

KADAR TOTAL FLAVONOID DAN AKTIVITAS ANTIDIABETES DAUN *Gnetum gnemon* L.: STUDI *IN SILICO*

Nurriška Kurniawati*, Lintang Nur Hayati, Susilowati, Nurul Hidayatul Mar'ah

Prodi Farmasi, STIKES Bhakti Husada Mulia, Madiun, Jawa Timur, Indonesia

*Email: nurrizkak@gmail.com

Received: 05/02/2025, Accepted: 19/02/2025, Published: 24/02/2025

ABSTRAK

Gnetum gnemon L. adalah herbal yang banyak digunakan di Indonesia, dikenal karena kandungan metabolit sekundernya seperti flavonoid, terpenoid, stilbenoid, dan polifenol. Meskipun berbagai penelitian telah menunjukkan potensi senyawa bioaktif dalam melinjo, studi yang mengeksplorasi pengaruh tahap kematangan daun terhadap kandungan flavonoid serta evaluasi mekanisme molekulernya terhadap protein target diabetes masih jarang dilakukan. Penelitian ini mengevaluasi total kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol 70% daun melinjo (muda dan tua) menggunakan spektrofotometri UV-Vis, serta afinitas senyawa terhadap target protein diabetes (GLUT1, PPAR- γ , glukokinase) melalui analisis *in silico*. Hasil menunjukkan bahwa daun tua memiliki konsentrasi flavonoid sebesar 1,42%, lebih tinggi dibandingkan daun muda yang hanya 1,27%, dengan perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Analisis *in silico* mengungkapkan bahwa senyawa gnetonoside D dan gnetin C menunjukkan energi pengikatan tertinggi terhadap target protein diabetes (-10,13 dan -10 kkal/mol), melampaui obat kontrol positif gliburida dan luteolin. Temuan ini menegaskan potensi *G. gnemon* L. sebagai agen anti-diabetes alami. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi efektivitas senyawa ini melalui uji *in vivo* dan uji klinis, serta mengeksplorasi pengembangan formulasi obat berbasis flavonoid. Selain itu, meskipun hasil *in silico* menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas penghambatan lebih tinggi daripada obat kontrol, uji farmakokinetik dan farmakodinamik diperlukan untuk memastikan efektivitasnya dibandingkan obat konvensional dalam pengobatan diabetes.

Kata kunci: *Gnetum gnemon* L., Flavonoid, anti-diabetes, *in silico*, *in vitro*

ABSTRACT

Gnetum gnemon L. is a herb widely used in Indonesia, known for its secondary metabolites such as flavonoids, terpenoids, stilbenoids, and polyphenols. Although various studies have demonstrated the potential of bioactive compounds in gnemon, research exploring the influence of leaf maturity stages on flavonoid content and evaluating their molecular mechanisms against diabetes target proteins remains scarce. This study evaluates the total flavonoid content in 70% ethanol extracts of gnemon leaves (young and mature) using UV-Vis spectrophotometry, as well as the compounds' affinity for diabetes target proteins (GLUT1, PPAR- γ , glucokinase) through *in silico* analysis. The results revealed that mature leaves have a flavonoid concentration of 1.42%, significantly higher than young leaves, which contain only 1.27% ($p < 0.05$). *In silico* analysis showed that gnetonoside D and gnetin C exhibited the highest binding energies to diabetes target proteins (-10.13 and -10 kcal/mol), surpassing the positive control drugs

gliburide and luteolin. These findings underscore the potential of gnemon as a natural anti-diabetic agent. Further research is needed to confirm the effectiveness of these compounds through in vivo and clinical trials and to explore the development of flavonoid-based drug formulations. Additionally, although the in silico results indicate higher inhibitory activity of flavonoid compounds compared to control drugs, pharmacokinetic and pharmacodynamic studies are required to ensure their efficacy compared to conventional drugs in diabetes treatment.

Keywords : *Gnetum gnemon L., Flavonoid, anti-diabetic, in silico, in vitro*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia. Kondisi ini disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, atau kombinasi keduanya. DM telah menjadi masalah kesehatan global dengan prevalensi yang terus meningkat. Peningkatan ini terutama disebabkan oleh gaya hidup modern yang tidak sehat, pola makan tinggi gula, dan kurangnya aktivitas fisik (Ligita *et al.*, 2019). Menurut prediksi WHO, jumlah penderita diabetes tipe 2 diperkirakan akan meningkat hingga mencapai 366 juta jiwa pada tahun 2030 (Avula *et al.*, 2023).

Di Indonesia, diabetes juga menjadi permasalahan kesehatan yang signifikan. Data tahun 2021 menunjukkan bahwa sekitar 10,8% populasi dewasa Indonesia, atau sekitar 19,5 juta jiwa hidup dengan diabetes. Angka ini diproyeksikan terus meningkat hingga mencapai, 16,09% pada tahun 2045 (Wahidin *et al.*, 2024). Komplikasi jangka panjang diabetes, seperti kardiovaskular, nefropati, neuropati, dan

retinopati, tidak hanya menurunkan kualitas hidup pasien, tetapi juga meningkatkan beban ekonomi pada sistem kesehatan masyarakat (Safitri *et al.*, 2021). Oleh karena itu, pengembangan terapi baru untuk pengendalian diabetes sangat penting.

