

## IDENTIFIKASI TURUNAN ASAM KARBOKSILAT AKAR *Acalypha indica* SEBAGAI KANDIDAT INHIBITOR GFAT MELALUI LC-HRMS DAN *STUDI IN SILICO*

Arviani Arviani<sup>1\*</sup> , Yuszda K. Salimi<sup>1</sup> , Nurhayati Bialangi<sup>1</sup> , Ahmad  
Chandra Lakasan<sup>1</sup>, Zifran Nur Rahman<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,  
Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, Indonesia

\*Email: arviani@ung.ac.id

Artikel diterima: 2025-10-12; Disetujui: 2026-03-23

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.2828>

### ABSTRAK

Diabetes melitus masih menjadi tantangan kesehatan global sehingga mendorong eksplorasi bahan alam sebagai sumber kandidat agen antidiabetik yang lebih aman. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa bioaktif dari akar *Acalypha indica* serta mengevaluasi potensinya sebagai inhibitor enzim *glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT), yang berperan dalam metabolisme glukosa. Profil senyawa dianalisis menggunakan *liquid chromatography-high resolution mass spectrometry* (LC-HRMS), sedangkan potensi penghambatan GFAT dievaluasi melalui *docking in silico*. Pendekatan terintegrasi ini belum pernah dilaporkan sebelumnya. Pemrofilan metabolit dilakukan menggunakan LC-HRMS yang secara tentatif mengidentifikasi tiga belas turunan asam karboksilat, termasuk *hydroxycinnamic acid*, *gluconic acid*, *trans-aconitic acid*, dan *glucoheptonic acid*. Analisis penambatan molekular menunjukkan afinitas ikatan yang rendah beberapa senyawa terhadap GFAT. *Glucoheptonic acid* menunjukkan afinitas ikatan terendah (-8,0 kcal/mol), diikuti oleh *xylaric acid A* (-7,9 kcal/mol) dan *trans-aconitic acid* (-7,5 kcal/mol). Interaksi dengan residu kunci Gln421, Ser420, Ser422, dan Lys675 menunjukkan potensi mekanisme penghambatan enzim. Analisis farmakokinetik *in silico* menunjukkan bahwa *2-hexylpentanedioic acid* memiliki profil ADME yang baik tanpa inhibisi utama terhadap CYP450 dan risiko toksisitas akut yang rendah. Temuan ini menunjukkan bahwa akar *Acalypha indica* merupakan sumber potensial turunan asam karboksilat bioaktif, dengan *glucoheptonic acid* sebagai kandidat paling menjanjikan untuk uji *in vitro* sebagai inhibitor GFAT.

**Kata kunci:** *Acalypha indica*, Anting-anting, Asam karboksilat, Diabetes mellitus, *In silico*, Autodock tools

### ABSTRACT

Diabetes mellitus remains a major global health challenge, prompting the exploration of natural products as sources of safer antidiabetic agents. This study aimed to identify bioactive compounds from the roots of *Acalypha indica* and evaluate their potential as inhibitors of *glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT), an enzyme involved in glucose metabolism. Compound profiling was conducted using *liquid chromatography-high resolution mass spectrometry* (LC-HRMS), while the

*inhibitory potential against GFAT was assessed through in silico docking. This integrated approach has not been previously reported. Metabolite profiling using LC-HRMS tentatively identified thirteen carboxylic acid derivatives, including hydroxycinnamic acid, gluconic acid, trans-aconitic acid, and glucoheptonic acid. molecular docking analysis revealed strong binding affinities of several compounds toward GFAT. Glucoheptonic acid exhibited the lowest binding energy (−8.0 kcal/mol), followed by xylaric acid A (−7.9 kcal/mol) and trans-aconitic acid (−7.5 kcal/mol). These compounds interacted with key active-site residues Gln421, Ser420, Ser422, and Lys675, suggesting a potential enzyme inhibition mechanism. In silico pharmacokinetic analysis indicated that 2-hexylpentanedioic acid exhibited favorable ADME properties, with high gastrointestinal absorption, no major inhibition of CYP450, and low predicted acute toxicity risk. These findings highlight *Acalypha indica* roots as a promising source of bioactive carboxylic acid derivatives, with glucoheptonic acid emerging as the most promising candidate for further in vitro evaluation as a GFAT inhibitor.*

