



## Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase oleh Senyawa Flavonoid Daun Kelor (*Moringa oleifera*) *In Silico* dan *In Vitro*

(In Silico And In Vitro Inhibition Of  $\alpha$ -Glucosidase By Moringa Oleifera Leaves Flavonoid Compounds)

Puspa Julistia Puspita<sup>1</sup>, Shobiroh Nuur Alimah<sup>1</sup>, Laksmi Ambarsari<sup>1\*</sup>, Riksa Nur Wahyuni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University Bogor 16680, Indonesia*

Received: 3 March 2023; Revised: 18 July 2023; Accepted: 6 December 2023

Corresponding author, email: [laksmi@apps.ipb.ac.id](mailto:laksmi@apps.ipb.ac.id)\*

### ABSTRACT

*Moringa leaves flavonoids have the potential to inhibit  $\alpha$ -glucosidase. Nanoparticles are one way to improve the bioavailability of Moringa leaves. However, it is not known yet which specific flavonoid compounds from Moringa leaves have the potential to inhibit  $\alpha$ -glucosidase. Through molecular docking, this research aimed to determine the inhibition potential of  $\alpha$ -glucosidase by the flavonoid compound from Moringa leaves. It also aimed to determine the inhibitory activity of  $\alpha$ -glucosidase by its flavonoid compound in extracts and nanoparticles in vitro. The results of this study found that Moringa leaves flavonoid has the potential to be a competitive inhibition of  $\alpha$ -glucosidase with the highest to lowest inhibitory potential are cryptochlorogenic acid, quercetin-3-O-beta-D-glucopyranoside, quercetin-3-glucoside, kaempferol-3-O-a-ramnoside, kaempferol-3-O-glucoside, epicatechin, catechins, quercetin, kaempferol, glucomoringin isothiocyanate. Moreover, cryptochlorogenic acid has the best potential with  $\Delta G$  and  $K_i$  values -8.5 kcal/mol and 0.5788  $\mu$ M. In addition, Inhibition  $\alpha$ -glucosidase Moringa leaves flavonoid in extract and nanoparticles, respectively, are classified as inactive ( $IC_{50} = 5.84 \times 10^3$  ppm) and active ( $IC_{50} = 1.59 \times 10^1$  ppm) in vitro. Therefore, nanoparticles have the potential to increase inhibitory activity.*

**Keywords:**  *$\alpha$ -glucosidase, in silico, in vitro, moringa leaves*

### ABSTRAK

*Flavonoid daun kelor berpotensi menghambat  $\alpha$ -glukosidase, namun memiliki bioavailabilitas rendah sehingga ditingkatkan kemampuannya dengan pembuatan nanopartikel. Belum diketahui pula senyawa flavonoid spesifik dari daun kelor yang berpotensi menghambat  $\alpha$ -glukosidase. Penelitian ini bertujuan menentukan potensi inhibisi  $\alpha$ -glukosidase flavonoid daun kelor secara in silico melalui penambatan molekuler dan menentukan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase flavonoid daun kelor dalam sediaan ekstrak dan nanopartikel secara in vitro. Flavonoid daun kelor secara in silico berpotensi menghambat  $\alpha$ -glukosidase secara kompetitif, dengan daya inhibisi tertinggi hingga terendah adalah asam kriptoklorogenik, kuersetin-3-O- $\beta$ -D-glukopiranosida, kuersetin-3-glukosida, kaempferol-3-O-a-ramnosida, kaempferol-3-O-glukosida, epikatekin, katekin, kuersetin, kaempferol, glukomoringin isotiosianat. Asam kriptoklorogenik memiliki potensi terbaik dengan nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  sebesar -8.5 kkal/mol dan 0.5788  $\mu$ M. Inhibisi  $\alpha$ -glukosidase flavonoid daun kelor dalam sediaan ekstrak dan nanopartikel berturut-turut dikategorikan tidak aktif ( $IC_{50} = 5.84 \times 10^3$  ppm) dan aktif ( $IC_{50} = 1.59 \times 10^1$  ppm) secara in vitro. Hal ini menunjukkan pembuatan nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase.*

**Kata kunci:**  *$\alpha$ -glukosidase, daun kelor, in silico, in vitro*

## 1. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan metabolis dengan ciri meningkatnya kadar glukosa dalam darah postprandial atau setelah makan. Penderita DM di Indonesia menempati peringkat keempat dengan jumlah penderita 8.4 juta penduduk pada tahun 2000 dan diperkirakan mencapai 21.3 juta penduduk pada tahun 2030 (Risksedas 2018). Menurunkan kadar glukosa pada masa postprandial menjadi target kunci bagi penderita diabetes, seperti yang ditekankan dalam panduan yang dikeluarkan oleh Federasi Diabetes Internasional dan Asosiasi Diabetes Amerika (IDF 2014 dan ADA 2020). Inhibisi  $\alpha$ -glukosidase menjadi target bagi pengembangan obat antidiabetes seperti akarbose, miglitol dan vaglibosa (Van de Laar FA *et al.* 2005). Obat ini berperan penting untuk menurunkan kadar glukosa setelah makan dengan cara memperlambat pencernaan karbohidrat dan penyerapan glukosa gastrointestinal, sekaligus telah terbukti dapat memperbaiki kontrol indeks glikemik dan menurunkan diabetes melitus tipe 2 (DM2) (Van de Laar FA *et al.* 2005, Alssema M. 2021, Altay M. 2022). Penelitian ini akan menggunakan akarbose sebagai inhibitor komersial  $\alpha$ -glukosidase yang telah banyak digunakan untuk pengobatan pada pasien DM 2 selama kurang lebih 30 tahun. Beberapa penelitian juga menunjukkan bahwa akarbose memiliki efek menurunkan berat badan dengan meningkatkan Glucagon-like peptide 1 (GLP-1). Efek positif dari akarbose dan kemampuan untuk memberikan perlindungan pada sistem kardiovaskular menyebabkan akarbose menjadi pilihan utama sebagai agen antidiabetes (Altay M. 2022).

