

## Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Salam [*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.] Dan Studi *In Silico* Senyawa Kimia Penghambat Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Rakhmat Ramdhani Alwie<sup>1,2\*</sup>, Esti Mumpuni<sup>2</sup>, Lilik Sulastr<sup>1,2</sup>, Partomuan Simanjuntak<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor (STTIF), Bogor

<sup>2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jakarta Selatan

<sup>3</sup>Puslit Kimia, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong Tangerang Selatan

Article info	Abstract
<b>History</b> Submission: 25-02-2021 Review: 19-05-2021 Accepted: 24-07-2021  <b>*Email:</b> <a href="mailto:rakhmat2980@gmail.com">rakhmat2980@gmail.com</a>  <b>DOI:</b> 10.33096/jffi.v8i2.750  <b>Keywords:</b> <i>Syzygium polyanthum</i> (Wight) Walp; inhibitor $\alpha$ -glukosidase; akarbosa; delphinidin	<i>Diabetes Mellitus (DM) is a degenerative disease that can cause various complications such as cardiovascular, stroke, and hypertension. Antidiabetic drugs that are commonly circulated in the market, have side effects that can harm other organs such as the liver, kidneys and other organs. Bay leaves (<i>Syzygium Polyanthum</i> (Wight) Walp.) have properties as inhibitors of enzim-glucosidase enzymes in vitro and in vivo. The aim of This study was to determine the activity and mechanism of action of compounds in ethanolic extract of bay leaves by ultrasonic extraction method in inhibiting the enzim-glucosidase enzyme in vitro and in silico. Bay leaves were extracted using 70% and 96% ethanol by ultrasonic method for 1 hour. The extracts obtained were tested for phytochemical content and <math>\alpha</math>-glucosidase inhibitory activity in vitro and their compounds were analyzed by LCMS/MS and in silico. The extract with the best IC<sub>50</sub> value was then separated using column chromatography (SiO<sub>2</sub>, dichloromethane, methanol 10:1 – 1:1) and produced 7 fractions and tested for -glucosidase enzyme inhibition. The best fraction, fraction 6, was analyzed by Liquid Chromatography Mas Spectra (LCMS/MS). The results showed that bay leaf extract containing alkaloids, flavonoids, tannins, steroids, phenols, and fraction-6 had the best IC<sub>50</sub> of 30.82 ppm. Chemical compounds that act as inhibitors of the <math>\alpha</math>-glucosidase enzyme are delphinidin (m/z 303), malvidin (m/z 331), flavan-3-ol (m/z 457), and have a rerank score -76.11 Kcal/mol, -73.46 Kcal/mol, -92.12 Kcal/mol. in silico test results using PLANTS docking software.</i>

### I. Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) di Indonesia dikenal sebagai penyakit kencing manis yang merupakan kelainan metabolisme yang disebabkan oleh terjadinya kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Penyakit ini ditemukan pada setiap populasi di dunia atau semua wilayah, termasuk daerah pedesaan atau negara berpenghasilan rendah dan berpenghasilan menengah. Jumlah penderita diabetes terus meningkat, menurut perkiraan WHO ada 422 juta orang dewasa dengan diabetes di seluruh dunia pada tahun 2014. Prevalensi disesuaikan usia pada orang dewasa meningkat dari 4,7% pada tahun 1980 menjadi 8,5% pada tahun 2014, dengan kenaikan terbesar di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah dibandingkan dengan negara berpenghasilan tinggi (Kazi and Blonde, 2001). Selain itu, perkiraan *Internasional Diabetes Federasi* (IDF) bahwa 1,1 juta anak dan remaja berusia 14-19 tahun menderita T1DM. Tanpa

intervensi untuk menghentikan peningkatan diabetes, setidaknya akan ada 629 juta orang yang hidup dengan diabetes pada tahun 2045 (Prianti and Ellin, 2013; Hakim, 2015).