Saat ini, pengobatan diabetes mellitus dengan obat-obat sintetis seperti sulfonilurea, metformin, dan inhibitor SGLT-2. Meskipun efektif, obat-obatan ini sering dikaitkan dengan efek samping seperti hipoglikemia, gangguan pencernaan, atau toksisitas jangka panjang (Cicuh *et al.*, 2022; Muthoharoh *et al.*, 2020). Oleh karena itu, perhatian terhadap sumber alami sebagai agen antidiabetes semakin meningkat. Bahan alami, terutama senyawa bioaktif dari tanaman, telah terbukti memiliki potensi besar dalam pengelolaan diabetes melalui mekanisme seperti meningkatkan sensitivitas insulin, menghambat enzim pengatur metabolisme glukosa, atau meningkatkan fungsi sel beta pancreas (Kumar *et al.*, 2011; Patel *et al.*, 2012).

Gnetum gnemon L., yang dikenal sebagai melinjo, merupakan herbal yang

telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional di Indonesia. Pemanfaatannya didasarkan pada kandungan metabolit sekundernya terutama polifenol seperti flavonoid dan stilbenoid, yang memiliki berbagai manfaat kesehatan, termasuk aktivitas antidiabetes, antioksidan, dan antiinflamasi (Ahmat *et al.*, 2022; Fadhiilah *et al.*, 2023). Senyawa flavonoid dalam melinjo memiliki potensi antidiabetes melalui penghambatan enzim α -amilase, α -glukosidase, dan ACE, yang berperan dalam metabolisme glukosa dan pengaturan tekanan darah. Penelitian menunjukkan bahwa senyawa seperti gnetol, gnetin C, dan resveratrol memiliki aktivitas penghambatan yang signifikan, mendukung pengelolaan diabetes melalui mekanisme pengurangan penyerapan glukosa, peningkatan sensitivitas insulin, dan modulasi jalur molekuler terkait (Remsburg *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2005). Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak melinjo memiliki aktivitas penghambatan enzim pengubah angiotensin (ACE) yang tinggi, yang berperan dalam pengaturan tekanan darah dan kadar glukosa darah (Noviyanti *et al.*, 2020). Beberapa senyawa polifenol utama yang telah diisolasi dari melinjo meliputi gnetin C, gnemonoside, gnetol, resveratrol, dan gnetoflavanol.

Total flavonoid dihitung menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis, yang merupakan metode analisis kuantitatif yang akurat dan dapat diandalkan. Salah satu bagian tanaman yang sering digunakan adalah daunnya, yang tersedia dalam dua tahap perkembangan, yaitu daun muda dan daun tua. Berdasarkan studi sebelumnya, terdapat perbedaan signifikan dalam kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan antara daun muda dan daun tua, di mana daun tua cenderung memiliki konsentrasi flavonoid total yang lebih tinggi yaitu 0,1623% dan 0,1263% (Harahap *et al.*, 2015; Maleke *et al.*, 2024; Tehubijuluw *et al.*, 2019).

Pendekatan *in silico* menggunakan pemodelan molekuler untuk mengevaluasi interaksi potensial senyawa aktif dengan target protein, memberikan wawasan awal yang penting mengenai mekanisme aksi senyawa tersebut. Salah satu strategi molekuler untuk memahami dan mengatasi diabetes adalah melalui analisis target protein yang berperan dalam regulasi metabolisme glukosa, seperti GLUT1 (*Glucose Transporter 1*), PPAR- γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma*), dan glukokinase. GLUT1 berfungsi sebagai transporter glukosa utama yang memfasilitasi masuknya glukosa ke dalam sel, mendukung

kebutuhan energi seluler. PPAR- γ , sebagai faktor transkripsi, mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme lipid, glukosa, dan diferensiasi adiposit, berkontribusi pada peningkatan sensitivitas insulin. Sementara itu, glukokinase adalah enzim kunci dalam metabolisme glukosa yang berperan dalam fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat, baik di hati maupun pankreas, sehingga mendukung penyimpanan dan penggunaan glukosa (B  nardeau *et al.*, 2009; Hinklin *et al.*, 2014; Kapoor *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa metabolit sekunder dalam melinjo memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk aktivitas antioksidan dan antiplasmodial (Dutta *et al.*, 2018; Savitri *et al.*, 2023). Namun, kajian mendalam terkait total kandungan flavonoid dan mekanisme kerja anti-diabetes dari senyawa ini, khususnya melalui pendekatan *in silico* dan *in vitro*, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi total kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol 70% daun melinjo dari berbagai tahap kematangan. Selain itu, studi ini juga menggunakan pemodelan molekuler untuk menilai afinitas pengikatan senyawa polifenolik terisolasi terhadap target protein utama yang berperan dalam pengaturan

glukosa, seperti GLUT1, PPAR- γ , dan glukokinase.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi daun segar melinjo. Daun muda memiliki karakteristik morfologi berupa warna hijau muda hingga kekuningan, permukaan yang halus, ukuran yang relatif lebih kecil, serta tekstur yang lembut dan lentur. Sementara itu, daun tua memiliki warna hijau tua yang lebih pekat, permukaan yang sedikit kasar dan mengilap, serta ukuran yang lebih besar dan mencapai tahap perkembangan maksimal. Seluruh bahan daun melinjo yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari wilayah Ponorogo, Indonesia. Setiap sampel memiliki berat 3 kg dan dikeringkan di bawah sinar matahari tidak langsung sebelum diproses lebih lanjut. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 70%, sementara reagen yang digunakan mencakup magnesium (Mg), asam klorida (HCl), aluminium klorida (AlCl₃) 10%, asam asetat 5%, dan kuersetin sebagai standar. Perangkat keras yang digunakan mencakup evaporator putar, bak air, dan spektrofotometer UV-Vis. (Shimadzu UV-1800). Untuk studi *in silico*, penelitian ini menggunakan Acer A514-55G 12th Gen

