

Karakterisasi Fitokomponen Ekstrak Daun Mindi dan Biji Petai Cina secara LC-HRMS dan Aktivitas *In Silico* Terhadap Alfa-glukosidase *Characterization of Phytochemicals of Mindi Leaf Extract and Chinese Petai Seeds by LC-HRMS and In Silico Activity Against Alpha-glucosidase*

Maharani^{1*}, Berna Elya², Roshamur Cahyan Forestrania³

¹ Program Studi Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

^{2,3} Departemen Fitokimia dan Farmakognosi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

Abstract

Melia azedarach L. and *Leucaena leucocephala L.* were two plant species that had attracted attention in phytochemical research due to their bioactive potential. However, research on the phytochemical characterization using Liquid Chromatography – High-Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) of these two plants was still limited. This study was to identify and characterize the phytochemical properties of Mindi leaves (*Melia azedarach L.*) and Chinese Petai seeds (*Leucaena leucocephala L.*), as well as to conduct an *in silico* study. The research method involved reflux extraction using 70% ethanol as the solvent, qualitative phytochemical identification, and characterization using LC-HRMS. The compounds from LC-HRMS from each extract were analyzed for their bioactivity *in silico*. The results showed that Mindi leaves (*M. azedarach L.*) and Petai cina seeds (*L. leucocephala L.*) contain alkaloids, saponins, phenolics, flavonoids, and tannins. The results of LC-HRMS analysis showed that 10 compounds were identified in each extract, and 3 of them were Prolylleucine, (3 β , 24R, 24'R)-fucosterol epoxide, and 2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid that is a compound found in both extracts. *In silico* results show that there is 1 compound in mindi leaf extract, namely Methyl isonicotinic, and 3 compounds from petai cina seed extract, namely *trans-p-Coumaraldehyde*, *L-alanine*, and *3-Buten-1-amine*, which show pretty strong alpha-glucosidase inhibitory activity inhibits the target protein 3A4A. This research can be a reference for developing mini leaf extract and petai cina seeds as anti-diabetic candidates.

Keywords: *Melia azedarach l*, *leucaena leucocephala*, LC-HRMS

Article history:

Submitted 26 Mei 2024

Accepted 30 Agustus 2024

Published 31 Agustus 2024

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone:

+62 85255155883



Abstrak

Melia azedarach L. dan *Leucaena leucocephala L.* adalah dua spesies tanaman yang menarik perhatian dalam penelitian fitokimia karena potensi bioaktifnya. Namun penelitian mengenai karakterisasi fitokimia dengan *Liquid Chromatography - High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS) mengenai kedua tanaman ini belum banyak dilakukan. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi, mendapatkan karakterisasi fitokimia dari daun mindi (*Melia azedarach L.*) dan biji petai cina (*Leucaena leucocephala*) serta studi In Silikonya. Metode penelitian ini menggunakan ekstraksi refluks dengan pelarut etanol 70%, identifikasi fitokimia secara kualitatif dan karakterisasi dengan menggunakan LC-HRMS. Senyawa hasil LC-HRMS dari masing-masing ekstrak dianalisis bioaktivitasnya secara in siliko. Hasil menunjukkan bahwa daun Mindi (*M. azedarach L.*) dan Biji Petai Cina (*L. leucocephala L.*) memiliki senyawa flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan tanin. Hasil analisis secara LC-HRMS menunjukkan bahwa masing-masing ekstrak teridentifikasi 10 senyawa dan 3 senyawa diantaranya yaitu Prolylleucine, (3 β , 24R, 24'R)-fucosterol epoxide, dan 2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid merupakan senyawa yang terdapat pada kedua ekstrak. Hasil in siliko menunjukkan bahwa terdapat 1 senyawa pada ekstrak daun mindi yaitu Methyl isonicotinate dan 3 senyawa dari ekstrak biji petai cina yaitu trans-p-Coumaraldehyde, L-alanin, dan 3-Buten-1-amine menunjukkan aktivitas penghambatan alfa glukosidase yang cukup kuat menghambat protein target 3A4A. Penelitian ini dapat menjadi rujukan untuk pengembangan ekstrak daun mindi dan biji petai cina sebagai kandidat anti-diabetes.

Kata Kunci: *melia azedarach l*, *leucaena leucocephala*, LC-HRMS

*Penulis Korespondensi:

Maharani, email: maharaniwawandr@gmail.com



This is an open access article under the CC-BY license

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki hutan tropis terbesar kedua didunia dan Indonesia dikenal juga sebagai salah satu negara *mega-biodiversity* kedua setelah Brazil (Kasmawati *et al.*, 2019). Dari sekitar 250.000 spesies tumbuhan di dunia, sekitar 30.000 merupakan tumbuhan asli Indonesia (Widaryanto dan Azizah, 2018). Terdapat hingga 20.000 spesies tanaman berbeda yang berpotensi sebagai obat, dari jumlah tersebut 1.000 telah dipelajari secara ilmiah dan 300 memiliki sejarah penggunaan dalam pengobatan tradisional (Kasmawati *et al.*, 2019). Beberapa tanaman obat telah dibuktikan secara empiris dan sumber bahan baku obat (Margono *et al.*, 2019). Salah satu diantaranya adalah tanaman daun Mindi (*Melia azedarach L.*) dan biji Petai Cina (*Leucaena Leucocephala L.*).

