

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Daun Buas-Buas (*Premna Serratifolia*) sebagai Inhibitor α -Glukosidase

Dini Hadiarti

17/420345/SPA/00614

INTISARI

Telah dilakukan kajian senyawa aktif dari daun Buas-buas (*Premna serratifolia*) sebagai inhibitor α -glukosidase. Penelitian ini dilatarbelakangi tradisi masyarakat Kalimantan Barat yang mengkonsumsi daun *P. serratifolia* sebagai tonik, mengobati sakit kepala, sakit perut, diabetes, hipertensi, kesulitan bernafas, malaria, dan meningkatkan produksi ASI. Ekstrak daun *P. serratifolia* dapat menghambat α -glukosidase untuk menurunkan kadar glukosa dalam darah. Karena upaya untuk mengisolasi metabolit sekunder dari *P. serratifolia* sebagai inhibitor α -glukosidase belum dilakukan, maka diperlukan kajian untuk mengetahui senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas tersebut yang terbukti secara *in vitro* maupun *in silico*.

Daun *P. serratifolia* dikeringkan, dihaluskan, dan dimaserasi dengan etanol (p.a) selama 4 hari. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan heksana, etil asetat, dan air. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian ditentukan aktivitas inhibisi α -glukosidase, kandungan fitokimia, total kadar fenolik (TPC), flavonoid (TFC), dan steroid (TSC), serta dianalisis dengan spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Pengaruh TPC, TFC, TSC, dan gugus fungsi terhadap inhibisi α -glukosidase ditentukan dengan *Principal Component Analysis* (PCA) dan regresi *Partial Least Square* (PLS). Kromatografi kolom dan *Preparative High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC preparatif) digunakan untuk mengisolasi senyawa dari fraksi dengan inhibisi α -glukosidase terbaik. Senyawa aktif dari isolat diidentifikasi dengan menggunakan *Ultra High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive hybrid quadrupole-Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry* (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS). Interaksi α -glukosidase dan senyawa aktif dikaji dengan *molecular docking* menggunakan protein *N-terminal maltaseglucoamylase* (Kode PDB: 2QMJ), *C-terminal maltase-glucoamylase* (Kode PDB: 3TOP), dan *isomaltase* (Kode PDB: 3A4A).

Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol, fraksi heksana, etil asetat, dan air menunjukkan terdapat flavonoid, fenolik, dan saponin (steroid). Hasil uji *in vitro* memperlihatkan fraksi etil asetat mempunyai aktivitas inhibisi terbaik dengan IC_{50} yaitu 10900 ppm. PCA dan PLS menunjukkan TFC dan gugus $-C=O$ mempunyai koefisien standarisasi tertinggi sehingga mempunyai kontribusi terbesar untuk menghambat α -glukosidase. Uji inhibisi α -glukosidase terhadap subfraksi etil asetat diperoleh subfraksi F₁₂-F₁₄ dengan IC_{50} terkecil yaitu < 2000 ppm. Analisis UHPLC-Q-Orbitrap HRMS menunjukkan 9 flavonoid yang berhasil teridentifikasi yaitu *centaureidin*, *chrysin*, *glycitein*, *tricin*, *pectolinarigenin*, 3,5,4'-trimetoksi-

6,7-metilendioksiflavan, *kaempferide*, *syringetin*, dan *casticin*. Satu dari 9 flavonoid yang berhasil teridentifikasi, diperkirakan merupakan senyawa baru yaitu 3,5,4'-trimetoksi-6,7-metilendioksiflavan. *Molecular docking* antara *casticin* dan 2QMJ menghasilkan *binding energy* dan K_i terkecil -5,29 kkal/mol dan 131,54 μM dengan interaksi ikatan hidrogen pada ARG202, ASN207, THR205, ASP542, dan TYR214 serta interaksi hidropobik LEU473, THR204, dan LEU473. Interaksi *tricin* dengan 3TOP menghasilkan *binding energy* dan K_i sebesar -8,02 kkal/mol dan 0,34 μM melalui ikatan hidrogen dengan residu ASP1157, THR1586, HIS1584, dan ASP1279 serta interaksi hidropobik dengan TRP1355, TYR1251, PHE1559, TRP1418, TRP1523, HIS1584, ILE1315, dan ILE1280. Protein 3A4A berinteraksi ikatan hidrogen dengan *centaureidin* pada LYS373, ASN565, GLU562, dan LYS568 serta hidropobik dengan PRO567, LYS568, dan PHE494 menghasilkan *binding energy* dan K_i sebesar -8,02 kkal/mol dan 0,34 μM . *Casticin*, *tricin*, dan *centaureidin* merupakan flavonoid dengan aktivitas terbaik dalam inhibisi α -glukosidase.

Kata kunci: *Premna serratifolia*, α -glukosidase, flavonoid, *molecular docking*

Isolation and Identification of Active Compounds from Buas-Buas (*Premna Serratifolia*) Leaves as α -Glucosidase Inhibitor

Dini Hadiarti

17/420345/SPA/00614

ABSTRACT

A study of active compounds as a α -glucosidase inhibitor from Buas-Buas leaves (*Premna serratifolia*) has been conducted. The research is based on the tradition of the West Borneo community of consuming *P. serratifolia* leaves as tonic, to treat headache, colic, diabetes, hypertension, difficulty breathing, malaria, and to increase breastmilk production. *P. serratifolia* extract is able to inhibit α -glucosidase to decrease blood glucose levels. Because efforts in isolating secondary metabolites from *P. serratifolia* as α -glucosidase inhibitors have not been conducted, a study is needed to determine the compound responsible for this activity which will be proven by *in vitro* and *in silico*.

P. serratifolia leaves were dried, granulated, and macerated in ethanol (p.a) for 4 days. The obtained extract was fractioned in hexane, ethyl acetate, and water. All of the extracts were then determined of their α -glucosidase inhibition activity, phytochemical, total phenolic (TPC), total flavonoid (TFC), and total steroid (TSC), and analysed with Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. The effect of TPC, TFC, TSC, and functional groups on α -glucosidase inhibition activity were determined by Principal Component Analysis (PCA) and Partial Least Square (PLS) regression. Isolation of active compounds from the fraction had the smallest IC_{50} using column chromatography and Preparative High Pressure Liquid Chromatography (preparative HPLC). The active compounds from the isolate were analysed by using Ultra High Performance Liquid Chromatography-Q Exactive hybrid quadrupole-Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap HRMS). The interaction between α -glucosidase and active compounds was studied by molecular docking utilizing N-terminal maltase glucoamylase (PDB code: 2QMJ), C-terminal maltase-glucoamylase (PDB code: 3TOP), and isomaltase (PDB code: 3A4A).

The results of phytochemical screening show that there were flavonoids, phenolics, and saponins (steroids) in the ethanol extract, hexane, ethyl acetate, and water fraction. The results of *in vitro* test show that ethyl acetate fraction has the best inhibition with IC_{50} 10900 ppm. Based on PCA and PLS analyses, the highest standardization coefficient was shown by TFC and -C=O functional groups therefore they have the biggest contribution to inhibit α -glucosidase. F₁₂-F₁₄ subfractions from ethyl acetate fraction were performed the lowest IC_{50} (< 2000 ppm). The analysis of UHPLC-Q-Orbitrap HRMS show that nine flavonoids were detected which are centaureidin, chrysin, pectolinarigenin, glycitein, kaempferide,