dengan prosesor Intel(R) Core(TM) i7-1255U 1.70 GHz dan RAM 16 Gb (Intel Core i7 Gen 11) dan perangkat lunak AutoDock 4.2.7 untuk pemodelan molekuler. Ligan yang diuji adalah gnetol, gnetin C, gnemonoside D, resveratrol, dan gnetoflavanol, dengan gliburida dan luteolin sebagai kontrol positif. Target protein yang digunakan adalah GLUT1 (PDB ID: 5EQG), PPAR- γ (PDB ID: 3G9E), dan glukokinase (PDB ID: 4RCH).

Jalur Penelitian

Penelitian dibagi menjadi dua tahap utama: analisis kandungan flavonoid dan analisis *in silico* untuk memprediksi interaksi molekuler dan profil farmakokinetik.

1. Analisis Total Flavonoid

Daun melinjo digiling menjadi serbuk halus dan diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan etanol 70% selama 3×24 jam pada suhu kamar. Filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dikonsentrasikan menggunakan *water bath* pada suhu 40°C untuk memperoleh ekstrak kental. Kandungan flavonoid dianalisis secara kualitatif dengan uji warna. Sebanyak 0,5 gram ditambahkan dengan 10 ml air panas supaya terjadi pelarutan, lalu ditambahkan 0,25 gram magnesium (Mg), setelah itu ditetaskan HCl sebanyak 5 tetes.

Analisis kuantitatif menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Dibuat larutan baku kuersetin 1000 ppm yang digunakan sebagai standar untuk membuat kurva kalibrasi. Panjang gelombang maksimum diukur pada rentang 370-450 nm. Pembuatan seri kadar 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm dari konsentrasi 100 ppm, setiap larutan dipipet 1 ml, kemudian ditambahkan 1 ml AlCl₃ 10% dan 8 ml asam asetat 5%. Absorbansi kemudian ditentukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh. Penetapan absorbansi ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan melarutkan 10 mg ekstrak dalam 10 ml etanol p.a. Setelah itu, pipet 1 ml dari larutan ini dan tambahkan 1 ml larutan AlCl₃ 10% serta 8 ml asam asetat 5% (Chang *et al.*, 2020).

2. Analisis *In Silico*

Docking molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock 4.2.7, yang merupakan salah satu perangkat lunak yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara ligan dan protein. Teknik ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi interaksi ligan dengan target protein berdasarkan posisi dan orientasi optimalnya di situs aktif protein. Struktur ligan dioptimalkan terlebih dahulu untuk

memastikan konformasi energi terendah. Target protein yang digunakan adalah GLUT1 (PDB ID: 5EQG), PPAR- γ (PDB ID: 3G9E), dan glukokinase (PDB ID: 4RCH), yang dipersiapkan dengan menghilangkan molekul air dan ligan tidak esensial dari struktur PDB mereka. Ligan-ligan tersebut kemudian ditambatkan ke situs aktif masing-masing target protein, dan nilai *binding energy* dihitung sebagai indikator afinitas. Ligan dengan energi pengikatan terendah dianggap memiliki potensi afinitas terbaik terhadap protein target. Untuk memastikan kualitas hasil, interaksi antara ligan dan protein divisualisasikan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer (Baroroh *et al.*, 2023).

Analisis Data

Kandungan flavonoid dalam ekstrak daun melinjo dianalisis menggunakan kurva kalibrasi kuersetin untuk menentukan konsentrasi flavonoid dalam sampel. Data hasil pengukuran dianalisis menggunakan uji t-test untuk membandingkan kadar flavonoid antara daun muda dan daun tua. Uji statistik ini digunakan untuk menentukan signifikansi perbedaan antara kedua sampel, dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$. Hasil *docking* dievaluasi berdasarkan nilai energi pengikatan (*binding energy*) dan interaksi

dengan residu kunci pada situs aktif protein target.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi Tanaman

Tanaman melinjo telah melalui proses determinasi untuk memastikan keaslian identitas sampel yang akan digunakan dalam penelitian. Berdasarkan surat determinasi No. TL.02.04/D.XI.6/11535.675/2024, hasil determinasi mengonfirmasi bahwa sampel daun melinjo yang digunakan berasal dari spesies *Gnetum gnemon* L., yang termasuk dalam famili *Gnetaceae*.