Tanaman Mindi (*M. azedarach L.*) tumbuh subur di daerah tropis seperti Indonesia, di antaranya: Irian, Sumatra, Nusa dan Jawa. Tumbuh subur pada tanah yang bersolum dalam, berdrainase baik, toleran terhadap tanah asin atau basa, tanah liat berpasir ataupun tanah dangkal. Tumbuh bisa mencapai 45 m, dengan diameter dapat mencapai 60 cm (B2P2TOOT, 2015). Daunnya rapat, warnanya hijau, bau, dan pahit. Bagian dari tanaman ini, termasuk daun telah digunakan untuk bahan pengobatan tradisional masyarakat Indonesia. Penyakit yang diobati dengan tanaman Mindi seperti batuk, malaria, demam, diabetes, sakit kuning, keputihan, kudis, kanker, gangguan perut dan lain-lain (Listyoa *et al.*, 2018; Gading dan Rabima, 2020).

Petai Cina yang mempunyai nama latin *Leucaena leucocephala L.*, merupakan

kelompok tanaman polong-polongan dengan nama famili *Fabaceae* (*Leguminosae*) (Septina *et al.*, 2020; Rivai, 2021) Sebagian orang mengenalnya sebagai lamtoro (Rivai, 2021). Petai Cina (*L. leucochepala* L.) merupakan tanaman serbaguna. Ia mudah beradaptasi pada iklim tropis seperti Indonesia, seperti di Madura (Kalanding) dan Sumatera (Petai selong) (Rivai, 2021). Di Negara India, Petai Cina ditemukan di seluruh bagian negara dan digunakan untuk tujuan pengobatan oleh banyak orang regional dari timur dan negara bagian timur laut. Dalam studi menunjukkan bahwa Petai Cina memiliki potensi antidiabetes dan antinematosidal (Om Prakash *et al.*, 2020).

Di Indonesia sendiri ternyata daun Mindi (*M. azedarach* L.) dan biji Petai Cina (*L. leucochepala* L.) digunakan oleh Suku Lampung dalam bentuk kombinasi atau ramuan empiris yang telah diwariskan turun temurun. Salah satu pengobatan diabetes melitus atau kencing manis adalah ramuan dari daun Mindi (*M. azedarach* L.) dan biji Petai Cina (*L. leucochepala* L.) (BPOM, 2013).

Sejauh ini literatur yang membahas tentang *profiling* fitokimia dari masing-masing tanaman dengan *Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS) ini masih sangat terbatas, bahkan *profiling* fitokimia dari kombinasi keduanya belum ada. Oleh karena itu pada penelitian ini, dilakukan evaluasi terkait profil senyawa fitokimia yang terdapat dalam daun Mindi (*M. azedarach* L.) dan biji Petai Cina (*L. leucochepala* L.) serta studi *in silico* terhadap potensinya sebagai obat anti-diabetik oral, yang nantinya bisa membuka jalan untuk pengembangan selanjutnya.

METODE

Bahan yang digunakan yaitu daun Mindi (*M. Azedarach* L.) dan biji Petai Cina (*L. Lecochepala* L.) diperoleh di Kota Batu, Jawa Timur, dari Materia Medika Batu, Desa Pesanggrahan, Kabupaten Batu. Menggunakan prosedur ekstraksi refluks, pelarut etanol 70%. Kemudian, mikroplat steril 96 sumur, mikro pipet (Onemed, Indonesia), pipettor (Dragon Lab, Cina), mikoreader (Agilent, AS), penangas air (Lab-Line, AS), timbangan digital (OHAUS, AS), dan penguapan vakum putar (Buchi R-124, Jerman) digunakan.

Sampel daun Mindi (*M. Azedarach* L.) dan biji Petai Cina (*L. Lecochepala* L.) di lakukan pemilahan (sortasi) untuk memilih bahan yang baik dan sesuai dengan yang diinginkan, kemudian dilakukan pencucian dan pengeringan, dengan cara diangin-anginkan pada suhu 25°C-30°C selama 7 hari (Ningsih *et al.*, 2022). Selanjutnya dilakukan penggilingan hingga menjadi serbuk. Masing-masing sampel yang telah menjadi serbuk diayak dengan menggunakan *mesh* 40. Simplisia yang telah dipersiapkan kemudian dipotong dan diblender untuk dijadikan serbuk simplisia. Lalu disimpan dalam wadah tertutup dan kedap udara pada suhu ruangan, dan kemudian diproses untuk tahap selanjutnya.

Adapun tahap selanjutnya yaitu proses ekstraksi. Pelarut etanol 70% digunakan dalam prosedur ekstraksi teknik refluks. Ekstraksi refluks dipilih dari pada maserasi atau perkolasi karena dianggap sebagai teknik yang murah, mudah, dan menghasilkan hasil yang memuaskan (Wardani, 2021). Ditimbang sebanyak \pm 100 mg serbuk yang telah diayak untuk dimasukkan ke dalam labu destilasi yang berisi batu didih, lalu ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 500 ml hingga simplisia terendam seluruhnya. Kemudian diaduk-aduk sebentar agar simplisia dan pelarut tercampur merata. Labu destilasi diletakkan didalam wadah panci berisi air yang diletakkan diatas pemanas dan kemudian dipasangkan pada kondensor yang telah terhubung pada keran

air. Air akan masuk dari bagian bawah dan keluar dari bagian atas. Suhu pada pemanas diatur agar sesuai titik didih pelarut yaitu 60°C-70°C. Proses ini berlangsung selama 30-60 menit (Elya *et al.*, 2015). Filter kertas digunakan untuk menyaring hasil ekstraksi. Setelah terkumpul, filtrat dikeringkan dalam penangas air, kemudian diuapkan menggunakan evaporator vakum berputar hingga menjadi kental dan pekat. Residu direfluks sebanyak tiga hingga lima kali (Wardani, 2021; Elya *et al.*, 2022).