Pemanfaatan rempah sebagai obat herbal semakin meluas karena mudah diperoleh dan harganya relatif murah sebagai bahan baku produksi obat herbal. Salah satu tanaman rempah yang melimpah di Indonesia adalah daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) (Harismah and Chuniatun, 2016). Daun salam mengandung senyawa yang berkhasiat diantaranya dapat membantu menurunkan diabetes melitus, menurunkan kolesterol, hipertensi, dan diare (Hakim, 2015). Kandungan senyawa aktif daun salam adalah tannin, flavonoid, minyak atsiri, sitral, eugenol, triterpenoid, steroid, saponin dan beberapa vitamin, yaitu vitamin C, vitamin A, thiamin, riboplavin, serta B12. Secara signifikan daun salam memberikan efek penurunan kadar gula darah



karena diketahui mengandung flavonoid glikosida yang dapat menurunkan kadar gula darah (Parisa *et al.*, 2016).

Penelitian secara *in vitro* oleh Elya *et al.*, (2015), melaporkan bahwa ekstrak etanol 70% daun salam menggunakan metode refluks dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase pada konsentrasi 19,06  $\mu\text{g/ml}$  (Elya *et al.*, 2015). Penelitian lain Saraswati (2010) bahwa ekstrak etanol 70% memberikan aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan  $\text{IC}_{50}$  sebesar 8,71 ppm pada spesies lainnya *Syzygium cumini* (Saraswati, 2010). Sedangkan menurut Berawi (2017) ekstrak metanol daun salam memberikan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 376 ppm terhadap penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase (Berawi *et al.*, 2017).

Penelitian lain secara *in silico* menggunakan *software Molegro Virtual Docking* menurut Sulastri *et al.*, (2020) bahwa senyawa asam kafeat dan asam gallat yang terdapat dalam ekstrak daun salam memiliki nilai energi bebas Gibbs sebesar -66,49 Kkal/mol dan -71,39 Kkal/mol yang menunjukkan senyawa aktif dari daun salam memiliki potensi efektif dan stabil berinteraksi dengan enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan kode protein 3L4W (Sulastri *et al.*, 2020).

## II. Metode Penelitian

### II.1 Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah simplisia daun salam berasal dari Balitro. Bahan kima yang digunakan adalah pelarut etanol 96%, etanol 70%, buffer fosfat pH 6,8, PNPG, Enzim  $\alpha$ -glukosidase, DMSO,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , akarbosa, plat KLT, silika gel GF<sub>254</sub>,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  dan akuades struktur senyawa aktif daun salam dari pubchem, protein target dari PDB.

### II.2 Alat

Alat yang digunakan adalah Ultrasonikator, *Rotary vacuum evaporator* (Stuart), timbangan Analitik (Precisa 240), Spektrofotometer UV-Vis (Simadzu 1240), Elisa Reader, Waterbath (Memmert). Aplikasi (Plants, Yasara, Marvin Sketch, Data Base PDB, Ligpuls) *Laptop* Asus (A44H) dengan spesifikasi Intel Core i3- CPU 2330M @ 2,2 GHz, RAM (*Random Access Memory*) 4,0 gigabyte, kartu grafis( Intel(R) HD Graphics), windows 7 ultimate, terhubung AC/DC *Adapter* dan terkoneksi internet.

### II.3. Ekstraksi Daun Salam

Serbuk daun salam kering ditimbang 2 x 100 gram, masing-masing diekstraksi dalam pelarut etanol 96% dan 70% dengan menggunakan alat ultrasonik selama 15 menit dengan pengulangan 4 kali. Hasil ekstraksi disaring dan diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C. Ekstrak kental yang diperoleh dihitung rendemen ekstrak total (Manapode, Yamlean and Sudewi, 2016)

### II.3. Penapisan Fitokimia

Ekstrak sebanyak 1 gram dilakukan penapisan fitokimia seperti golongan senyawa kimia alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, terpenoid/triterpenoid dengan menggunakan metode *Materia medica* dan Harborne (Harbone, 1998).