Daun kelor (*Moringa oleifera*) merupakan tanaman dengan berbagai kandungan flavonoid, alkaloid, fenol dan saponin (Arora *et al.* 2013). Pitriya *et al.* (2017) menyimpulkan bahwa ekstrak daun kelor dapat menurunkan kadar glukosa darah dan dapat berperan sebagai antihiperlikemia. Senyawa flavonoid dalam daun kelor berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Namun, senyawa flavonoid memiliki bioavailabilitas rendah di dalam darah (Thilakarathna dan Rupasinghe 2013). Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah

dengan pembuatan nanopartikel. Nanopartikel dapat meningkatkan bioavailabilitas obat karena adanya pengecilan ukuran partikel yang dapat meningkatkan luas permukaan sehingga kelarutan meningkat (Rawat *et al.* 2020). Gufron (2013) membuktikan sediaan senyawa aktif metformin dalam bentuk nanopartikel kitosan lebih efektif menurunkan gula darah dibandingkan sediaan metformin biasa.

Isnanto (2020) berhasil mendapatkan ekstrak flavonoid daun kelor dan membuatnya dalam sediaan nanopartikel, namun keduanya belum diteliti potensinya sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Selain itu, belum diketahui pula senyawa flavonoid spesifik dalam daun kelor yang berpotensi sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menentukan potensi inhibisi  $\alpha$ -glukosidase oleh senyawa flavonoid daun kelor secara *in silico* dan menentukan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase oleh senyawa flavonoid daun kelor dalam sediaan ekstrak dan nanopartikel secara *in vitro*. Penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai acuan pengembangan alternatif obat antidiabetes.

## 2. METODOLOGI

### Uji *In silico* Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun Kelor

**Preparasi Ligan.** Seluruh ligan uji diantaranya glukomoringin isotiosianat (penciri daun kelor) (William 2019), epikatekin, katekin, kaempferol, kaempferol-3-O-glukosida, kaempferol-3-O-a-ramnosida, kuersetin, kuersetin-3-O-beta-D-glukopiranosida, kuersetin-3-glukosida, asam kriptoklorogenik (flavonoid daun kelor) (Perez *et al.* 2016; Lin *et al.* 2018) diunduh struktur dua dimensinya dari laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dalam format sdf kemudian ditransformasikan menjadi 3D oleh MarvinView dalam format pdb. Ligan pembanding (akarbose) diperoleh dari hasil pemisahan dari reseptor 2QMJ. Semua ligan dioptimasi dan disimpan dengan format pdbqt menggunakan Autodock Tools 1.5.6.

**Preparasi Reseptor.** Reseptor  $\alpha$ -glukosidase (2QMJ) diperoleh dari laman <http://www.rscb.org>. Preparasi dilakukan pada

reseptor dengan menghilangkan molekul air dan ligan menggunakan Discovery Studio dan disimpan dalam format PDB. Penambahan atom hidrogen pada gugus polar dan perhitungan muatan Gasteiger kemudian dilakukan menggunakan Autodock Tools dan disimpan dalam bentuk PDBQT. Reseptor  $\alpha$ -glukosidase yang telah dipreparasi dianalisis menggunakan Procheck untuk melihat stabilitas struktur reseptor tersebut. Analisis stabilitas dilakukan menggunakan diagram Ramachandran pada laman <http://servicen.mbi.ucla.edu/PROCHECK/> (Lovell et al. 2002).

**Validasi Grid Box dan Penambatan Molekuler (Modifikasi Farhan 2019).** Sebelum melakukan penambatan molekuler, dilakukan beberapa validasi terhadap sisi pengikatan ligan atau daerah pengikatan pada ligan melalui validasi *gridbox*. Validasi ini dilakukan menggunakan AutoDock Tools 1.5.6 dan Autodock Vina (The Scripps Research Institute, Amerika) sebanyak 10 kali ulangan pada akarbosa dengan ukuran *gridbox*  $x=14$ ,  $y=14$ ,  $z=20$ , dan koordinat  $x=-21.782$ ,  $y=-6.01$ ,  $z=-5.665$  serta  $spasi=1$  dengan nilai RMSD yang diperoleh  $\leq 2$ . File reseptor dan ligan pembanding yang telah dipreparasi dalam format PDBQT dimasukkan ke dalam folder Vina yang ditempatkan di *drive* C. Dokumen *configuration* (conf) dibuat dan disimpan pada folder Vina.

Setelah itu, dilanjutkan dengan penambatan molekuler dengan *gridbox* hasil validasi terbaik. Penambatan molekuler dilakukan menggunakan ligan uji dengan reseptor  $\alpha$ -glukosidase dengan AutoDock Tools 1.5.6 dan Autodock Vina (The Scripps Research Institute, Amerika) dengan aturan dimensi (*grid box*) yang sama dari hasil tahap validasi. Perintah penambatan molekuler menggunakan *command prompt* (cmd) berupa “C:\Vina – config conf.txt –log log.txt”. Hasil penambatan molekuler berupa *file* dengan format PDBQT serta dokumen dengan format txt yang berisi energi bebas gibbs.

**Analisis Hasil Penambatan Molekuler (Pratama 2015; Setiawan 2015).** Hasil penambatan molekuler dianalisis berdasarkan interaksi ligan-reseptor secara 2D dan energi afinitas serta ikatan kimia yang terbentuk

ligan-reseptor. **Analisis Interaksi Ligan-Reseptor.** Interaksi ligan-reseptor dianalisis berdasarkan visualisasi 2D menggunakan Discovery Studio Visualizer dan Ligplot+ 1.5.4. Ligan uji digabungkan dengan reseptor tersebut dengan menyalin model terpilih pada layar tab “*ligand*” dan ditempelkan pada layar tab “*macromolecule*”. Ligan ditarik menuju reseptor hingga menyatu dan disimpan ke dalam bentuk format PDB kemudian dianalisis interaksi residu asam amino menggunakan perangkat lunak Ligplot+ 1.5.4. Program Ligplot+ 1.5.4 dibuka dan dipilih *file* PDB ligan-reseptor yang telah menyatu kemudian klik *Run*. Representasi interaksi ligan-reseptor secara 2D akan terlihat dimana garis putus-putus menunjukkan interaksi hidrogen, sementara garis seperti bulu mata menunjukkan interaksi hidrofobik. **Analisis Energi Afinitas dan Ikatan Kimia.** Energi afinitas dianalisis berdasarkan hasil penambatan molekuler dengan format txt yang berisi energi bebas gibbs. Energi afinitas ditentukan dengan model penambatan yang memiliki energi bebas gibbs terendah. Nilai ini juga digunakan untuk menganalisis konstanta inhibisi ( $K_i$ ) menggunakan rumus  $\Delta G = RT \ln K_i$ . Selain itu, dilakukan juga analisis ikatan kimia berupa ikatan hidrogen dan hidrofobik dari hasil visualisasi 2D menggunakan perangkat lunak Ligplot+ 1.5.4.

