioactive Ingredients* (pp. 1–42). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-81404-5_10-1
- Sukweenadhi, J., Yunita, O., Setiawan, F., Kartini, Siagian, M. T., Danduru, nggreyni P., & Avanti, C. (2020). Antioxidant activity screening of seven Indonesian herbal extract. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(5), Article 5. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210532>
- Tchokponhoué, D. A., Achigan-Dako, E. G., N'Danikou, S., Nyadanu, D., Kahane, R., Odindo, A. O., & Sibiyi, J. (2021). Comparative analysis of management practices and end-users' desired breeding traits in the miracle plant [Synsepalum dulcificum (Schumach & Thonn.) Daniell] across ecological zones and sociolinguistic groups in West Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 17(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13002-021-00467-8>
- Upadhyaya, S. R., Magar, L. B., Thapa, R., Joshi, S., Khadayat, K., Marasini, B. P., & Parajuli, N. (2023). Biochemical Analysis and Human Aldose Reductase Inhibition Activity of Selected Medicinal Plants of Nepal. *Journal of Chemistry*, 2023, 1–14. <https://doi.org/10.1155/2023/9614164>