Kemudian dihitung rendemen ekstrak sampel yang telah disiapkan, yaitu dengan rumus sebagai berikut (Edison *et al.*, 2020):

$$\text{Rendemen Ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak yang diperoleh (gr)}}{\text{Berat serbuk simplisia awal/sampel (gr)}} \times 100\%$$

Selanjutnya dilakukan skrining fitokimia. *Identifikasi alkaloid*: 50 mg ekstrak, 1 ml HCl 2N, dan 9 ml air ditambahkan ke tabung reaksi untuk mengidentifikasi alkaloid. Endapan berwarna coklat atau hitam menunjukkan bahwa larutan bekerja dengan baik. Endapan tersebut ditambahkan ke gelas kimia yang diisi dengan air panas dan dipanaskan selama dua menit. Kemudian gelas didinginkan, filtrat disaring, dan hingga satu mililiter diendapkan ke dalam kaca arloji. Dua tetes reagen Boucharlat ditambahkan. Jika 2 tetes reagen yang diproduksi oleh Mayer ditambahkan, hasilnya adalah endapan kental berwarna putih atau kuning yang larut dalam kloroform dan jika filtrat ditambahkan 2 tetes atau reagen Dragendorff, terbentuk endapan berwarna coklat-oranye (Elya *et al.*, 2022).

Identifikasi saponin: Untuk mengidentifikasi saponin, 50 mg ekstrak ditambahkan ke dalam 10 ml air mendidih, didinginkan, lalu dikocok cepat selama 5 detik sebelum dibiarkan selama 5 menit. Busa mencapai ketinggian 1-10 cm. Satu tetes dua-non-HCl tidak menyebabkan busa hilang (Elya *et al.*, 2022). *Identifikasi flavanoid*: Untuk mengidentifikasi flavanoid, sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan bubuk magnesium secukupnya hingga menutupi permukaannya, lalu ditambahkan HCl 2 N 2 ml, dipanaskan pada air panas beberapa menit, ditambahkan Amyl alkohol 2 ml dikocok dengan kuat. Jika terdapat hasil warna jingga, kuning, merah pada lapisan alkohol menandakan positif flavanoid (Chandra *et al.*, 2022; Elya *et al.*, 2022).

Identifikasi alkaloid: Identifikasi fenolik dilakukan dengan cara sejumlah 50 mg ekstrak ditambah 3-4 tetes FeCl₃ 10%. Fenol terdeteksi ketika warna berubah dari hitam kebiruan menjadi hitam pekat (Septia *et al.*, 2020). Tanin diidentifikasi dengan melarutkan 50 mg ekstrak dalam 15 ml air suling panas, diaduk, dibiarkan dingin, lalu campuran disaring. Tiga filtrat 1 mililiter disiapkan; filtrat pertama dimasukkan ke dalam tiga mililiter larutan gelatin 10%; endapan putih menunjukkan hasil positif. Ketika dua tetes larutan FeCl₃ 3% ditambahkan ke filter kedua, warna berubah menjadi hijau keunguan. Endapan putih terlihat setelah menambahkan 3 ml larutan NaCl-gelatin ke filtrat ketiga (Elya *et al.*, 2022).

Tahap selanjutnya karakterisasi senyawa kimia secara LC-HRMS. Senyawa fitokimia diidentifikasi dengan LC-HRMS dilakukan dengan metode ESI *Positive and Negative Ion*, dengan pelarut metanol. Identifikasi massa menggunakan *Compound Discoverer™ 3.2 software* dengan filter ekstraksi puncak dan menggunakan database *MzCloud* serta *Chemspider* dengan massa anotasi mulai dari -5 ppm hingga 5 ppm. Identifikasi dilakukan oleh Laboratorium Karakterisasi Lanjut Yogyakarta-Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) (BRIN, 2024). Terakhir, studi in siliko sebagai inhibitor Alfa-glukosidase. Pengujian aktivitas anti-diabetes senyawa terduga dari ekstrak daun mindi dan biji petai cina dilakukan secara *molekuler docking* menggunakan *software*

Autodock tools. Pada studi ini digunakan protein target alfa-glukosidase dengan PDB id 3A4A yang didapatkan melalui <https://www.rcsb.org/structure/3a4a>. Tahapan analisis penambatan molekul pada protein target meliputi penyiapan protein target, ligan, validasi metode *docking* dan penambatan senyawa terduga dari ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina pada protein target 3A4A. Prosedur analisis penambatan molekul dilakukan mengacu pada riset dari (Nur et al, 2023) dan (Nur et al., 2024).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan skrining fitokimia

Serbuk daun Mindi yang telah diekstraksi menghasilkan ekstrak kental, dengan warna hijau pekat kehitaman, berat 26,19 gr dan rendemen 26,19% (Gambar 1).



Gambar 1. Serbuk (kiri) dan ekstrak kental (kanan) daun Mindi

Serbuk biji Petai Cina yang telah diekstraksi menghasilkan ekstrak kental, dengan warna kuning kecoklatan pekat, berat 14,2 gr dan rendemennya adalah 14,2 % (Gambar 2).