2. Preparasi Sampel

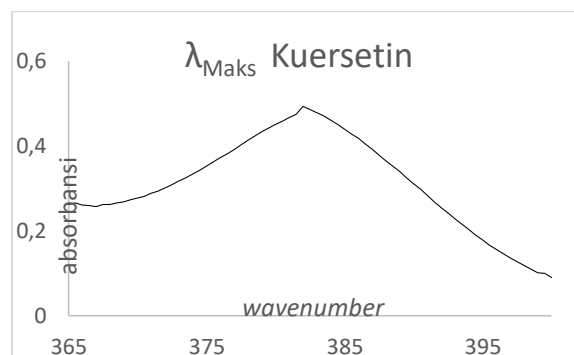
Daun melinjo dipilih dan disortir untuk memisahkan bagian-bagian yang tidak diinginkan, seperti daun yang busuk atau terinfeksi hama. Setelah itu, daun dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan tingkat kematangannya. Selanjutnya, daun dikeringkan, dihaluskan, dan diekstraksi menggunakan etanol 70%. Proses pengeringan menghasilkan bobot serbuk kering sebesar 500 gram untuk daun muda dan 600 gram untuk daun tua. Persentase perolehan kembali dari bobot basah ke bobot kering adalah 17,86% untuk daun muda dan 20% untuk daun tua. Proses ini menunjukkan bahwa daun tua cenderung memberikan perolehan kembali yang lebih tinggi dibandingkan daun muda setelah

pengeringan. Pemilihan etanol 70% sebagai pelarut didasarkan pada sifatnya yang polar, sehingga mampu mengekstraksi berbagai jenis senyawa, baik polar maupun nonpolar. Kepolaran pelarut akan berkurang seiring dengan meningkatnya konsentrasi etanol. Pelarut dengan tingkat kepolaran yang sama dapat menarik dan melarutkan senyawa tertentu (Surya & Luhurningtyas, 2021). Ekstraksi daun melinjo muda menghasilkan ekstrak kental dengan berat 83,3 gram dan rendemen sebesar 16,66%. Sementara itu, ekstraksi daun melinjo tua menghasilkan ekstrak kental seberat 61,5 gram dengan rendemen sebesar 10,25%. Analisis kualitatif senyawa flavonoid ekstrak daun melinjo dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna yakni magnesium (Mg) dan HCl pekat menghasilkan warna merah yang menandakan positif mengandung flavonoid (Asmorowati, 2019) tertera pada Tabel 1.

Penentuan kandungan total flavonoid dilakukan menggunakan metode kolorimetri, di mana sampel direaksikan dengan $AlCl_3$ dalam medium asam.

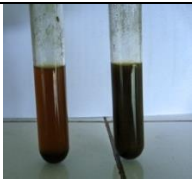
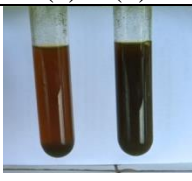
Penambahan $AlCl_3$ menyebabkan terbentuknya kompleks antara aluminium klorida dan kuersetin, yang mengakibatkan pergeseran panjang gelombang ke wilayah visibel (tampak), ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi lebih kuning, grafik

serapan maksimum ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Panjang gelombang maksimum kuersetin

Tabel 1. Hasil Uji Warna Flavonoid

Ekstrak Daun Melinjo	Pereaksi	Hasil	Gambar	Keterangan
Muda	(a)Mg + HCl (b) Aquadest	Positif		(a)Kontrol + : Berubah warna dari hijau menjadi merah. (b)Kontrol - : Tidak berubah warna
Tua	(a)Mg + HCl (b) Aquadest	Positif		(a)Kontrol + : Berubah warna dari hijau menjadi merah. (b)Kontrol - : Tidak berubah warna

Sementara itu, asam asetat ditambahkan untuk menjaga panjang gelombang tetap berada pada wilayah visibel (Hani A. & Novena Y.L, 2019). Berdasarkan hasil analisis, kadar total flavonoid pada ekstrak daun melinjo muda adalah 1,27%, sedangkan pada ekstrak daun melinjo tua adalah 1,42%, sebagaimana tercantum dalam Tabel 2. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak daun melinjo tua memiliki kadar total flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun melinjo muda. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh tahap perkembangan daun, di mana daun tua lebih aktif mengakumulasi metabolit sekunder seperti flavonoid untuk perlindungan terhadap stres oksidatif dan faktor lingkungan, sementara daun muda lebih terfokus pada sintesis metabolit primer

untuk mendukung pertumbuhan (Winkel-Shirley, 2002). Selain itu, faktor lingkungan seperti intensitas cahaya, ketersediaan nutrisi, dan paparan terhadap stres juga berperan dalam meningkatkan kadar flavonoid pada daun tua. Flavonoid juga diketahui berfungsi sebagai pelindung alami terhadap radiasi UV dan tekanan lingkungan, yang lebih sering dialami oleh daun tua selama masa hidupnya (Zhao *et al.*, 2005).

Tabel 2. Kadar Sampel Ekstrak Daun Melinjo

Sampel	Abs	Konsentrasi (µg/ml)	Kadar (%)
Daun Muda	0,676 ± 0,0017	12,701	1,27
Daun Tua	0,779 ± 0,0031	14,264	1,42

3. Analisis *In Silico*

Lima senyawa polifenol, yaitu flavonoid dan stilbenoid, yakni gnetin C, gnetol, gnemonoside D, gnetoflavanol B, serta resveratrol, telah berhasil diisolasi dari tanaman melinjo (Kato *et al.*, 2009). Penelitian *in silico* terhadap beberapa senyawa ini telah dilakukan untuk mengevaluasi potensi mengatasi penyakit tidak menular seperti kanker dan hipertensi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki prospek sebagai agen terapeutik (Kenyori & Febriansah, 2024; Triputra & Yanuar, 2018).