### II.4 Uji Penghambatan $\alpha$ -glukosidase

Sebanyak 50  $\mu\text{L}$  larutan ekstrak ditambahkan dengan 13  $\mu\text{L}$  dapar fosfat pH 6,8 dan 10  $\mu\text{L}$  larutan substrat *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (PNP-G) 10 mM, dipra-inkubasi selama 5 menit pada suhu 37 °C. Kemudian ditambahkan 25  $\mu\text{L}$  larutan enzim 0,015 U/mL, dan diinkubasi kembali pada suhu 37 °C selama 30 menit. Setelah masa inkubasi selesai, ditambahkan 100  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  10 mM. Larutan diukur absorbansinya dengan *microplate reader* pada  $\lambda$  405 nm (Elya *et al.*, 2015).

Persentase penghambatan aktivitas  $\alpha$ -glukosidase dapat dihitung melalui persamaan 1.

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{((A_o - A_i) - (A_1 - A_i))}{(A_o - A_i)} \quad (1)$$

Keterangan:  $A_o$ : Absorbansi kontrol negative;  $A_i$ : Absorbansi Blanko;  $A_1$ : Absorbansi Sampel (Pembanding /ekstrak)

Melalui persamaan regresi linier,  $y = a + bx$ , dimana sumbu x adalah konsentrasi sampel dan sumbu y adalah % inhibisi, maka nilai  $\text{IC}_{50}$  dapat dihitung menggunakan rumus 2.

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad (2)$$

### II.5 Isolasi dan pemisahan senyawa kimia dengan Kromatografi Kolom

Ekstrak 10 gram dihomogenkan menggunakan *cellite 545*, kemudian dimasukkan kedalam kolom yang sudah diisi dengan bubuk silika gel dan eluen. Eluasi dilakukan dengan pelarut diklorometana dan metanol hingga diperoleh 130 fraksi. Fraksi diuji pada plat KLT dan yang memiliki spot yang sama dilakukan penggabungan.

### II.6 Identifikasi Senyawa

Fraksi yang memiliki aktivitas dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  terbaik dilakukan analisa LCMS/MS.

### II.7 Molekular Docking

#### II.7.1 Periapan Struktur Protein Target

Struktur kompleks protein didapat melalui website <http://rcsb.org/>. Kemudian dipreparasi kembali untuk menghilangkan pelarut dan ligan yang tidak diperlukan dengan menggunakan program YASARA. Salah satunya penghilangan molekul air dan penambahan hidrogen. Hasil kemudian disimpan dalam format file \*.mol2.

#### II.7.2 Periapan Struktur Ligan

Struktur Ligan Native disiapkan menggunakan program Yasara, ligan pembanding dan ligan Uji disiapkan menggunakan Marvin Sketch dan disimpan dalam format file \*.mrv yaitu

ligand\_2D.mrv. dan lakukan konformasi struktur sebagai ligan dengan format file \*.mol2

### II.7.3 Optimasi Protein dan nilai RMSD

Untuk menentukan nilai RMSD maka native ligan dioptimasi menggunakan program PLANTS dengan memasukkan native ligan kedalam reseptor kemudian hasil validasi dengan nilai *score* terbaik dan nilai RMSD dibawah 2 Å dilakukan virtual screening menggunakan program YASARA

### II.7.4 Docking

*Docking* dilakukan pada sistem operasi *windows* dimana Ligan pembanding dan Ligan uji yang diperoleh pada preparasi protein ligan dilakukan *docking* masing-masing menggunakan Program PLANTS kemudian ditentukan *score* terbaik untuk dibandingkan hasilnya dengan senyawa induk atau pembanding

### II.7.5 Visualisasi ligan dan Reseptor

Hasil *docking* dapat dilihat pada output dengan format notepad. Penentuan konformasi hasil