**Prediksi Sifat Fisikokimia, Bioaktivitas, dan Toksisitas Ligan (Modifikasi Pratama 2015; Setiawan 2015; Ochieng et al. 2017).** Seluruh ligan yang telah diunduh dalam format sdf, kemudian dianalisis sifat fisikokimianya melalui laman <http://www.scfbiiitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. *File* ligan diunggah ke dalam kolom input dan dipilih *submit* untuk memulai analisis. Analisis dilakukan pada standar pH 7. Sementara pada analisis bioaktivitas dan toksisitas, seluruh ligan diunduh pada laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dalam format SMILES (*Simplified Molecular-Input Line-Entry System*). Analisis bioaktivitas dilakukan pada laman [molinspiration.com](http://molinspiration.com) dengan mengunggah ligan dalam format SMILES kemudian dipilih *Predict Bioactivity* untuk menampilkan hasil prediksinya. Sedangkan analisis toksisitas dilakukan pada laman <http://lmmd.ecust.edu>.

cn/admetSAR1/predict/ dengan mengunggah ligan dalam format SMILES kemudian dipilih *Predict* untuk menampilkan hasil prediksinya.

### Uji *In vitro* Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun Kelor

**Inhibisi enzim  $\alpha$ -Glukosidase (Modifikasi Chen *et al.* 2014).** Sampel yang digunakan adalah ekstrak flavonoid daun kelor dengan kadar total flavonoid sebesar 5.559 mgQE/g (konsentrasi 800-2400 ppm), nanopartikel flavonoid daun kelor dengan ukuran partikel 264.2 nm, indeks polidispersi 0.433 dan efisiensi penjerapan 76% diperoleh dari penelitian Isnanto (2020) (konsentrasi 0.8-80 ppm), serta akarbosa (konsentrasi 0.1-10 ppm) sebagai pembanding. Sebanyak 50  $\mu$ L buffer fosfat 0.1 M dengan pH 7 direaksikan dengan 25  $\mu$ L larutan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (pNPG) 10 mM dan 10  $\mu$ L sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 5 menit. Reaksi dimulai dengan menambahkan 25  $\mu$ L enzim  $\alpha$ -glukosidase (0.1 unit/mL dalam buffer fosfat 0.1 M pH 7) dan campuran reaksi diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100  $\mu$ L Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.2 M. Hidrolisis enzimatis pada substrat dihitung berdasarkan jumlah p-nitrofenol yang dilepaskan selama reaksi dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 410 nm. Setiap sampel diuji sebanyak tiga kali ulangan.

**Analisis %Inhibisi dan IC<sub>50</sub> Enzim  $\alpha$ -Glukosidase (Sugiwati *et al.* 2009).** Analisis dilakukan dengan cara menghitung persentase inhibisi  $\alpha$ -glukosidase menggunakan persamaan:

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Perhitungan IC<sub>50</sub> dilakukan menggunakan persamaan regresi dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persentase inhibisi sebagai sumbu y. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung dari persamaan  $y = bx + a$  dengan menggunakan rumus:

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a \text{ (konstanta persamaan regresi)}}{b \text{ (variabel persamaan regresi)}}$$

## 3. HASIL

### Inhibisi $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun Kelor *In silico* Penambatan Molekuler

Sebelum dilakukan penambatan, terlebih dahulu dilakukan validasi *gridbox*. Hasil validasi menunjukkan nilai rata-rata *Root Mean Standard Deviation* (RMSD) sebesar 1.68 Å dan energi afinitas -7.74 kkal/mol. Penambatan kemudian dilakukan pada ukuran *grid box* x=14, y=14, z=20. Hasil penambatan lalu divisualisasikan menggunakan *Ligplot+* 1.45. Akarbosa sebagai ligan pembanding membentuk ikatan hidrogen pada residu His600, Asp327, Arg526, Asp203, Thr205, Asn207, Thr544 dan Asp524 sedangkan interaksi hidrofobiknya terjadi pada residu Asp443, Ile328, Trp406, Tyr299, Met444, Phe575, Trp539, dan Trp441. Interaksi akarbosa tersebut kemudian dibandingkan dengan interaksi antara ligan uji dengan reseptor untuk menentukan *Binding Site Similarity* (BSS) dalam persen. Hasil perhitungan menunjukkan glukomoringin isotiosianat memiliki %BSS tertinggi yaitu 68.75%, sedangkan katekin, epikatekin dan kaempferol memiliki %BSS terendah yaitu 50% (Tabel 1).

Penambatan molekul juga menghasilkan file "log" yang berisi energi afinitas. Ligan pembanding akarbosa dan ligan uji kaempferol-3-O-glukosida tertambat dengan energi afinitas sebesar -7.7 kkal/mol. Kaempferol-3-O-a-ramnosida, kuersetin-3-O-beta-D-glukopiranosida, kuersetin-3-glukosida dan asam kriptoklorogenik memiliki energi afinitas lebih negatif dari akarbosa, sebesar -8.1 kkal/mol, -8.2 kkal/mol, -8.1 kkal/mol, dan -8.5 kkal/mol sedangkan glukomoringin isotiosianat, epikatekin, katekin, kaempferol dan kuersetin memiliki energi afinitas yang lebih besar dibandingkan dengan akarbosa, -6.2 kkal/mol, -7.4 kkal/mol, -7.4 kkal/mol, -6.9 kkal/mol, -7.1 kkal/mol (Tabel 2). Energi afinitas kemudian digunakan untuk menghitung konstanta inhibisi. Nilai energi afinitas yang lebih negatif menunjukkan nilai *Ki* yang lebih rendah (Tabel 2). Sementara itu, total interaksi setiap ligan berkisar 1-8 untuk ikatan hidrogen dan 8-10 untuk interaksi hidrofobik.

## Prediksi Stabilitas Fisikokimia, Bioaktivitas dan Toksisitas Ligan

Prediksi stabilitas fisikokimia ligan dilakukan dengan aturan Lipinski berdasarkan 5 parameter, diantaranya massa atom relatif  $<500$  Da, donor ikatan hidrogen  $<5$ , akseptor ikatan hidrogen  $<10$ , nilai Log P  $<5$  dan refraktivitas molar diantara 40-130. Akarbosa melanggar 4 aturan Lipinski, diantaranya massa atom relatif, donor ikatan hidrogen, akseptor ikatan hidrogen, serta refraktivitas molar. Sementara itu, keseluruhan ligan uji tidak melanggar lebih dari dua aturan Lipinski (Tabel 3).