Proses *docking* dilakukan pada tiga target protein penting dalam metabolisme glukosa, yaitu target protein GLUT1 (4RCH), PPAR- γ (3G9E), dan glukokinase (5EQG). Sebelum proses *docking* dilakukan, validasi *docking* terhadap masing-masing protein dilakukan untuk memastikan akurasi metode. Validasi ini dilakukan dengan cara *redocking* ligan asli ke dalam kantong aktif protein. Parameter validasi yang digunakan adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dengan batas toleransi kurang dari 2.0 Å. Nilai RMSD yang diperoleh yaitu 1,57 Å. Selain itu, pengaturan parameter *docking* seperti *grid box* untuk menentukan pusat dan ukuran ruang pencarian (*binding pocket*)

disesuaikan dengan lokasi kantong aktif berdasarkan ligan asli. Proses *docking* juga dilakukan menggunakan algoritma yang telah divalidasi, seperti algoritma genetika atau simulasi Monte Carlo, yang mengoptimalkan posisi ligan dalam kantong aktif untuk menghasilkan energi ikatan yang akurat. Nilai energi *docking* kemudian dibandingkan dengan ligan kontrol atau ligan standar untuk memastikan bahwa hasil yang diperoleh dapat dipercaya.

Berdasarkan analisis *docking* (Tabel 3), ligan gnemonoside D dan gnetin C menunjukkan energi ikatan terendah, masing-masing dengan rata-rata -10,13 kkal/mol dan -10,07 kkal/mol. Nilai ini mencerminkan afinitas pengikatan yang lebih tinggi dibandingkan ligan lain terhadap target protein. Sebagai perbandingan, kontrol positif gliburida memiliki energi ikatan rata-rata -9,03 kkal/mol, sedangkan luteolin menunjukkan nilai -8,53 kkal/mol. Dengan demikian, gnemonoside D dan gnetin C memiliki potensi yang lebih besar sebagai agen antidiabetes dibandingkan kontrol.

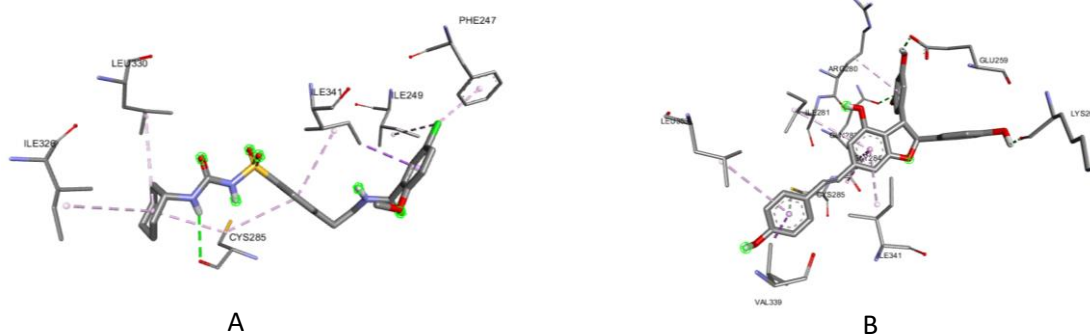
PPAR- γ (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma*) adalah reseptor pada inti sel yang berperan penting dalam metabolisme lipid, homeostasis glukosa, dan diferensiasi adiposit. Protein ini bertindak sebagai faktor transkripsi yang diaktifkan

oleh pengikatan ligan, sehingga mengatur ekspresi gen target. Mengaitkan hasil *docking* dengan mekanisme kerja PPAR- γ membantu memahami bagaimana ligan tersebut dapat memengaruhi aktivitasnya (B nardeau *et al.*, 2009). Hasil *docking* menunjukkan bahwa residu Cys285 merupakan komponen kunci dalam stabilisasi ligan pada sisi aktif PPAR- γ . Banyak ligan yang berinteraksi dengan Cys285, menandakan potensi mereka dalam menginduksi perubahan konformasi yang diperlukan untuk aktivasi PPAR- γ . Contohnya gnetin C, gneonoside D dan resveratrol yang menunjukkan interaksi kuat dengan residu tersebut. Hal ini juga

dibuktikan dengan kesamaan interaksi dengan kontrol obat gliburida dan luteolin yang berperan sebagai agonis atau modelator PPAR- γ . Ilustrasi interaksi ini dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 3. Hasil Docking ligand dan kontrol

Ligan	Binding Affinity (kcal/mol)		
	4RCH	3G9E	5EQG
Gneonosida D	-9,2	-9,9	-11,3
Gnetin C	-9,5	-9,2	-11,5
Gnetoflavanol B	-8,2	-8,3	-10,5
Resveratrol	-7,8	-7,6	-8
Gnetol	-7,3	-7,1	-7,8
Luteolin	-8,5	-8,1	-9
Gliburida	-8,5	-8,9	-9,7
Ligan 5EQG	-	-	-9,7
Ligan_4RCH	-8,4	-	-
Ligan_3G9E	-	-8	-



Gambar 2. Interaksi gliburida (A) dan gnetin C (B) dengan Cys285

GLUT1 (*Glucose Transporter Type 1*) adalah protein transmembran yang bertanggung jawab untuk transport glukosa melalui membran sel dengan mekanisme difusi terfasilitasi. Protein ini terdiri dari 12 heliks transmembran dan bekerja melalui perubahan konformasi yang memungkinkan glukosa berpindah dari luar ke dalam sel.