*docking* dengan memilih konformasi yang nilai energi bebasnya paling rendah. Ligan senyawa uji, senyawa induk, Native Ligan setelah *docking* diload kedalam Aplikasi Lig Plot kemudian divisualisasi interaksi asam amino

## III. Hasil dan Pembahasan

Rendemen yang diperoleh menggunakan pelarut etanol 96% lebih banyak dari rendemen yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70%. Pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat menarik senyawa mulai dari non polar hingga polar. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid dan fenol (Yin *et al.*, 2014), rendemen yang dihasilkan dari proses ekstraksi menggunakan etanol 96% dan 70% dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak daun salam

No	Pelarut	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1.	Etanol 96%	100	15,57	15,57
2.	Etanol 70%	100	12,89	12,89

Tabel 1 menunjukkan bahwa rendemen ekstrak etanol 96% lebih besar dibanding ekstrak etanol 70% dikarenakan pelarut etanol 96% memiliki kemampuan untuk lebih banyak menarik senyawa mulai dari non polar, semi polar hingga polar, sedangkan etanol 70% hanya menarik senyawa yang bersifat semi polar dan sangat polar saja. Hal tersebut juga sesuai dengan hasil penelitian Lim, 2019 (Lim *et al.*, 2019) yang menyatakan

bahwa rasio pelarut terhadap jumlah simplisia, metode ekstraksi dan kepolaran pelarut berpengaruh terhadap jumlah rendemen yang dihasilkan.

Hasil skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70% dan 96 % daun salam dapat dilihat pada Tabel 2. Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% mengandung alkaloid, hal ini berarti bahwa etanol 96% mampu menarik lebih banyak senyawa dibandingkan etanol 70%.

**Tabel 2.** Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% dan 96% daun salam.

No	Uji	Ekstrak etanol 70%	Ekstrak etanol 96%
1.	Alkaloid	-	+
2.	Flavonoid	+	+
3.	Saponin	-	-
4.	Tannin	+	+
5.	Steroid	+	+
6.	Terpenoid	-	-
7.	Fenol	+	+

**Tabel 3.** Persen inhibisi dan  $IC_{50}$  ekstrak etanol 70% dan etanol 96% daun salam

No.	Ekstrak daun salam	Inhibisi (%)	$IC_{50}$ (ppm)
1.	Etanol 70 %	41,36	86,29
2.	Etanol 96 %	54,83	51,54

Hasil uji penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase Tabel 3 menunjukkan aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase ekstrak etanol 96% memiliki persen inhibisi lebih besar dengan nilai 54,83% dan memiliki nilai  $IC_{50}$  51,54 ppm.

Ekstrak etanol yang memiliki aktivitas terbaik dilakukan pemisahan menggunakan teknik kromatografi kolom dengan fase diam silika gel, dan fase gerak eluen diklorometana : metanol dengan sistem gradien mulai dari 10:1, 8:1, 5:1, 2:1, 1:1 dan

metanol. Fraksi yang dihasilkan setelah di KLT dan penggabungan diperoleh 7 fraksi.

Semua fraksi yang diperoleh diuji aktivitas penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Fraksi terbaik

terdapat pada fraksi 6 dengan nilai persen hambat 57,39% (Tabel 4) dan  $IC_{50}$  sebesar 30,82 ppm. Nilai persen hambat dan  $IC_{50}$  dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 4.** Bobot dan persen inhibisi fraksi ekstrak etanol 96% daun salam.