**Keywords:** *Acalypha indica*, Copperleaf, Carboxylic acids, Diabetes mellitus, In silico, Autodock tools

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit metabolik kronis dengan prevalensi yang terus meningkat dan menjadi tantangan kesehatan global. Prevalensi DMT2 di Indonesia diperkirakan meningkat dari 9,19% pada 2020 menjadi 16,09% pada 2045. Konsumsi gula tinggi, urbanisasi, dan gaya hidup tidak aktif berpengaruh meningkatkan risiko komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular (Stratton et al., 2000; Wahidin et al., 2024). Hiperglikemia kronis secara patofisiologis memicu stres oksidatif, peradangan, dan disfungsi endotel yang berkontribusi terhadap perkembangan komplikasi vaskular (An et al., 2023; Chen et al., 2025).

Hiperglikemia kronis secara

molekuler meningkatkan aliran glukosa melalui jalur heksosamin (*hexosamine biosynthetic pathway*, HBP). Jalur ini merupakan suatu cabang metabolisme glukosa yang menghasilkan UDP-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) sebagai metabolit penting dalam proses glikosilasi protein dan regulasi sinyal seluler. Enzim *glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT) mengkatalisis langkah pertama sekaligus bertindak sebagai enzim pembatas laju dalam jalur ini dengan mengonversi fruktosa-6-fosfat menjadi glukosamin-6-fosfat (Belete, 2020; Yang et al., 2025). Aktivasi jalur ini diketahui berkontribusi terhadap resistensi insulin dan berbagai komplikasi diabetes, sehingga GFAT menjadi target terapeutik yang menjanjikan

dalam pengembangan agen antidiabetik baru (Obilineni et al., 2025).

Berbagai senyawa bahan alam maupun sintesis seperti analog L-glutamin, analog gula-fosfat, analog keadaan transisi cis-enolamine, serta senyawa heterosiklik dan polisiklik telah dilaporkan atau diusulkan sebagai inhibitor GFAT, sehingga eksplorasi senyawa alami dengan gugus fungsional polar seperti turunan asam karboksilat menjadi pendekatan menjanjikan untuk menemukan inhibitor GFAT baru (Stefaniak et al., 2022). Salah satu tanaman obat tradisional yang berpotensi mengandung turunan asam karboksilat aktif adalah *Acalypha indica* dari famili Euphorbiaceae. Tanaman ini telah lama digunakan secara etnofarmakologis untuk mengatasi berbagai penyakit, termasuk diabetes, namun studi ilmiah yang mengkaji potensi bagian akarnya dalam konteks bioaktivitas terhadap enzim GFAT masih terbatas. Bagian akar diketahui mengandung senyawa bioaktif spesifik seperti asam karboksilat, saponin, flavonoid, dan fenolik yang tidak ditemukan di bagian daun (Hakim et al., 2021; Ravi et al., 2021).

LC-HRMS merupakan teknik analitik beresolusi tinggi yang efektif untuk mengidentifikasi senyawa bioaktif dalam ekstrak tumbuhan, termasuk turunan asam karboksilat, berdasarkan berat molekul dan

pola fragmentasi yang akurat (Misra, 2021). Data ini mendukung simulasi *in silico* seperti penambatan molekular untuk memprediksi afinitas senyawa terhadap enzim target. *Acalypha indica* telah dilaporkan memiliki aktivitas antihiperlipidemik dan potensi sebagai kandidat antidiabetes namun eksplorasi terhadap senyawa aktif dari bagian akar masih sangat terbatas (Bumolo et al., 2025; Hakim et al., 2021). Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi senyawa dari ekstrak etanol akar *A. indica* yang teridentifikasi melalui LC-HRMS sebagai inhibitor GFAT dengan pendekatan penambatan molekular, guna mendukung pengembangan terapi antidiabetes berbasis bahan alam yang lebih aman dan efektif.