Gambar 2. Serbuk (kiri) dan ekstrak kental (kanan) biji Petai Cina

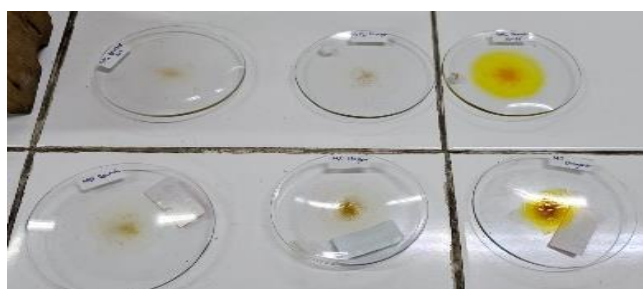
Ekstrak kental yang telah didapat kemudian dilakukan skrining kimia secara kualitatif. Dari hasil identifikasi ini diperoleh gambaran senyawa kimia Tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi kimia ekstrak

Senyawa	Daun Mindi	Biji Petai Cina	Keterangan Hasil
	Hasil	Hasil	
Alkaloid			
- Bouchardat	+	+	positif ada endapan coklat hitam
- Mayer	+	+	positif ada endapan putih atau kuning
- Dregendroff	+	+	positif ada endapan jingga coklat
Saponin	+	+	positif terbentuk buih
Fenolik	+	+	positif terjadi saat ada

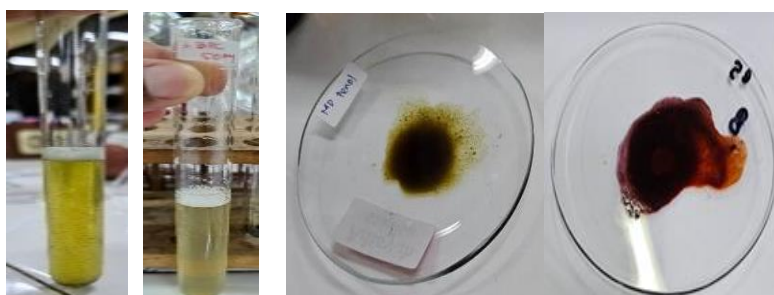
Senyawa	Daun Mindi	Biji Petai Cina	Keterangan Hasil
	Hasil	Hasil	
			perubahan dari hitam kebiruan menjadi warna hitam sempurna
Flavanoid	+	+	positif terdapat warna merah, kuning, jingga pada lapisan alkohol
Tanin			
- Gelatin	+	+	Positif terdapat endapan putih
- FeCl ₃	+	+	Positif bila ada perubahan warna hijau violet
- NaCl-Gelatin	+	+	Positif terdapat endapan putih

Kedua ekstrak menunjukkan hasil positif dengan ditandai adanya endapan coklat hitam pada reaksi bouchardat, endapan kuning pada reaksi mayer, dan endapan jingga coklat pada reaksi dregendroff (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil identifikasi alkaloid ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina

Ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina, Saat dilakukan uji kandungan saponin, keduanya mengeluarkan busa, dan saat dilakukan uji kandungan fenolik, warnanya berubah dari hitam kebiruan menjadi hitam pekat (Gambar 4).



Gambar 4. Hasil identifikasi saponin (kiri) dan fenolik (kanan) ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina

Ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina, saat dilakukan uji kandungan saponin, keduanya mengeluarkan busa, dan saat dilakukan uji kandungan fenolik, warnanya berubah dari hitam kebiruan menjadi hitam pekat (Gambar 4).



Gambar 5. Hasil identifikasi flavonoid (kiri) dan tanin (kanan) ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina

Kedua ekstrak menunjukkan hasil positif pada uji kandungan flavonoid, terlihat terbentuknya warna jingga, kuning, merah pada lapisan alkohol. Hasil positif juga dijumpai di kedua ekstrak pada uji kandungan tanin yang ditandai dengan adanya endapan putih pada reaksi gelatin, perubahan warna hijau violet pada reaksi FeCl_3 , dan endapan putih pada reaksi NaCl - gelatin (Gambar 5).

Berdasarkan hasil identifikasi, ekstrak daun Mindi mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan tanin. Namun, ekstrak biji Petai Cina memiliki senyawa saponin, flavonoid, dan tanin. Sejalan dengan [Gading dan Rabima \(2020\)](#) dan [Listyoa et al. \(2018\)](#), daun Mindi mengandung senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, glikosida, steroid, saponin, tannin, terpenoid, dengan kandungan terbanyaknya adalah fenolik. Untuk biji Petai Cina, seperti pengujian telah dilakukan ([Septina et al., 2020](#)) bahwa belum ada laporan mengenai komponen fenolik dalam ekstrak etanol biji petai Cina, namun mengandung tanin, steroid/triterpenoid, dan saponin.

Karakterisasi senyawa dengan LC-HRMS

Untuk mendapatkan karakter senyawa yang terdapat pada daun Mindi dan biji Petai Cina. Peneliti melakukan pemeriksaan kandungan metabolit sekunder secara LC-HRMS. Dari pemeriksaan LC-HRMS pada ekstrak daun mindi dan biji Petai Cina teridentifikasi masing-masing 10 senyawa metabolit sekunder. Terdapat 3 diantaranya merupakan senyawa Prolylleucine, (3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide, dan 2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid terkarakterisasi pada masing-masing ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina. Senyawa terkarakterisasi pada ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Senyawa metabolit sekunder pada sampel ekstrak daun Mindi (*M. azedarach L.*)

No	Nama senyawa	Rumus kimia	RT [min]	Berat molekul	Golongan senyawa
1	1-[(3-Carboxypropyl)amino]-1-deoxy-beta-D-fructofuranose	$\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{N}\text{O}_7$	0,842	265,12	Asam amino
2	Sophoraflavonoloside	$\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$	5,586	610,15	Flavonoid
3	Methyl isonicotinate	$\text{C}_7\text{H}_7\text{N}\text{O}_2$	0,944	137,05	Alkaloid
4	1-alpha-linolenoyl-sn-glycerol	$\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{O}_4$	13,713	352,26	Asam lemak
5	(2S)-3-Methyl-2-([(3S,4S,5R)-2,3,4-trihydroxy-5-(hydroxymethyl) tetrahydro-2-furanyl]methyl)amino) butanoic	$\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}\text{O}_7$	0,970	279,13	Asam lemak