No	Fraksi gabungan	Bobot (g)	Persen inhibisi (%)
1.	Fraksi 1	0,12	32,98
2.	Fraksi 2	0,04	22,19
3.	Fraksi 3	0,02	36,31
4.	Fraksi 4	0,17	49,49
5.	Fraksi 5	0,17	40,83
6.	Fraksi 6	0,36	57,39
7.	Fraksi 7	0,10	19,09

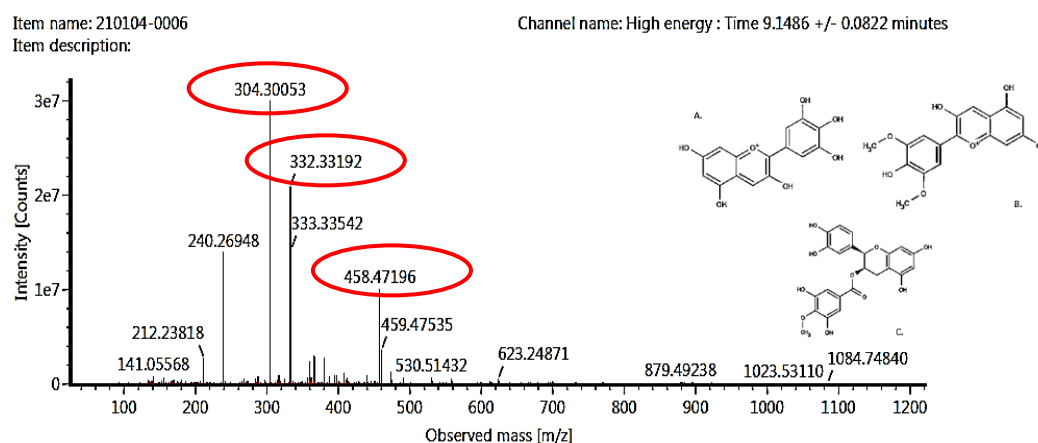
**Tabel 5.** Nilai  $IC_{50}$  fraksi 6 hasil kromatografi etanol 96% daun salam.

No	Konsentrasi (ppm)	Persen inhibisi (%)	$IC_{50}$ (ppm)
1	5	42,08	30,82
2	10	43,54	
3	20	47,54	
4	40	49,31	
5	80	67,82	

Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh dari ekstrak etanol 96% berbeda dengan penelitian Dewijanti, 2020 (Dewijanti *et al.*, 2020) hal tersebut karena perbedaan pelarut dan metode ekstraksi yang digunakan. Dewijanti melaporkan bahwa ekstrak air daun salam yang diperoleh dari Jawa Barat memiliki nilai  $IC_{50}$  63,20 ppm. Ekstrak air dilakukan dengan pemanasan, sehingga hanya mampu menarik senyawa yang tidak tahan terhadap panas, sehingga

senyawa yang berperan lebih sedikit dibanding ekstrak etanol yang tanpa pemanasan.

Hasil identifikasi LCMS/MS untuk fraksi 6 menunjukkan bahwa ada 3 kandidat senyawa kimia dengan bobot molekul  $m/z$  303 (delphinidin),  $m/z$  331 (malvidin), dan  $m/z$  457 (flavan-3-ol). Kromatogram dan spektrumnya dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Kromatogram kandidat delphinidin, malvidin dan flavan-3-Ol

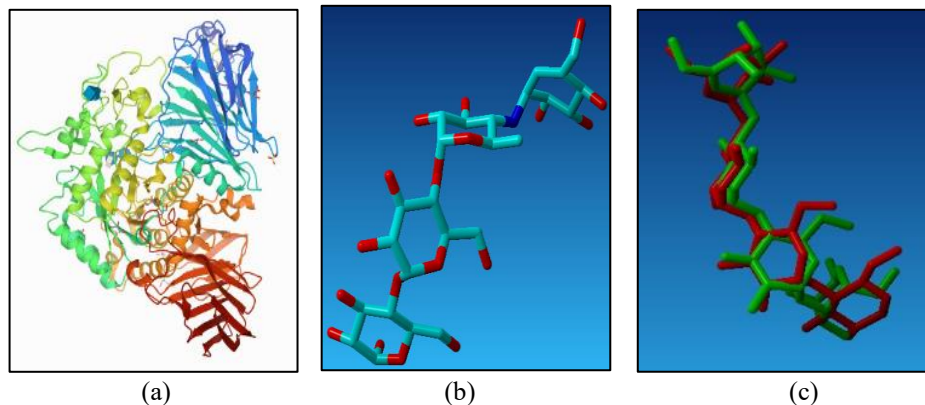
Kandidat ke-1 senyawa Delphinidin merupakan senyawa turunan flavonoid yang memiliki nama 3,3',4',5,5', 7-Heksahydroxyflavylium dengan aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Masheta and Al-Azzawi, 2018). Delphinidin juga merupakan turunan antosianin yang memiliki aktivitas penghambat