## METODE PENELITIAN

### Preparasi Sampel Penelitian

Sampel akart *Acalypha indica* atau anting-anting diperoleh dari Desa Moutong, Kec. Tilongkabila, Bone Bolango Gorontalo. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% p.a. (Merck). Data struktur tiga dimensi enzim target berupa isomerase domain of *human glucose:fructose-6-phosphate amidotransferase* (PDB ID: 2ZJ3) diunduh dari basis data *Protein Data Bank* melalui situs RCSB-PDB (<https://www.rcsb.org>) (Nakaishi et al.,

2008). Senyawa uji berupa asam karboksilat yang telah diidentifikasi dari ekstrak etanol *Acalypha indica* menggunakan metode *Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS). Struktur ligan senyawa diperoleh dalam format .sdf dari basis data PubChem kemudian dikonversi ke format .pdbqt menggunakan MarvinSketch 5.2 dan AutoDock Tools untuk keperluan docking. Dua ligan standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah Acarbose dan miglitol yang strukturnya diperoleh dari <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>.

Perangkat keras yang digunakan adalah laptop Asus Vivobook Go E1404GAB\_E1404GA dengan spesifikasi prosesor Intel® Core™ i3-N305 (1.80 GHz), RAM 8 GB, sistem operasi Windows 11 (64-bit), serta GPU terintegrasi berbasis Intel. Perangkat lunak yang digunakan meliputi *AutoDock Tools* 1.5.7 untuk persiapan docking, *AutoDock Vina* untuk proses penambatan molekular, serta *Biovia Discovery Studio 2021 Client* untuk analisis interaksi dan visualisasi hasil penambatan.

### **Identifikasi Senyawa dengan LC-HRMS**

Identifikasi dan skrining fitokimia senyawa dalam ekstrak etanol *Acalypha indica* dilakukan menggunakan LC-HRMS untuk memperoleh profil senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Metode ini

memungkinkan karakterisasi senyawa metabolit sekunder dengan sensitivitas dan ketelitian yang tinggi, baik untuk senyawa polar maupun non-polar. Metabolit dianalisis menggunakan UHPLC *Thermo Scientific Vanquish Horizon* yang dikopel dengan Orbitrap Exploris 240 HRMS. Pemisahan dilakukan pada kolom *Hypersil GOLD* (150 × 2,1 mm; 1,9 μm) menggunakan fase gerak air dan asetonitril yang masing-masing mengandung 0,1% asam format, dengan gradien hingga 100% B selama 21 menit. Laju alir 0,2 mL/menit, suhu kolom 35°C, dan volume injeksi 5 μL. Deteksi dilakukan dengan H-ESI dalam mode ion positif dan negatif. Data diperoleh dalam mode Full MS/dd-MS<sup>2</sup> (m/z 70–1000) dengan resolusi 60.000 (MS) dan 22.500 (MS/MS). Fragmentasi menggunakan NCE 30, 50, dan 80 dengan toleransi massa 5 ppm. Akuisisi berbasis intensitas (5000) digunakan untuk memicu MS/MS.

### **Persiapan Protein target dan Prediksi Penambatan Molekular secara *In silico***

Pendekatan *in silico* merupakan metode yang efisien untuk memprediksi potensi bioaktivitas senyawa sebelum dilakukan uji eksperimental. Analisis penambatan molekular dapat mengevaluasi interaksi senyawa dengan target enzim PDB ID: 2ZJ3 (Ningrum et al., 2023). Pendekatan *in silico*

digunakan sebagai metode awal untuk memprediksi potensi bioaktivitas senyawa sebelum uji eksperimental. Penambatan molekular dilakukan untuk mengevaluasi interaksi antara ligan dan enzim target (PDB ID: 2ZJ3), dengan tujuan memprediksi orientasi ikatan dan kekuatan afinitasnya.