Nilai bioaktivitas ligan digolongkan menjadi tiga kategori, diantaranya aktif ( $>0.00$ ), cukup aktif ( $-0.50-0.00$ ), dan tidak aktif ( $<-0.50$ ). Hasil analisis menunjukkan keseluruhan ligan baik pembanding maupun ligan uji dikategorikan cukup aktif hingga aktif pada keseluruhan parameter (Tabel 4).

Parameter toksisitas yang diprediksi diantaranya, inhibisi *Human Ether-A-Go-Go Related Gene* (hERG), karsinogenisitas, dan toksisitas oral akut. Skor 1 menunjukkan kemungkinan selalu terjadi. Semua ligan tergolong inhibitor lemah berdasarkan hERG dan termasuk non karsinogenik. Sementara itu, pada parameter toksisitas oral akut, akarbosa termasuk kategori IV sedangkan ligan uji termasuk kategori II atau III (Tabel 5).

## Inhibisi $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun

### Kelor *In vitro*

Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase ditentukan berdasarkan %inhibisi dan nilai  $IC_{50}$ . Berdasarkan %inhibisi, semakin tinggi konsentrasi sampel semakin tinggi pula persentase penghambatan. Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase berdasarkan nilai  $IC_{50}$  digolongkan menjadi tiga kategori, diantaranya sangat aktif ( $<11$  ppm), aktif (11-100 ppm) dan tidak aktif ( $>100$  ppm). Ekstrak flavonoid daun kelor, nanopartikel flavonoid daun kelor dan akarbosa memiliki nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar  $5.84 \times 10^3$  ppm,  $1.59 \times 10^1$  ppm dan  $3.19 \times 10^{-1}$  ppm (Tabel 6) sehingga tergolong tidak aktif, aktif dan sangat aktif. Data menunjukkan, pembuatan nanopartikel meningkatkan aktivitas

inhibisi  $\alpha$ -glukosidase dengan diperolehnya nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah dibandingkan ekstrak. Akarbosa sebagai pembanding memiliki kemampuan inhibisi yang lebih baik dibandingkan flavonoid daun kelor baik dalam sediaan ekstrak maupun nanopartikel, yang ditunjukkan dengan nilai  $IC_{50}$  paling rendah.

## 4. PEMBAHASAN

### Inhibisi $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun

#### Kelor *In vivo*

Penambatan molekul merupakan metode komputasi untuk memprediksi konformasi serta orientasi ligan terhadap reseptor untuk membentuk kompleks yang stabil (Maharani et al. 2020). Sebelum dilakukan penambatan, terlebih dahulu dilakukan validasi dengan AutoDock Tools 1.5.6 dan Autodock Vina (The Scripps Research Institute, Amerika) sebanyak 10 kali ulangan. Hasil validasi terbaik menunjukkan nilai RMSD sebesar 1.68 Å. Mutaqqin et al. (2019) menyatakan nilai  $RMSD \leq 2$  Å menunjukkan metode penambatan yang digunakan bersifat akurat.

Akarbosa sebagai ligan pembanding merupakan inhibitor kompetitif yang berikatan dengan sisi aktif enzim. Akarbosa pada bagian cincin akarovosin berinteraksi dengan residu Asp443, Asp542 dan Tyr299 yang merupakan triad katalitik serta berikatan hidrogen dengan residu His600, Asp327, dan Arg526 dari enzim  $\alpha$ -glukosidase. Residu Asp443 berperan sebagai nukleofilik katalitik dan Asp542 berpotensi sebagai katalis asam atau basa (Sim et al. 2008). Residu Tyr299 memiliki peran untuk mengenali substrat dari enzim  $\alpha$ -glukosidase (Song et al. 2014). Sementara itu, interaksi hidrofobik terbentuk pada residu Trp406. Akarbosa pada bagian cincin glikon berinteraksi pada residu Thr544, Thr205 dan Asn207 (Sim et al. 2008).

Interaksi residu asam amino yang terdapat pada ligan uji dianalisis kemiripannya dengan akarbosa dan dinyatakan sebagai *Binding Site Similarity* (BSS). Semua ligan uji menghasilkan %BSS terendah sebesar 50% dan tertinggi sebesar 68.75% (Tabel 1). Jenioffa (2018) menyatakan ligan uji yang menghasilkan %BSS lebih dari 50% menandakan tingginya

tingkat kemiripan interaksi residu asam amino. Hal ini menunjukkan semua ligan uji berpotensi memiliki jenis inhibisi yang sama dengan akarbosa yaitu inhibisi kompetitif.

Penambatan molekul juga menghasilkan nilai energi afinitas yang kemudian digunakan untuk menganalisis stabilitas ligan-reseptor

(Pratama dan Suhartono 2018). Ligan uji kaempferol-3-O-a-ramnosida, kuersetin-3-O-beta-D-glukopiranosida, kuersetin-3-glukosida dan asam kriptoklorogenik memiliki energi afinitas lebih kuat dibandingkan ligan pembanding (akarbosa) (Tabel 2). Ligan dengan energi afinitas yang kuat memiliki konformasi