enzim  $\alpha$ -glukosidase,  $\alpha$ -amilase dan sebagai agen terapeutik dalam pengobatan diabetes (Oliveira *et al.*, 2020).

Struktur delphinidin diuji aktivitasnya secara *in silico* dengan metode *docking* menggunakan protein target 2QMJ. Protein 2QMJ yang diperoleh dari PDB memiliki interaksi dengan

ligan akarbosa, resolusi 1,9Å dan sudah melalui X-Ray *diffractions*. Protein 2QMJ adalah enzim maltase-glukoamilase yang berperan untuk mengkatalisis pelepasan glukosa dalam pati pada saluran pencernaan, dan terjadi dalam sel epitel usus kecil. Hasil validasi protein 2QMJ memberikan nilai

RMSD 1,576Å dan hasil docking memiliki nilai energi bebas gibbs sebesar -76,11 Kkal/mol, yang cukup stabil dan berpotensi sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase. Struktur protein dan hasil validasi dapat dilihat pada Gambar 2.



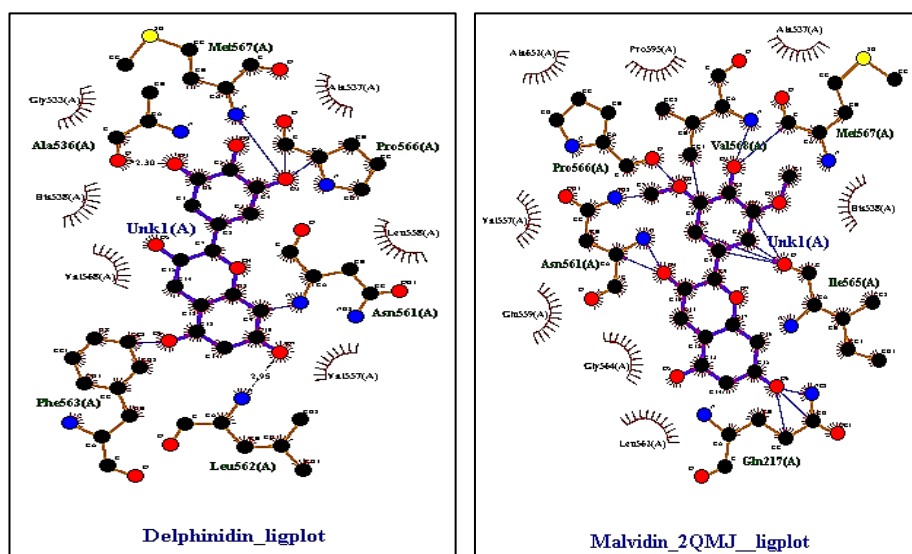
Gambar 2. Protein 2QMJ (a), Akarbosa (b) dan Validasi 2QMJ (c)