No	Nama senyawa	Rumus kimia	RT [min]	Berat molekul	Golongan senyawa
	acid (non-preferred name)				
6	10E,12Z,15Z-octadecatrienoic acid	C18 H30 O3	12,144	294,22	Asam lemak
7	N-(3-Carboxypropanoyl)-5-hydroxynorvaline	C9 H15 N O6	0,874	233,09	Asam amino
8	Prolylleucine	C11 H20 N2 O3	1,246	228,15	Alkaloid
9	(3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide	C29 H48 O2	16,757	428,36	Steroid
10	2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid	C9 H8 O3	5,404	164,05	Turunan benzoat

Sumber Data: Primer, 2024

Hasil analisis secara LC-HRMS terkarakterisasi beberapa senyawa dari ekstrak daun mindi merupakan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid dan beberapa senyawa lainnya seperti asam lemak dan asam amino. Sementara pada ekstrak biji petai cina terkonfirmasi senyawa yang tergolong fenolik, flavonoid, alkaloid, ester dan turunan asam amino dan asam benzoat. Adanya kandungan senyawa berupa fenolik, flavonoid, alkaloid dan steroid pada masing-masing ekstrak memungkinkan memainkan peran dalam memberikan efek farmakologi khususnya sebagai inhibitor alfa-glukosidase. Karakterisasi senyawa metabolit sekunder secara LC-HRMS dari masing-masing ekstrak memiliki kesamaan prediksi golongan senyawa pada tahapan skrining fitokimia yang positif mengandung alkaloid, fenolik, dan flavonoid Tabel 1. Senyawa yang diprediksi pada masing-masing ekstrak tersebut melalui LC-HRMS belum dilaporkan. Pada penelitian oleh [Nargund et al.](#) (2018) menjelaskan hasil penelitiannya bahwa dari hasil fraksi etil asetat dari ekstrak metanol akar mindi, mengandung *1-methylacrylyl-3-acetyl-11-methoxymeliacapinin* and *meliacarpinin* B and *quercetin-3-rutinoside* (rutin) yang mempunyai potensi menekan kadar gula darah. Menurut [Abdelhady dan Abdallah](#) (2016), dengan metode HPLC/MS/MS diperoleh ada 11 senyawa fenolik, yaitu secara berturut-turut : isovanillin, asam galat, asam caffeic, *apigenin-8-C-glukosida* (vitexin), *quercetin 3-O-galaktosida* (hiperosida), *luteolin-7-O-glukosida*, *quercetin*, *isorhamnetin*, *luteolin 6-metil eter* (neptein), *kaempferol 3,7-dimetil eter* dan *5,7,3',4'-dihydroquercetin tetrametil eter* (*taksifolin 5,7,3',4'- tetrametil eter*). Dari informasi ini memberikan gambaran bahwa metabolit sekunder yang dimiliki daun mindi dan biji petai cina kedepannya dapat dikembangkan sebagai alternatif pengobatan penyakit khususnya sebagai anti diabetik. Hal ini sesuai dengan laporan penggunaan empiris dari kedua tanaman tersebut sebagai obat antidiabetes.

Tabel 3. Senyawa metabolit sekunder pada sampel ekstrak biji Petai Cina (*L. leucochepala L.*)

No	Nama senyawa	Rumus kimia	RT [min]	Berat molekul	Golongan senyawa
1	trans-p-Coumaraldehyde	C9 H8 O2	1,491	148,05	Fenolik
2	(3S,5S)-carbapenem-3-carboxylic acid	C7 H9 N O3	0,967	154,14	Asam karboksilat
3	L-(+)-Alanine	C3 H7 N O2	0,855	89,05	Asam amino

No	Nama senyawa	Rumus kimia	RT [min]	Berat molekul	Golongan senyawa
4	Methyl (2R,3S)-3-hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate	C ₁₀ H ₁₇ N O ₃	1,983	199,12	Metil ester
5	5-(5,7-Dihydroxy-3-methoxy-4-oxo-4H-chromen-2-yl)-2-hydroxyphenyl beta-D-xylopyranoside	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	6,407	448,10	Flavonoid
6	Embelin	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	10,683	294,18	Fenolik
7	3-Buten-1-amine	C ₄ H ₉ N	0,967	71,07	-
8	Prolylleucine	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₃	1,246	228,15	Alkaloid
9	(3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide	C ₂₉ H ₄₈ O ₂	16,757	428,36	Steroid
10	2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid	C ₉ H ₈ O ₃	5,404	164,05	Turunan benzoat

Senyawa terduga dari ekstrak daun mindi dan biji petai cina dianalisis secara in siliko untuk mengevaluasi interaksi yang terjadi terhadap protein target alfa glukosidase. Evaluasi in siliko yang dilakukan melalui penambatan molekul dianalisis energi bebas ikatan (kcal/mol), interaksi terhadap residu asam amino dan nilai konstanta inhibisi (K_i). Semakin negatif energi bebas ikatan (kcal/mol) maka semakin kuat interaksi yang terjadi antara ligan dan protein target. Interaksi hidrogen yang terjadi antara senyawa terhadap residu asam amino protein target juga menjadi hal yang penting dalam mengevaluasi bioaktivitas dari senyawa secara in siliko. Interaksi hidrogen senyawa dari ekstrak sampel terhadap residu asam amino senyawa target memiliki kesamaan dengan interaksi pada ligan alami, maka bioaktivitas senyawa sebagai inhibitor alfa glukosidase juga semakin baik. Selain itu, nilai konstanta inhibisi (K_i) yang diberikan oleh senyawa dari ekstrak yang semakin kecil menunjukkan bioaktivitasnya semakin kuat (Nur et al., 2023; Nur et al., 2024; Sami dan Nur, 2024).