Aktivitas GLUT1 sangat penting dalam memenuhi kebutuhan energi dasar, terutama pada jaringan seperti otak, eritrosit, dan tumor yang bergantung pada glukosa. Situs aktif GLUT1 terletak pada domain transmembran. Residu penting, seperti Gln98 dan Tyr214, memainkan peran kunci dalam pengikatan glukosa secara spesifik.

Tyr214 juga merupakan *allosteric binding site* yang dapat memengaruhi perubahan konformasi protein secara tidak langsung, membantu atau menghambat transport glukosa (Hinklin *et al.*, 2014).

Hasil *docking* mengungkapkan bahwa ligan seperti gnomonosida D, gnetin C, dan resveratrol menunjukkan interaksi dengan residu Tyr214 serta residu lain, seperti Thr65, yang berada pada *loop* penghubung antara domain kecil dan besar GLUT1. Residual ini berperan penting dalam mengatur perubahan konformasi yang diperlukan untuk proses transport glukosa. Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa gnomonosida D dan resveratrol berinteraksi dengan residu di situs aktif maupun allosterik. Interaksi ini dapat memengaruhi GLUT1 dengan dua mekanisme: pertama, sebagai agonis allosterik, yang meningkatkan afinitas GLUT1 terhadap glukosa sehingga mempercepat transport glukosa; kedua, sebagai inhibitor kompetitif, yang mengikat situs aktif dan mencegah pengikatan glukosa, sehingga menurunkan aktivitas GLUT1.

Glukokinase adalah enzim penting yang berperan dalam fosforilasi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat, langkah pertama dalam jalur glikolisis. Enzim ini ditemukan terutama di hati dan pankreas, di mana fungsinya berkaitan erat dengan regulasi

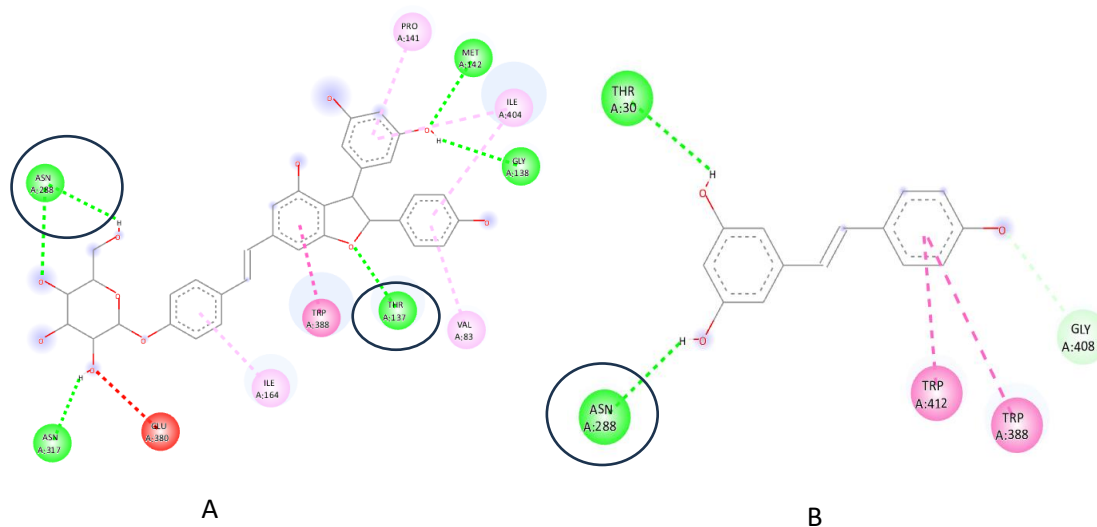
metabolisme glukosa dan pelepasan insulin. Glukokinase bekerja melalui pengikatan glukosa di kantong aktifnya, yang mencakup residu-residu penting untuk pengikatan substrat dan stabilisasi kompleks enzim-substrat. Residual seperti His160, Thr137, dan Asn288 memainkan peran kunci dalam pengikatan substrat dan stabilisasi molekul selama reaksi (Kapoor *et al.*, 2016).

Gnomonosida D dan resveratrol menunjukkan interaksi yang signifikan dengan residu kunci di situs aktif glukokinase, seperti Thr137, Asn288, dan Trp388, serta dengan residu pendukung, yaitu Gly138 dan Ile164. Selain itu, luteolin dan gnetol juga berinteraksi dengan Trp388 dan Trp412, yang berperan penting dalam stabilisasi molekul. gnomonosida D berpotensi bertindak sebagai aktivator karena kemampuannya berinteraksi dengan residu stabilisator utama, seperti Thr137, Asn288, dan Trp388, yang berkontribusi dalam menjaga konformasi tertutup glukokinase yang diperlukan untuk fosforilasi glukosa. Di sisi lain, resveratrol dan gnetol berperan sebagai inhibitor kompetitif, yang menempati kantong aktif tanpa memicu reaksi enzimatik, memiliki potensi untuk menghambat aktivitas glukokinase dengan cara mencegah pengikatan glukosa. Ilustrasi 2D interaksi

asam amino dan ligan dapat dilihat pada Gambar 3.