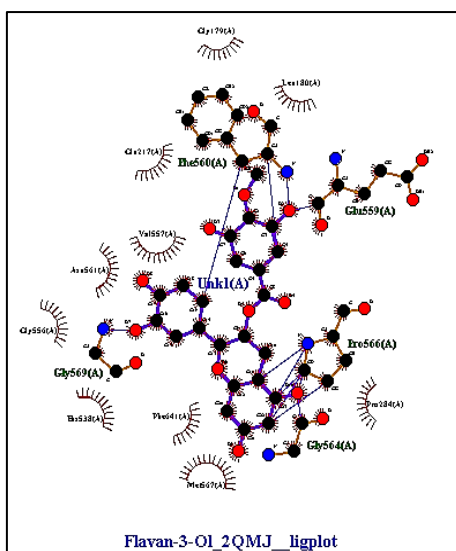
Kandidat ke-2 senyawa molekul  $m/z$  331 yaitu malvidin merupakan senyawa turunan delphinidin yang ditemukan pada tanaman genus *syzygium* namun spesies *syzygium cumini* dan memiliki nama lain 3',4',5,7-Tetrahydroxy -3',5'-dimethoxyflavylum (Lestario *et al.*, 2017). Menurut Kahkonen, 2003 bahwa Malvidin merupakan senyawa grup antosianin yang ditemukan banyak di alam sebagai pigmen warna dan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat, antimikroba dan antiinflamasi (Kähkönen *et al.*, 2003) dan memiliki *rerank score* -73,46 Kkal/mol.

Kandidat ke-3, Senyawa dengan bobot molekul 457 yaitu *Flavan-3-ol* yang merupakan

senyawa turunan flavanol dalam bentuk dimer, oligomer dan trimer yang memiliki aktivitas penghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase adan antioksidan yang memiliki efek yang baik bagi penderita diabetes (Ma *et al.*, 2010). Flavan-3-ol juga memiliki aktivitas dalam mengurangi efek penyakit kardiovaskular akibat dari komplikasi diabetes (Raman *et al.*, 2019) dan memiliki *rerank score* -92,12 Kkal/mol

Interaksi kandidat senyawa aktif hasil LCMS/MS dengan asam amino setelah docking dengan protein 2QMJ divisualisasikan menggunakan aplikasi Ligplot. Hasil visualisasi dapat dilihat pada Gambar 4.





**Gambar 3.** Interaksi ligan dengan asam amino pada protein 2QMJ

Gambar 3 Menunjukkan bahwa kandidat senyawa dari daun salam (ligan uji) dapat berinteraksi dengan protein 2QMJ membentuk ikatan hidrogen sehingga memberikan aktivitas

yang baik terhadap reaksi enzimatik dalam penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase, dimana asam amino yang terlibat ditunjukkan pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Interaksi ligan dengan residu asam amino

No	Ligan	Residu asam amino yang terlibat
1.	Delphinidin	Leu562, Phe563, Asn561, Pro566, Met567 dan Ala536
2.	Malvidin	Pro566, Val568, Met567, Asn561, Ile565, dan Gln217
3.	Flavan-3-ol	Phe560, Glu559, Gly569, Pro566, dan Gly564

#### IV. Kesimpulan

Fraksi 6 dari ekstrak etanol 96% daun salam memiliki aktivitas menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan nilai  $IC_{50}$  30,82 ppm dengan kandidat kandungan senyawa m/z 303 (delphinidin), m/z 331 (malvidin), dan m/z 457 (flavan-3ol) yang memiliki nilai energi bebas gibs berturut-turut sebesar -76,11 Kkal/mol, -73,46 Kkal/mol, dan -92,12 Kkal/mol.

#### Daftar Pustaka

- Berawi, K. N. *et al.* (2017) 'Comparison effectiveness of antidiabetic activity extract herbal mixture of soursop leaves (*annona muricata*), bay leaves (*syzygium polyanthum*) and pegagan leaves (*centella asiatica*)', *Biomedical and Pharmacology Journal*, 10(3), pp. 1481–1488. doi: 10.13005/bpj/1256.
- Dewijanti, I. *et al.* (2020) 'Short Communication: Effects of the Various Source Areas of Indonesian Bay Leaves (*Syzygium polyanthum*) on Chemical Content and Antidiabetic Activity', *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(3), pp. 1190–1195. doi: 10.13057/biodiv/d210345.
- Elya, B. *et al.* (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), pp. 273–278. doi: 10.3923/pjbs.2015.279.284.