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan secara in siliko menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa metabolit dari masing-masing ekstrak yang memiliki aktivitas yang kuat dalam menghambat alfa glukosidase. Tabel 4 dan 5 merupakan aktivitas in siliko dari senyawa metabolit sekunder masing-masing ekstrak yang diperoleh dari karakterisasi secara LC-HRMS.

Tabel 4. Aktivitas in siliko senyawa dari ekstrak daun mindi sebagai inhibitor alfa-glukosidase

No	Nama Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	Interaksi Hidrogen	Nilai K _i (μM)
	Ligan Alami	-6,39	His351, Asp352, Arg213, Glu277, His112, Gln182, Arg442, Asp69	20,70

No	Nama Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	Interaksi Hidrogen	Nilai Ki (µM)
1	1-[(3-Carboxypropyl)amino]-1-deoxy-beta-D-fructofuranose	-3,36	Asp352, Asp215, His351, Arg442, Asn350, Gln353	3420
2	Sophoraflavonoloside	+203,01	-	-
3	Methyl isonicotinate	-4,40	Arg213	599,34
4	1-alpha-linolenoyl-sn-glycerol	-2,57	Tyr387, Gln392	1313
5	(2S)-3-Methyl-2-([(3S,4S,5R)-2,3,4-trihydroxy-5-(hydroxymethyl) tetrahydro-2-furanyl]methyl)amino) butanoic acid (non-preferred name)	-3,30	Asp352, Asp215, Glu277, Arg442, Gln279	383
6	9-HOTE	-3,50	Gln353	273
7	N-(3-Carboxypropanoyl)-5-hydroxynorvaline	-1,77	Gln353, Asn350, Arg213	5080
8	Prolylleucine	+0,71	-	-
9	(3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide	+53,26	-	-
10	2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid	-2,79	Tyr347, Arg213	899

Keterangan: (-) menunjukkan tidak adanya hasil

Hasil penambatan molekul dari senyawa ekstrak daun mindi menunjukkan interaksi yang kuat hingga lemah. Terdapat 1 senyawa yang memiliki interaksi yang kuat yaitu senyawa Methyl isonicotinate dengan nilai energi bebas ikatan yaitu -4,40 kcal/mol dan konstanta inhibisi yaitu 599,34 µM. Nilai energi bebas ikatan senyawa Methyl isonicotinate mendekati energi bebas ikatan ligan alami yaitu -6,39 kcal/mol dan nilai konstanta inhibisi sebesar 20,70 µM (Tabel 4). Sementara pada senyawa terduga ekstrak biji Petai Cina diperoleh informasi bahwa senyawa trans-p-Coumaraldehyde, L-alanin, dan 3-Buten-1-amine memiliki nilai energi bebas ikatan yang mendekati energi bebas ikatan ligan alami berturut-turut sebesar -4,65; -4,00; dan -4,76 kcal/mol (389,5 µM, 117 µM, dan 323,9 µM). Senyawa Methyl isonicotinate dari ekstrak daun Mindi dan senyawa trans-p-Coumaraldehyde, L-alanin, dan 3-Buten-1-amine dari ekstrak biji Petai Cina menunjukkan adanya interaksi hidrogen pada residu asam amino Arg213, Asp352 dan Glu277 yang mana ketiga residu asam amino tersebut memiliki kesamaan dengan interaksi hidrogen pada ligan alami terhadap protein target alfa glukosidase 3A4A (Gambar 6).

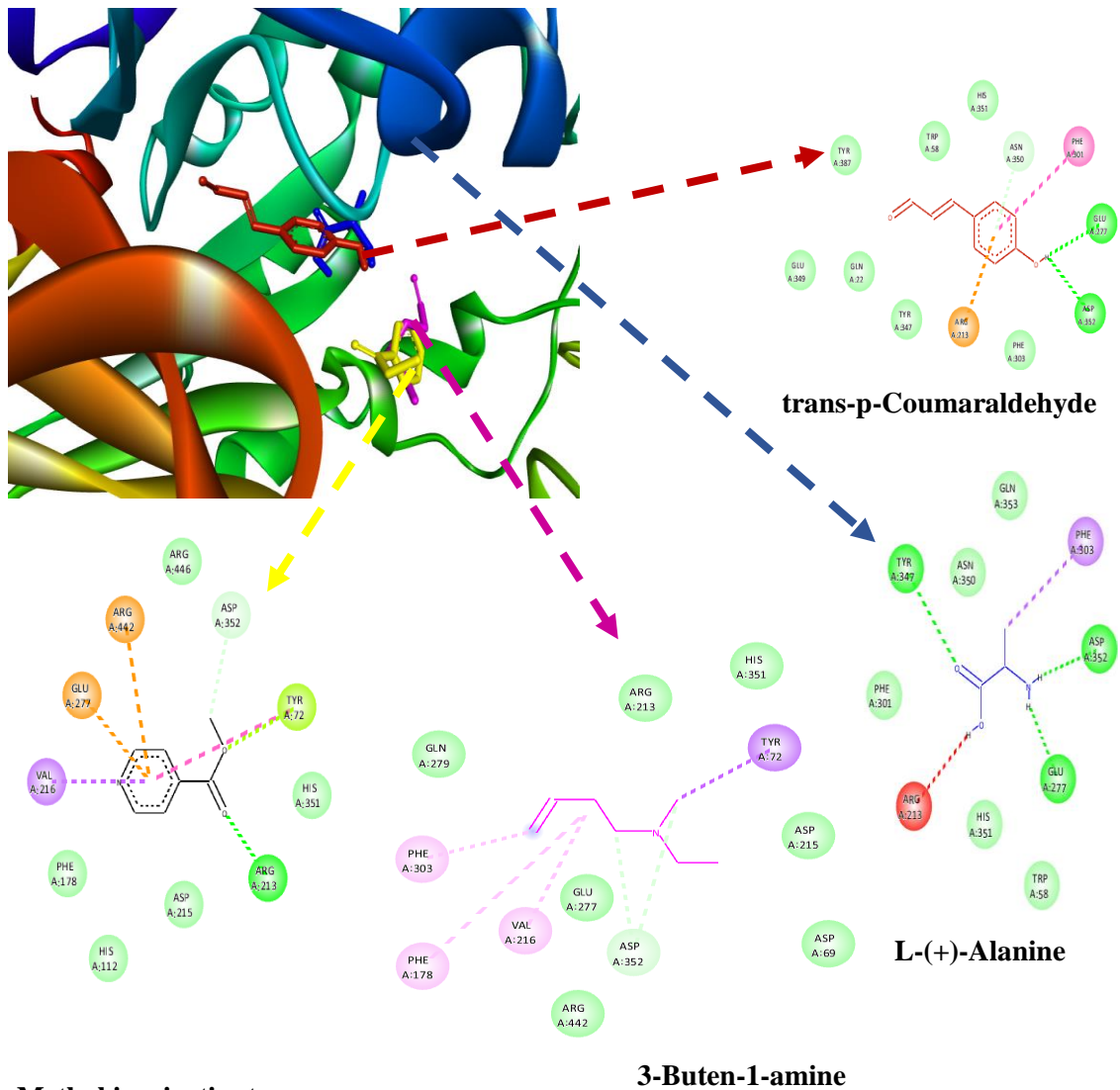
Berdasarkan hasil karakterisasi senyawa terduga ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina ditunjukkan adanya tiga senyawa yang sama terdapat pada kedua ekstrak tersebut. Namun secara prediksi aktivitasnya sebagai inhibitor alfa-glukosidase secara in siliko menunjukkan hasil interaksi yang lemah. Meskipun memiliki senyawa yang mirip diantara kedua ekstrak tersebut yaitu Prolylleucine, (3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide, dan 2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid, namun ketiga senyawa tersebut memiliki aktivitas in siliko yang lemah.