Tabel 4. Interaksi Ligan dengan Protein GLUT1 (PDB ID : 4RCH)

Ligand	Ikatan Hidrogen	Ikatan lainnya
Resveratrol	Gln98, Leu451	Ile211, Val455 , Tyr214 , Met235
Gnemonosida D	Glu93, Gly94	Gly97, Val455 , Val452 , Ile211, Val62, Pro66, Tyr214, Glu67, Glu96
Gnetin C	Leu451, Pro66	Val455 , Val452 , Ile211, Glu96, Glu67, Tyr214 , Gly97
Gnetovafonol	Ser411, Val277, Ser280	Gly295, Glu300, Arg327,
Gnetol	Val452, Leu451, Tyr61	Ile159, Ala456, Val62, Pro66, Ile211, Tyr214 , Val455,
Gliburida	Thr332, Lys296, Ser411	Gly328, Glu331, Arg333, Thr228, Ser336
Luteolin	Leu451, Ile211, Tyr214 , Met235	Glu221



Gambar 3. Interaksi gnemonosida D (A) sebagai aktivator dan resveratrol (B) inhibitor kompetitif bagi glucokinase.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis kualitatif, ekstrak daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung senyawa flavonoid. Kadar total flavonoid pada daun melinjo tua tercatat sebesar 1,42%, lebih tinggi dibandingkan daun muda yang sebesar 1,27%. Hal ini

menunjukkan adanya perbedaan kandungan flavonoid antara kedua jenis ekstrak daun. Melalui pendekatan *in silico*, lima senyawa utama yang diuji terhadap tiga target protein, yaitu PPAR- γ , GLUT1, dan glucokinase menunjukkan bahwa gnetin C dan gnemonoside D memiliki afinitas

tertinggi terhadap target protein berdasarkan energi ikatan terendah. Interaksi senyawa dengan target protein menunjukkan mekanisme kerja yang bervariasi terhadap kemampuan antidiabetes senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmat, N., Kamarozaman, A. S., Johari, M. S. M., Abas, F., Mohamad, S. A. S., & Yunoh, S. M. M. (2022). Screening of Phytochemicals from the Ethanolic Extracts of *Gnetum gnemon*, *Gnetum latifolium* and *Cynometra malaccensis* of Kuala Keniam, Pahang. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1019(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1019/1/012001>
- Asmorowati, H. (2019). Penetapan kadar flavonoid total buah alpukat biasa (*Persea americana* Mill.) dan alpukat mentega (*Persea americana* Mill.) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 15(2), 51–63. <https://doi.org/10.20885/jif.vol15.iss2.art1>
- Avula, S. K., Ullah, S., Halim, S. A., Khan, A., Anwar, M. U., Csuk, R., Al-Harrasi, A., & Rostami, A. (2023). Meldrum-Based-1H-1,2,3-Triazoles as Antidiabetic Agents: Synthesis, In Vitro α -Glucosidase Inhibition Activity, Molecular Docking Studies, and In Silico Approach. *ACS Omega*, 8(28), 24901–24911. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01291>
- Baroroh, U., Zahra, S. M., Wanda, D., Fauzian, G., Rohmatulloh, & Muhammad, Y. (2023). Molecular interaction analysis and visualization of protein-ligand docking using Biovia Discovery Studio Visualizer. *Indonesian Journal of Computational Biology (IJCB)*, 2(1), 22. <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.46322>
- Bénardeau, A., Benz, J., Binggeli, A., Blum, D., Boehringer, M., Grether, U., Hilpert, H., Kuhn, B., Märki, H. P., Meyer, M., Püntener, K., Raab, S., Ruf, A., Schlatter, D., & Mohr, P. (2009). Aleglitazar, a new, potent, and balanced dual PPAR α/γ agonist for the treatment of type II diabetes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19(9), 2468–2473. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.03.036>
- Chang, C., Yang, M.-H., Wen, H.-M., & Chern, J. C. (2020). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric

- methods. *Journal of Food and Drug Analysis*.
<https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- Cicich, A., Aligita, W., & Susilawati, E. (2022). A Review: The pharmacokinetics and pharmacodynamics of metformin-herb interactions. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 18(1), 13–25.
<https://doi.org/10.20885/jif.vol18.iss1.art2>
- Dutta, P. P., Bordoloi, M., Roy, S., Narzary, B., Gogoi, K., Bhattacharyya, D. R., Mohapatra, P. K., & Mazumder, B. (2018). Antiplasmodial activity of Gnetum gnemon Leaves and compounds isolated from them. *Natural Product Communications*, 13(10), 1263–1265.
<https://doi.org/10.1177/1934578x1801301007>
- Fadhiilah, A., Mahati, E., Wijayahadi, N., & Nindita, Y. (2023). Effect of Melinjo Seed Extract on GSH Levels of Hyperuricemic Wistar Rats. *Jurnal Kedokteran Diponegoro (Diponegoro Medical Journal)*, 12(3), 104–111.
<https://doi.org/10.14710/dmj.v12i3.37507>
- Harahap, R. K., Batubara, R., & Surjanto. (2015). Uji Antioksidan Daun Muda dan Daun Tua Gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk) Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh Pohon. *Peronema Forestry Science Journal*, 4(4), 72–87.
- Hinklin, R. J., Aicher, T. D., Anderson, D. A., Baer, B. R., Boyd, S. A., Condroski, K. R., DeWolf, W. E. J., Kraser, C. F., McVean, M., Rhodes, S. P., Sturgis, H. L., Voegtli, W. C., Williams, L., & Houze, J. B. (2014). Discovery of 2-Pyridylureas as Glucokinase Activators. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57(19), 8180–8186.
<https://doi.org/10.1021/jm501204z>
- Kapoor, K., Finer-Moore, J. S., Pedersen, B. P., Caboni, L., Waight, A., Hillig, R. C., Bringmann, P., Heisler, I., Müller, T., Siebeneicher, H., & Stroud, R. M. (2016). Mechanism of inhibition of human glucose transporter GLUT1 is conserved between cytochalasin B and phenylalanine amides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(17), 4711–4716.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1603735113>
- Kato, E., Tokunaga, Y., & Sakan, F. (2009). Stilbenoids isolated from the seeds of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their