Tabel 1. Interaksi ligan terhadap  $\alpha$ -glukosidase

Ligan	Residu asam amino berikatan hidrogen	Residu asam amino berinteraksi hidrofobik	% BSS
Akarbosa (pembanding)	His600, Asp327, Arg526, Asp203, Thr205, Asn207, Thr544, Asp542	Asp443, Ile328, Trp406, Tyr299, Met444, Phe575, Trp539, Trp441	100
Glukomoringin isotiosianat (penciri)	Asp327, Thr205, Asp203	Asp443, Ile364, Tyr299, Phe575, Asp542, Thr204, Trp406, Arg526, Met444, Ile328	68.75
Epikatekin	Tyr605, Gln603	Phe575, Asp542, Trp441, Asp443, Asp327, Trp539, Ile364, Trp406, Tyr299	50
Katekin	Tyr605, Gln603	Phe575, Asp542, Trp441, Asp443, Asp327, Trp539, Ile364, Trp406, Tyr299	50
Kaempferol	Asp203	Phe575, Tyr299, Asp443, Trp406, Trp441, Ile364, Asp327, Asp542	50
Kaempferol-3-O-glukosida	Tyr605, Ser448, Asp203, Asp327, Gln603	Met444, Phe450, Arg526, Asp443, Asp542, Ile364, Trp441, Trp406, Tyr299, Gly602, Phe575	62.5
Kaempferol-3-O-a-ramnosida	Tyr605, Asp203, Asp443, Gln603	Phe575, Phe450, Asp327, Arg526, Trp406, Asp542, Ile364, Trp441, Tyr299, Gly602	56.25
Kuersetin	Arg526, Asp203	Met444, Asp542, Ile364, Phe575, Asp327, Asp443, Trp441, Tyr299, Trp406	62.5
Kuersetin-3-O-beta-D-glukopiranosida	Tyr605, Asp203, Asp443, Arg526, Gln603	Gly602, Trp406, Phe450, Asp327, Ile364, Tyr299, Trp441, Asp542, Phe575	56.25
Kuersetin-3-glukosida	Tyr605, Asp203, Asp443, Arg526, Gln603	Gly602, Trp406, Phe450, Asp327, Asp542, Ile364, Phe575, Trp441, Tyr299	56.25
Asam kriptoklorogenik	Asp203, Thr205, Asp443, Arg526	Thr204, Asp542, Trp441, Ile364, Trp406, Asp327, Tyr299, Phe575	62.5

Keterangan:  = residu asam amino yang berikatan sama seperti ligan pembanding (akarbosa)

Tabel 2. Energi afinitas dan ikatan kimia ligan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase

Ligan	Energi Afinitas ( $\Delta G$ ) (kkal/mol)	Ki ( $\mu M$ )	Jumlah Ikatan Hidrogen	Jumlah Ikatan Hidrofobik
Akarbosa (pembanding)	-7.7	2.2366	8	9
Glukomoringin isotiosianat (penciri)	-6.2	28.2048	3	10
Epikatekin	-7.4	3.7131	2	9
Katekin	-7.4	3.7131	2	9
Kaempferol	-6.9	8.6427	1	8
Kaempferol-3-O-glukosida	-7.7	2.2366	5	11
Kaempferol-3-O-a-ramnosida	-8.1	1.1378	4	10
Kuersetin	-7.1	6.1643	2	9
Kuersetin-3-O-beta-D-glukopiranosida	-8.2	0.9609	5	9
Kuersetin-3-glukosida	-8.1	1.1378	5	9
Asam kriptoklorogenik	-8.5	0.5788	4	8



Tabel 3. Stabilitas fisikokimia ligan dengan aturan Lipinski

Ligan	Massa atom relatif (Da)	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log P	Refraktivitas molar
Akarbosa (pembanding)	645	14	19	-8.221319	138.726.562
Glukomoringin isotiosianat (penciri)	313	4	6	-0.273710	78.978073
Epikatekin	290	5	6	1.09306	68.131493
Katekin	290	5	6	1.09306	68.131493
Kaempferol	286	4	6	0.64607	62.824192
Kaempferol-3-O-glukosida	448	7	11	1,15331	97.246582
Kaempferol-3-O-a-ramnosida	432	6	10	1.45311	96.367783
Kuersetin	302	5	7	0.52426	64.369995
Kuersetin-3-O-beta-D-glukopoiranosida	464	8	12	1.0315	98.792381
Kuersetin-3-glukosida	463	7	12	1.0895	97.543
Asam kriptoklorogenik	354	6	9	1.28594	78.631287

Keterangan:      = tidak memenuhi aturan Lipinski

Tabel 4. Bioaktivitas ligan

Ligan	Ligan GPCR	Modulator kanal ion	Inhibitor kinase	Ligan reseptor nuklir	Inhibitor Protease	Inhibitor enzim
Akarbosa (pembanding)	-0.2	-0.49	-0.33	-0.29	0.21	0.21
Glukomoringin isotiosianat (penciri)	0.03	-0.05	-0.40	-0.20	-0.11	-0.49
Epikatekin	0.41	0.14	0.09	0.6	0.26	0.47
Katekin	0.41	0.14	0.09	0.6	0.26	0.47
Kaempferol	-0.1	-0.21	0.21	0.32	-0.27	0.26
Kaempferol-3-O-glukosida	0.06	-0.05	0.10	0.20	-0.05	0.41
Kaempferol-3-O-a-ramnosida	-0.01	-0.09	0.05	0.16	-0.05	0.36
Kuersetin	-0.06	-0.19	0.28	0.36	-0.25	0.28
Kuersetin-3-O-beta-D-glukopoiranosida	0.09	-0.07	0.22	0.35	0.18	0.42
Kuersetin-3-glukosida	0.06	-0.04	0.13	0.20	-0.06	0.42
Asam kriptoklorogenik	0.18	0.02	-0.1	0.66	0.14	0.49

Tabel 5. Toksisitas ligan

Ligan	Inhibisi <i>Human Ether-A-Go-Go-Related Gene</i> (hERG)		Karsinogenisitas		Toksisitas oral akut	
	Kategori	Skor	Kategori	Skor	Kategori	Skor
Akarbosa (pembanding)	Inhibitor lemah	0.8856	Non karsinogenik	0.9670	IV	0.6165
Glukomoringin isotiosianat (penciri)	Inhibitor lemah	0.9011	Non karsinogenik	0.8419	III	0.6886
Epikatekin	Inhibitor lemah	0.9781	Non karsinogenik	0.945	II	0.7348
Katekin	Inhibitor lemah	0.9781	Non karsinogenik	0.945	II	0.7348
Kaempferol	Inhibitor lemah	0.9795	Non karsinogenik	0.9363	II	0.6238
Kaempferol-3-O-glukosida	Inhibitor lemah	0.9813	Non karsinogenik	0.9589	III	0.4045
Kaempferol-3-O-a-ramnosida	Inhibitor lemah	0.9846	Non karsinogenik	0.9461	III	0.5184
Kuersetin	Inhibitor lemah	0.9781	Non karsinogenik	0.945	II	0.7348
Kuersetin-3-O-beta-D-glukopoiranosida	Inhibitor lemah	0.9704	Non karsinogenik	0.9513	III	0.4343
Kuersetin-3-glukosida	Inhibitor lemah	0.9813	Non karsinogenik	0.9589	III	0.4045
Asam kriptoklorogenik	Inhibitor lemah	0.9862	Non karsinogenik	0.9341	III	0.775

Tabel 6. Inhibisi dan IC<sub>50</sub> akarbosa, ekstrak dan nanopartikel flavonoid daun kelor