Tabel 5. Aktivitas in siliko senyawa dari ekstrak biji Petai Cina sebagai inhibitor alfa-glukosidase

No	Nama Senyawa	Energi Bebas Ikatan (kcal/mol)	Interaksi Hidrogen	Nilai Ki (µM)
	Ligan Alami	-6,39	His351, Asp352, Arg213, Glu277, His112, Gln182, Arg442, Asp69	20,70
1	trans-p-Coumaraldehyde	-4,65	Asp352, Glu277	389,5
2	(3S,5S)-carbapenem-3-carboxylic acid	-2,29	Asp307, Asn350	2093
3	L-(+)-Alanine	-4,00	Asp352, Tyr347, Glu277	117
4	Methyl (2R,3S)-3-hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octane-2-carboxylate	-2,52	Asn350, Thr306, Gln353	1416
5	5-(5,7-Dihydroxy-3-methoxy-4-oxo-4H-chromen-2-yl)-2-hydroxyphenyl beta-D-xylopyranoside	+12,27	-	-
6	Embelin	-3,45	Gln353, Asp352, Glu277	2950
7	3-Buten-1-amine	-4,76	Asp352	323,9
8	Prolylleucine	+0,71	-	-
9	(3beta,24R,24'R)-fucosterol epoxide	+53,26	-	-
10	2,3-Dihydro-1-benzofuran-2-carboxylic acid	-2,79	Tyr347, Arg213	899

Keterangan: (-) menunjukkan tidak adanya hasil









Penggunaan daun mindi dan biji petai cina secara etnofarmakologi oleh masyarakat di Provinsi Lampung sebagai alternatif pengobatan penyakit diabetes melitus telah didukung secara ilmiah terkait senyawa metabolit potensial. Adanya prediksi secara in siliko dari penelitian ini memberikan informasi ilmiah untuk mengembangkan daun Mindi dan biji Petai Cina sebagai kandidat antidiabetes.



Methyl isonicotinate

Keterangan:

Interactions

	van der Waals		Pi-Anion
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Sigma
	Carbon Hydrogen Bond		Pi-Lone Pair
	Pi-Cation		Pi-Pi T-shaped

Gambar 6. Visualisasi interaksi antara senyawa metabolit sekunder hasil LC-HRMS terhadap protein target 3A4A