- biological activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2544–2549. <https://doi.org/10.1021/jf803077p>
- Kenyori, I. K., & Febriansah, R. (2024). Bioinformatic Test and Pharmacokinetic Profile Prediction of Gnetin-C Compound in Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Seeds Toward Colorectal Cancer. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 15(1), 18. <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev15iss1pp18-25>
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., & Prakash, O. (2011). α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes. *Pharmacognosy Reviews*, 5(9), 19–29. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
- Ligita, T., Wicking, K., Francis, K., Harvey, N., & Nurjannah, I. (2019). How people living with diabetes in Indonesia learn about their disease: A grounded theory study. *PLoS ONE*, 14(2), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212019>
- Maleke, Z. F. W., Runtuwene, M. R. J., & Kamu, V. S. (2024). Pengaruh Daun Muda dan Daun Tua Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kualitas Mutu Teh Herbal Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC.). *Chemistry Progress*, 17(1), 79–86. <https://doi.org/10.35799/cp.17.1.2024.49757>
- Muthoharoh, A., Safitri, W. A., Pambudi, D. B., & Rahman, F. (2020). Pola Pengobatan Antidiabetik Oral pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Rawat Jalan di RSUD Kajen Pekalongan. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 2, 29–36. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v0i0.10841>
- Noviyanti, E., Supriyadi, A., Arum, L. S., Akbar, R. R., & Siswoyo, T. A. (2020). Effect of germination on free radical scavenging activities and angiotensin I-Converting enzyme inhibitory of melinjo (*Gnetum gnemon* L) seed proteins. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9(4), 809–812. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2020.9.4.809-812>
- Patel, D. K., Prasad, S. K., Kumar, R., & Hemalatha, S. (2012). An overview on antidiabetic medicinal plants having insulin mimetic property. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(4), 320–330.

- [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60032-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60032-X)
- Remsberg, C. M., Martinez, S. E., Akinwumi, B. C., Anderson, H. D., Takemoto, J. K., Sayre, C. L., & Davies, N. M. (2015). Preclinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics and Content Analysis of Gnetol in Foodstuffs. *Phytotherapy Research*, 29, 1168–1179. <https://doi.org/10.1002/ptr.5363>
- Safitri, A. Z., Fajariyah, R. N., & Astutik, E. (2021). Risk Factors of Diabetes Mellitus in Urban Communities in Indonesia (IFLS 5). *Jurnal Berkala Epidemiologi*, 9(2), 184. <https://doi.org/10.20473/jbe.v9i22021.184-191>
- Savitri, R. I., Arifin, N. H., & Febriansah, R. (2023). Antioxidant, Cytotoxic Activity and Protein Target Inhibition of Ethyl Acetate Fraction Melinjo Seed (*Gnetum gnemon* L.) by In Vitro and In Silico Studies on HeLa Cervical Cancer Cells. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30(5), 864–873. <https://doi.org/10.4308/hjb.30.5.864-873>
- Surya, R. P. A., & Luhurningtyas, F. P. (2021). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% dan 96% Buah Parijoto Asal Bandungan dan Profil Kromatografinya. *0 Pharmaceutical and Biomedical Sciences Journal*, 3(1), 39–44. <https://garuda.kemdikbud.go.id/documents/detail/2446133>
- Tehubijuluw, H., Watuguly, T., & Tuapattinaya, P. M. . (2019). Analisis Kadar Flavonoid pada Teh Daun Lamun (*Enhalus acoroides*) Berdasarkan Tingkat Ketuaan Daun. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan Dan Terapan*, 5(1), 1–7. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol5issue1page1-7>
- Triputra, M. A., & Yanuar, A. (2018). Analysis of compounds isolated from *Gnetum gnemon* L. Seeds as potential ace inhibitors through molecular docking and molecular dynamics simulations. *Journal of Young Pharmacists*, 10(2), s32–s39. <https://doi.org/10.5530/jyp.2018.2s.7>
- Wahidin, M., Achadi, A., Besral, B., Kosen, S., Nadjib, M., Nurwahyuni, A., Ronoatmodjo, S., Rahajeng, E., Pane, M., & Kusuma, D. (2024). Projection of diabetes morbidity and mortality till 2045 in Indonesia based on risk factors and NCD prevention and control programs. *Scientific Reports*, 14(1), 1–17.

<https://doi.org/10.1038/s41598-024-54563-2>

Winkel-Shirley, B. (2002). Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 218–223.

[https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(02\)00256-x](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(02)00256-x)

Zhao, J., Davis, L. C., & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23(4), 283–333.

<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.01.003>