- Hakim, L. (2015) *Rempah & Herba Kebun-Pekarangan Rumah Masyarakat*.
- Harbone, jeffrey B. (1998) *Phytochemical Methods*. Third edit, *Chapman & Hall*. Third edit. London New York: Chapman & hall.
- Harismah, K. and Chuniatun (2016) 'Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Sebagai Obat Herbal Dan Rempah Penyedap Makanan', *Warta LPM*, 19(2), pp. 110–118.
- Kähkönen, M. P. *et al.* (2003) 'Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities', *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(14), pp. 1403–1411. doi: 10.1002/jsfa.1511.
- Kazi, A. A. and Blonde, L. (2001) *Classification of diabetes mellitus, Clinics in Laboratory Medicine*. doi: 10.5005/jp/books/12855\_84.
- Lestario, L. N. *et al.* (2017) 'Changes in polyphenolics during maturation of Java plum (*Syzygium cumini* Lam.)', *Food Research International*. Elsevier, 100(March), pp. 385–391. doi: 10.1016/j.foodres.2017.04.023.

- Lim, Y. P. *et al.* (2019) 'Correlation between the extraction yield of mangiferin to the antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of Phaleria macrocarpa fruits', *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 14(August). doi: 10.1016/j.jarmap.2019.100224.
- Ma, C. M. *et al.* (2010) 'Flavan-3-ol contents, anti-oxidative and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of *Cynomorium songaricum*', *Food Chemistry*. Elsevier Ltd, 118(1), pp. 116–119. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.04.083.
- Manapode, Y. Y., Yamlean, P. V. Y. and Sudewi, S. (2016) 'Uji Efektivitas Sediaan Krim Ekstrak Daun Lamtoro (*Laucaena Glauca*) Terhadap Luka Bakar Pada Kelinci (*Orytolagus Cuniculus*)', *Pharmakon*, 5(4), pp. 280–283. doi: 10.35799/pha.5.2016.14051.
- Masheta, D. Q. and Al-Azzawi, S. K. (2018) 'Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Delphinidin on Glial Cells and Lack of Effect on Secretase Enzyme', *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 454(1). doi: 10.1088/1757-899X/454/1/012061.
- Oliveira, H. *et al.* (2020) 'Anthocyanins as antidiabetic agents—in vitro and in silico approaches of preventive and therapeutic effects', *Molecules*, 25(17), pp. 1–30. doi: 10.3390/molecules25173813.
- Parisa, N. *et al.* (2016) 'Efek Ekstrak Daun Salam pada Kadar Glukosa Darah The Effect of Bay Leaves on Blood Glucose Levels', 1, pp. 404–408.
- Raman, G. *et al.* (2019) 'Dietary intakes of flavan-3-ols and cardiometabolic health: Systematic review and meta-analysis of randomized trials and prospective cohort studies', *American Journal of Clinical Nutrition*. Oxford University Press, 110(5), pp. 1067–1078. doi: 10.1093/ajcn/nqz178.
- Saraswaty, V. (2010) 'Alpha Glucosidase Inhibitory activity from *Syzygium* sp.', *Jurnal Teknologi Indonesia*, 33(1), pp. 33–37.
- Sulastri, L. *et al.* (2020) 'Prediction of toxicity and inhibition activities of  $\alpha$ -glucosidase enzyme of the chemical compounds isolated from Indonesian medicinal plants using molegro virtual docking', *Interntonal Journal of Chemical Science*, 4(2), pp. 1–7.
- Yin, Z. *et al.* (2014) ' $\alpha$ -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants', *Food Science and Human Wellness*. Beijing Academy of Food Sciences., 3(3–4), pp. 136–174. doi: 10.1016/j.fshw.2014.11.003.