KESIMPULAN

Pengembangan ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina pada penelitian ini sebagai kandidat antidiabetes telah dilakukan. Diperoleh informasi data ilmiah kandungan metabolit sekunder dari ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina secara LC-HRMS. Kedua ekstrak tersebut umumnya mengandung golongan senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan steroid. Terdapat 1 senyawa pada ekstrak daun Mindi yaitu Methyl isonicotinate dan 3 senyawa dari ekstrak biji Petai Cina yaitu trans-p-Coumaraldehyde, L-alanin, dan 3-Buten-1-amine menunjukkan aktivitas penghambatan alfa glukosidase yang cukup kuat menghambat protein target 3A4A. Penelitian ini diharapkan menjadi bahan referensi secara ilmiah untuk pengembangan lebih lanjut ekstrak daun Mindi dan biji Petai Cina sebagai kandidat anti-diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Laboratorium Fitokimia dan Farmakognosi Universitas Indonesia, Laboratorium Penelitian Terpadu Universitas Almarisah Madani Makasar, Laboratorium Karakterisasi Lanjut Yogyakarta - Badan Riset dan Inovasi Nasional, Materia Medica Batu Malang yang telah terlibat dalam pengadaan sampel, pemeriksaan dan pengujian pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhady N, Abdallah G. 2016. HPLC/MS/MS Study of Phenolic Compounds of *Leucaena leucocephala* Legumes Monitored with Their in Vitro Antihyperglycemic Activity. *European Journal of Medicinal Plants*, 17(4): 1-9. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2016/31403>
- B2P2TOOT. 2015. 100 Top Tanaman Obat Indonesia. Kementrian Kesehatan RI-Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional: Tawangmangu.
- BPOM. 2013. *Formularium Ramuan Etnomedisin Obat Asli Indonesia*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- BRIN. 2024. *Jasa Analisa Metabolomic Untargetted Menggunakan Liquid Chromatography High-Resolution Mass Spectrometry (LC HRMS)*. E-Layanan Sains BRIN: Yogyakarta.
- Chandra PPB, Laksmiawati DR, Rahmat D. 2022. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, 7(2): 80-87. <https://doi.org/10.37089/jofar.vi0.149>
- Edison E, Diharmi A, Ariani NM, Ilza M. 2020. Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kasar *Sargassum Plagiyophyllum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1): 58-66. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30725>
- Elya B, Ariestanti DM, Forestrania RC, Fadhila R. 2022. *Buku Penuntun Praktikum Fitokimia*. Nas Media Pustaka: Depok.
- Elya B, Handayani R, Sauriasari R, Azizahwati, Hasyiyati US, Permana IT, Permatasari YI. 2015. Antidiabetic Activity and Phytochemical Screening of Extracts from Indonesian Plants by Inhibition of Alpha Amylase, Alpha Glucosidase and Dipeptidyl Peptidase IV. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 18(6): 273-278. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2015.279.284>

- Gading K, Rabima. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Ekstrak Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Epidermidis* Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1): 8-18. <https://doi.org/10.52447/inspj.v5i1.1785>
- Kasmawati H, Ihsan S, Suprianti R. 2019. Kajian Etnomedisin Tumbuhan Obat Tradisional Suku Muna Desa Oe Nsuli Kecamatan Kabangka Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara. *Pharmauho:Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 5(1): 21-24. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v5i1.8997>
- Listyoa AB, Kusri D, Fachriyah E. 2018. Isolation of Phenolic Acid Compounds and Antioxidant Tests from Mindi Leaves (*Melia azedarach* L.). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 21(4): 198-204. <https://doi.org/10.14710/jksa.21.4.198-204>
- Margono, Sausan R, Sumiati T. 2019. Potensi Tanaman Indonesia sebagai Antidiabetes melalui Mekanisme Penghambatan Enzim α -glukosidase. *Jurnal Farmamedika*, 4(2): 86-92. <https://doi.org/10.47219/ath.v4i2.84>
- Nargund RR, Kulkarni VH, Habbu PV, Ab J, Habbu V, Goude T, Madagundi SD. 2018. Isolation, Characterization of Secondary Metabolites from the *Melia Azedarach* Linn. Root and to Evaluate Their in Vitro Antidiabetic Activity. *Phytojournal*, 7(1): 2214-2220. <https://www.phytojournal.com/archives/2018/vol7issue1/PartAE/6-6-307-590.pdf>
- Ningsih RF, Prabandari R, Samodra G. 2022. Pengaruh Metode Pengeringan Daun Karika (*Vasconcellea Pubescens* A.DC) terhadap Kadar Total Flavonoid. *Pharmacy Genius*, 1(1): 19-26. <https://doi.org/10.56359/pharmgen.v1i01.145>
- Nur S, Muhammad Hanafi MH, Setiawan H, Elya B. 2024. Chemical Characterization and Biological Activity of *Molineria Latifolia* Root Extract as Dermal Antiaging: Isolation of Natural Compounds, in Silico and in Vitro Study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 56: 103039. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103039>
- Nur S, Setiawan H, Hanafi M, Elya B. 2023. Phytochemical Composition, Antioxidant, in Vitro and in Silico Studies of Active Compounds of *Curculigo Latifolia* Extracts as Promising Elastase Inhibitor. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(8): 103716. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103716>
- Om Prakash, Malik S, Rani KV, Verma VK. 2020. Phytochemical Screening and Bioactive Potential of Pod Seed Extracts of *Leucaena leucocephala* Linn. *Pharmacognosy Research*, 12(4): 361-367. https://doi.org/10.4103/pr.pr_49_20
- Rivai H. 2021. *Petai Cina (Leucaena Leucocephala): Penggunaan Tradisional, Fitokimia, dan Aktivitas Farmakologi*. Penerbit Deepublish: Yogyakarta.
- Sami FJ, Nur S. 2024. Cytotoxic Effect, Antibacterial Activity, and in Silico Evaluation of Berberine Compound from Methanolic Extract of *Arcangelisia flava* Merr Stems. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 14(1): 39-50. <https://jkefarind.com/index.php/jki/article/view/6638>
- Septia Ningsih D, Henri H, Roanisca O, Gus Mahardika R. 2020. Skrining Fitokimia dan Penetapan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Tumbuhan Sapu-Sapu (*Baekkea frutescens* L.). *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 8(3): 178-185. <https://doi.org/10.21776/ub.biotropika.2020.008.03.06>
- Septina E, Yetti RD, Rivai H. 2020. Overview of Traditional Use, Phytochemical, and Pharmacological Activities of Chinese Petai (*Leucaena leucocephala*). *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Medicine*, 5(12): 1-10. <https://doi.org/10.47760/ijpsm.2020.v05i12.001>

- Wardani TS. 2021. *Isolasi dan Analisis Tumbuhan Obat*. Pustaka Baru Press: Yogyakarta.
- Widaryanto E, Azizah N. 2018. *Perspektif Tanaman Obat Berkhasiat: Peluang, Budidaya, Pengolahan Hasil, dan Pemanfaatan*. UB Press: Malang.