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (ppm)
Ekstrak flavonoid daun kelor	800	21.96	5.84 x 10 <sup>3</sup>
	1200	28.49	
	1600	32.02	
	2000	34.50	
	2400	37.78	
Nanopartikel flavonoid daun kelor	0.8	25.04	1.69 x 10 <sup>1</sup>
	4	36.31	
	8	46.32	
	40	56.96	
	80	63.85	
Akarbosa	0.1	33.39	3.19 x 10 <sup>-1</sup>
	0.5	56.62	
	1	66.78	
	5	85.49	
	10	90.32	

yang stabil (Chairunnisa dan Runadi 2016). Energi afinitas akan berbanding lurus dengan konstanta inhibisi (Ki), nilai Ki yang semakin rendah menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi (Pratama 2015). Keempat ligan uji tersebut serta ligan pembanding akarbosa memiliki potensi inhibisi terbaik yang ditandai dengan nilai Ki yang lebih rendah diantara ligan yang lainnya. Hal ini disebabkan adanya ikatan hidrogen antara akarbosa dengan residu triad katalitik Asp542, sedangkan keempat ligan uji membentuk ikatan hidrogen pada residu triad katalitik Asp443. Farhan (2019) menunjukkan kondisi yang sama dimana ligan yang berinteraksi secara hidrogen dengan residu triad katalitik memiliki energi afinitas rendah sehingga memiliki potensi inhibisi yang baik. Selain itu, nilai energi afinitas juga dipengaruhi oleh jumlah ikatan hidrogen serta ikatan hidrofobik. Jeniossa (2018) menyatakan semakin banyak ikatan hidrogen maka nilai energi afinitas akan semakin negatif sehingga interaksi lebih stabil. Stabilitas kompleks ligan-reseptor juga dipengaruhi oleh interaksi residu asam amino secara hidrofobik (Patil *et al.* 2010).

Keseluruhan ligan uji yang lolos penapisan virtual kemudian dilakukan uji bioavailabilitas dengan menggunakan parameter pada aturan Lipinski, untuk memastikan ligan

berada pada tingkat absorpsi dan permeabilitas ligan yang baik (Lipinski *et al.* 2012). Ligan yang memenuhi aturan Lipinski adalah glukomoringin isotiosianat sebagai ligan pencari, epikatekin, katekin, kaempferol dan kuersetin (Tabel 3). Akarbosa tidak memenuhi aturan Lipinski yang menunjukkan tingkat permeabilitas atau permeasi yang rendah dalam tubuh Farhan (2019) menyimpulkan bahwa akarbosa tidak memenuhi aturan Lipinski disebabkan karena target dari akarbosa adalah  $\alpha$ -glukosidase pada permukaan saluran pencernaan tidak masuk ke dalam sel. Hal tersebut menyebabkan akarbosa dapat bekerja sebagai obat meskipun tingkat permeabilitas atau permeasinya rendah.

Nilai bioaktivitas ligan juga diuji dan bioaktivitasnya digolongkan menjadi tiga kategori, diantaranya aktif (>0.00), cukup aktif (-0.50-0.00), dan tidak aktif (<-0.50) (Khan *et al.* 2013). Semua ligan pada setiap parameter berada pada kategori cukup aktif sampai aktif sehingga memiliki bioaktivitas yang baik (Tabel 4). Ligan dengan bioaktivitas yang baik memiliki aksi farmakologis serta potensi terhadap target biologis suatu obat berupa protein, seperti enzim, kanal ion atau reseptor (Ochieng *et al.* 2017). Senyawa flavonoid dapat menghambat reseptor tirosin kinase yang berperan dalam kanker payudara, reseptor



SARS-CoV 3CL protease yang berperan dalam virus SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*), dan reseptor  $\alpha$ -glukosidase yang berperan dalam diabetes mellitus (Sohretoglu dan Sari 2019; Fleming et al. 2020; Jo et al. 2020).

Ligan yang lolos uji bioavailabilitas kemudian dilanjutkan uji toksisitas dengan parameter inhibisi *Human Ether-A-Go-Go Related Gene* (hERG), karsinogenisitas, dan toksisitas oral akut. Semua ligan merupakan inhibitor lemah terhadap hERG dan termasuk non-karsinogenik (Tabel 5). Cincin aromatik pada senyawa flavonoid merupakan struktur yang paling berperan dalam inhibisi terhadap hERG. Inhibitor lemah terhadap hERG menunjukkan senyawa tidak akan menyebabkan kardiotoxik (Babiaka et al. 2020). Sementara itu, Maharani et al. (2020) menyatakan flavonoid tidak bersifat karsinogenik karena memiliki antioksidan yang tinggi serta dapat memodulasi pencegahan karsinogenesis dengan melindungi kerusakan DNA dan menginduksi jalur perbaikannya.

Parameter toksisitas oral akut dinyatakan dalam *lethal dose 50%* ( $LD_{50}$ ), dengan nilai pada kategori I  $\leq 50$  mg/kg (sangat toksik), II  $\leq 500$  mg/kg (cukup toksik), III  $\leq 5000$  mg/kg (sedikit toksik) dan IV  $> 5000$  mg/kg (tidak toksik) (Guan et al. 2018). Akarbosa tergolong tidak toksik sedangkan ligan uji lainnya tergolong cukup toksik dan sedikit toksik (Tabel 5). Senyawa yang memiliki potensi sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase diuji secara *in vitro* dan *in vivo* dan selanjutnya melewati uji klinis untuk memastikan bahwa aplikasi obat ini tidak berpotensi toksik atau bahaya bagi pasien.

### **Inhibisi $\alpha$ -Glukosidase Flavonoid Daun Kelor *In vitro***

Ekstrak flavonoid dibuat dalam sediaan nanopartikel menggunakan metode gelasi ionik dengan kitosan dan natrium tripolifosfat sehingga menghasilkan nanopartikel dengan ukuran partikel 264.2 nm, indeks polidispersitas 0.433 dan efisiensi penjerapan 74% (Isnanto 2020). Nanopartikel tersebut telah memenuhi syarat dalam sistem penghantaran obat karena ukurannya kurang dari 300nm (Ram et al.

2006). Indeks polidispersitasnya dapat diterima karena bernilai antara 0-0.5 yang menunjukkan sistem dispersi lebih stabil untuk jangka panjang dan memiliki homogenitas yang tinggi (Prasetyo et al. 2015). Efisiensi penjerapannya juga menunjukkan nanopartikel yang dibuat memiliki kapasitas penjerapan zat aktif yang baik karena memiliki nilai lebih dari 60% (Gredi et al. 2017).

Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase dilihat berdasarkan perhitungan %inhibisi sehingga didapatkan nilai  $IC_{50}$ . Semakin kecil nilai  $IC_{50}$ , aktivitas inhibisinya semakin tinggi (Elmaniar dan Muhtadi 2017). Persentase inhibisi ekstrak flavonoid daun kelor, nanopartikel flavonoid daun kelor dan akarbosa meningkat sesuai peningkatan konsentrasi karena pada konsentrasi tinggi terdapat lebih banyak metabolit sekunder, dalam hal ini flavonoid (Tabel 6) (Mataputuna et al. 2013).

Nilai  $IC_{50}$  ekstrak flavonoid daun kelor sebesar  $5.84 \times 10^3$  ppm (Tabel 6). Ademiluyi et al. (2018) melaporkan ekstrak daun kelor menghambat  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $5.13 \times 10^1$  ppm. Perbedaan hasil ini disebabkan oleh komponen aktif berupa metabolit sekunder yang berperan dalam inhibisi  $\alpha$ -glukosidase. Sementara itu, nilai  $IC_{50}$  nanopartikel flavonoid daun kelor sebesar  $1.59 \times 10^1$  ppm (Tabel 6). Hasil ini sesuai dengan penelitian Tambunan et al. (2018) pembuatan nanopartikel meningkatkan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase meskipun tidak signifikan. Rawat et al. (2020) menyatakan teknologi nanopartikel dapat meningkatkan luas permukaan sehingga absorpsi dan kelarutan meningkat. Akarbosa sebagai ligan pembanding menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $3.19 \times 10^{-1}$  ppm (Tabel 6). Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Sumantrapura (2019) sebesar  $3.11 \times 10^{-1}$  ppm. Aktivitas inhibisi akarbosa yang tinggi disebabkan karena akarbosa merupakan senyawa murni sedangkan sampel uji berupa ekstrak sehingga terdapat lebih dari satu senyawa inhibitor yang menyebabkan daya inhibisi lebih rendah (Apriani 2012).

Flavonoid daun kelor berpotensi menghambat  $\alpha$ -glukosidase dengan tipe penghambatan kompetitif secara *in silico*. Potensi inhibisi  $\alpha$ -glukosidase terbaik

ditunjukkan oleh ligan asam kriptoklorogenik dengan nilai  $\Delta G$  dan  $K_i$  sebesar -8.5 kkal/mol dan 0.5788  $\mu\text{M}$ . Aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase flavonoid daun kelor dalam sediaan ekstrak tergolong tidak aktif, sedangkan dalam sediaan nanopartikel tergolong aktif secara *in vitro* dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  secara berturut-turut sebesar  $5.84 \times 10^3$  ppm dan  $1.59 \times 10^1$  ppm. Hal ini menunjukkan pembuatan nanopartikel dapat meningkatkan aktivitas inhibisi  $\alpha$ -glukosidase jika dibandingkan dengan akar bosa yang nilai  $\text{IC}_{50}$  lebih rendah, yaitu sebesar  $3.19 \times 10^{-1}$  ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- [RISKESDAS] Riset Kesehatan Dasar. 2018. Hasil Utama Riskesdas 2018. Jakarta (ID): Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI.
- Ademiluyi A, Aladeselu HO, Oboh G, Boligon A. 2018. Drying alters the phenolic constituents, antioxidant properties,  $\alpha$ -amylase, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory properties of Moringa (*Moringa oleifera*) leaf. *Food Science and Nutrition*. 6(1): 1-11.
- Altay M. 2022. Acarbose is again on the stage. *World J Diabetes*. 13(1):1-4.
- Alssema M, Ruijgrok C, Blaak EE, Egli L, Dussort P, Vinoy S, Dekker JM, Denise Robertson M. 2021. Effects of alpha-glucosidase-inhibiting drugs on acute postprandial glucose and insulin responses: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Diabetes*. 11(1): 11.
- American Diabetes Association. 2018. 6. Glycemic targets: standards of medical care in diabetes. *Diabetes Care* 41, S55–S64.
- Apriani R. 2012. Uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase dan identifikasi golongan senyawa dari fraksi yang aktif pada ekstrak kulit batang *Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Ness) Blume [skripsi]. Depok (ID): Universitas Indonesia.
- Arora SD, Onsare GJ, Kaur H. 2013. Bioprospecting of moringa (*Moringaceae*) microbiological perspective. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 1(6): 193-215.
- Babiaka SB, Nia R, Abuga KO, Mbah JA, Nziko VP, Paper DH, Kang F. 2020. Antioxidant potential of flavonoid glycosides from *Manniophyton fulvum* Mull. (Euphorbiaceae): Identification and molecular modeling. *Scientific African* 8. 4(23): 1-7.
- Chairunnisa A, Runadi D. 2016. Aktivitas kalkan terhadap reseptor estrogen  $\beta$  (ER- $\beta$ ) sebagai antikanker payudara secara *in vitro* dan *in silico*: review. *Farmaka*. 14(2): 1-8.
- Chen P, Zhang Q, Dang H, Liu X, Tian F, Zhao J, Chen Y, Zhang H, Chen W. 2014. Screening for potential new probiotic based on probiotic properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity. *Food Control*. 35(1): 65-72.
- DiNicolantonio JJ, Bhutani J, O'Keefe JH. 2015. Acarbose: safe and effective for lowering postprandial hyperglycaemia and improving cardiovascular outcomes. *Open heart*. 2(1): e000327.
- Elmaniar R, Muhtadi. 2017. Aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase oleh ekstrak etanol ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) [skripsi]. Yogyakarta (ID): Universitas Ahmad Dahlan.
- Farhan M. 2019. Penambatan molekuler senyawa aktif okra (*Abelmoschus esculentus* L.) pada enzim  $\alpha$ -glukosidase sebagai kandidat obat antidiabetes melitus [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Fleming VJ, Saragih M, Tambunan USF. 2020. Utilization of flavonoids compounds as HER2 tyrosine kinase inhibitor in breast cancer using fragment-based drug design. *Key Engineering Material*. 840(1): 230-236.
- Gredi J, Taurina W, Andrie M. 2017. Efektivitas analgetik nanopartikel kitosan-ekstrak etanol daun pepaya (*Carica Papaya* L.) pada mencit putih jantan (*Mus Mucculus*). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 15(2): 228-234.

- Guan L, Yang H, Cai Y, Sun L, Di P, Li W, Liu G, Tang Y. 2018. ADMET-score a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *Medicinal Chemistry Communication*. 10(1): 148-157.
- Gufron M. 2013. Nanoenkapsulasi metformin dengan nanokitosan sebagai obat antidiabetes tipe II [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- International Diabetes Federation Guideline Development Group. 2014. Guideline for management of postmeal glucose in diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 103(2):256-68.
- Isnanto A. 2020. Aktivitas nanopartikel ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* L.) sebagai antibiofilm [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor, siap terbit.
- Jeniossa JA. 2018. Penambatan molekuler senyawa kurkuminoid, xanthorizol,  $\beta$ -elemenon, zedoaron terhadap aktivitas inhibisi enzim dipeptidil peptidase IV [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Jo S, Kim S, Shin DH, Kim MS. 2020. Inhibition of SARS-CoV 3CL protease by flavonoids. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal in Chemistry*. 35(1): 145-151.
- Khan SA, Kumar S, Maqsood AM. 2013. Virtual screening of molecular properties and bioactivity score of boswellic acid derivatives in search of potent anti-inflammatory lead molecule. *International Journal of Interdisciplinary Multidisciplinary Studies*. 1(1): 8-12.
- Lin M, Zhang J, Chen X. 2018. Bioactive flavonoids in *Moringa oleifera* and their health-promoting properties. *Journal of Functional Foods*. 47(1): 469-479.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. 2012. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development setting. *Advanced Drug Delivery Review*. 64(1): 4-17.
- Maharani MG, Lestrai SR, Luklati. 2020. Molecular docking studies flavonoid (quercetin, isoquercetin, and kkaempferol) of single bulb garlic (*Allium sativum*) to inhibit lanosterol synthase as anti-hypercholesterol therapeutic strategies. *American Institute of Physics*. 2231(1): 1-6.
- Mataputuna SP, Roronga JA, Pontoha J. 2013. Aktivitas inhibitor  $\alpha$ -glukosidase ekstrak kulit batang matoa (*Pometia pinnata* Spp.) sebagai agen antihiperlikemik. *Jurnal MIPA Unstrat Online*. 2(2): 119-123.
- Mutaqqin FZ, Ismail H, Muhammad HN. 2019. Studi *molecular docking, molecular dynamic* dan prediksi toksisitas senyawa turunan alkaloid naftiridin sebagai inhibitor protein kasein kinase 2- $\alpha$  pada kanker leukemia. *Pharmacoscript*. 2(1): 49-64.
- Ochieng PJ, Sumaryada T, Okun D. 2017. Molecular docking and pharmacokinetic of herbal derivatives as maltase-glucoamylase inhibitor. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 10(9): 392-398.
- Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, Varma AK. 2010. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing. *Plos One*. 5(8): e12029.
- Perez CR, Loper BG, Mendiola JA, Pine RQ, Carretero AS, Ibanez E. 2016. Optimization of microwave-assisted extraction and pressurized liquid extraction of phenolic compound from *Moringa oleifera* leaves by multiresponse surface methodology. *Electrophoresis*. 0(0): 1-9.
- Pitriya IA, Nurdin, Sabang SM. 2017. Efek buah kelor (*Moringa oleifera*) terhadap penurunan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*). *J.Akad. Kim*. 6(1): 35-42.
- Prasetyo YA, Husni P, Mita SR. 2015. Long circulation nanopartikel menggunakan polimer PLGA (Poly-Lactic-co-Glycolic Acid) dan poloxamer. *Farmaka*. 15(1):

237-247.

- Pratama R. 2015. Penambatan molekuler senyawa aktif temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan enzim COX-2 sebagai kandidat obat anti kanker payudara [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Ram B. Gupta, Uday B, Kompella. 2006. *Nanoparticle Technology for Drug Delivery*. New York (US): Taylor & Francis Group.
- Rawat M, Singh D, Saraf S. 2020. Nanocarriers: promising vehicle for bioactive drugs. *Journal of Biopharmaceutics Sciences*. 29(9): 1790-1798.
- Setiawan T. 2015. Studi molecular docking ekstrak kurkuminoid asal wonogiri sebagai inhibitor enzim DNA topoisomerase II [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sim L, Calvillo RQ, Sterchi EE, Nichols BL, Rose DR. 2008. Human intestinal maltase-glucoamylase: crystal structure of the n-terminal catalytic subunit and basis of inhibition and substrate specificity. *Journal of Molecular Biology*. 375(3): 782-792.
- Sohretoglu D, Sari S. 2019. Flavonoids as alpha-glucosidase inhibitors: mechanistic approaches merged with enzyme kinetic and molecular modelling. *Phytochemistry Reviews*. 1(1): 1-12.
- Song KM, Okuyama M, Nishimura M, Tagami T, Mori H, Kimura A. 2014. Aromatic residue on  $\beta \rightarrow \alpha$  loop 1 in the catalytic domain is important to the transglycosylation specificity of glycoside hydrolase family 31  $\alpha$ -glucosidase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 77(8): 1759-1765.
- Sugiwati S, Setiasih S, Afifah E. 2009. Antihyperglycemic activity of the mahkotadewa (*Phaleria macrocarpa* (scheff.) Boerl.) leaf extracts as an alpha glucosidase inhibitor. *Makara Journal of Health Research*. 13(2): 74-78.
- Sumantrapura MI. 2019. Aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase dan toksisitas ekstrak air dan ekstrak etanol daun sengon (*Parasrianthes falcataria* (L) Nielsen) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Tambunan RM, Rahmat D, Juliyanti WD. 2018. Aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase dan formulasi solid lipid nanoparticle mengandung ekstrak etanol 70% daun kumis kucing terstandar (*Orthosiphon stamineus* Benth.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 16(1): 45-48.
- Thilakarathna SH, Rupasinghe HP. 2013. Flavonoid bioavailability and attempts for bioavailability enhancement. *Nutrients*. 28(5): 3367-3387.
- Van de Laar FA, Lucassen PL, Akkermans RP, Van de Lisdonk EH, Rutten GE, Van Weel C. 2005. Alpha-glucosidase inhibitors for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005(2): CD003639.
- Williams FE. 2019. The efficacy of Moringa oleifera as a practical application for sustainable water treatment [tesis]. Adelaide (AT): University of Adelaide.