Struktur protein dipreparasi dengan menghilangkan ligan *co-crystal*, molekul air, dan heteroatom, kemudian ditambahkan atom hidrogen polar serta muatan Kollman menggunakan *AutoDock Tools* 1.5.7, dan disimpan dalam format .pdbqt. Area *grid box* ditentukan berdasarkan situs aktif dari ligan referensi. Preparasi ligan dilakukan dengan penambahan hidrogen, pemberian muatan Gasteiger, serta pengaturan rotasi ikatan sebelum disimpan dalam format .pdbqt. Proses *docking* dilakukan menggunakan *AutoDock Vina* untuk menghasilkan berbagai pose dan nilai *binding affinity*, yang mencerminkan kestabilan interaksi ligan–reseptor. Pose terbaik dipilih berdasarkan energi ikatan terendah, kemudian divisualisasikan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio* untuk mengidentifikasi jenis interaksi antara ligan dan residu asam amino pada situs aktif enzim (Trott & Olson, 2010).

### **Analisis ADME**

Prediksi farmakokinetika dilakukan menggunakan SwissADME

(<http://www.swissadme.ch/>). Parameter yang dianalisis meliputi kelarutan, permeabilitas usus, kemampuan melewati sawar darah–otak (BBB), serta kepatuhan terhadap aturan *Lipinski (drug-likeness)* (Daina et al., 2017; Elkhawas et al., 2024; Tshiluka et al., 2025).

### **Analisis Toksisitas**

Prediksi toksisitas dilakukan dengan ProTox 3.0 – Prediction of Toxicity of Chemicals ([https://tox-new.charite.de/protox\\_III/](https://tox-new.charite.de/protox_III/)). Parameter yang dianalisis meliputi LD50, kelas toksisitas oral, serta kemungkinan efek hepatotoksik, kardiotoxik, imunotoksik, dan mutagenic (Yohana et al., 2024).

### **Analisis Data**

Data docking, ADME, dan toksisitas dianalisis secara deskriptif dan komparatif dengan membandingkan energi ikatan ligan uji terhadap ligan kontrol, serta menilai profil farmakokinetik dan keamanan senyawa sebagai kandidat agen antidiabetes multitarget.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Profil Metabolit Turunan Asam Karboksilat Hasil Analisis LC-HRMS**

Identifikasi senyawa turunan asam karboksilat dalam ekstrak etanol akar *A. indica* dilakukan menggunakan teknik LC-HRMS. Hasil analisis mengungkapkan

keberadaan tiga belas senyawa berbeda, masing-masing diidentifikasi berdasarkan formula molekul, massa molekul teoritis,

waktu retensi (RT), nilai m/z, dan jenis ion terdeteksi seperti disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Data senyawa turunan asam karboksilat ekstrak etanol akar *Acalypha indica* menggunakan LC-HRMS

RT (min)	Exact Mass	Molecular Formula	Metabolite Name	Chemical Class
9.145	217.1079	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>5</sub>	2-Hydroxydecanedioic acid	Dicarboxylic acid
9.575	163.0399	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	2-Hydroxycinnamic acid	Phenolic acid
8.956	239.0923	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>5</sub>	3-Carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid	Furan carboxylic acid
13.209	137.0243	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	4-Hydroxybenzoic acid	Phenolic acid
9.148	209.0453	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	5-Hydroxyferulate	Phenolic acid derivative
7.668	165.0191	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	6-Formylsalicylic acid	Phenolic acid
1.770	225.0614	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>8</sub>	Glucoheptonic acid	Sugar acid
1.854	195.0508	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>7</sub>	Gluconic acid	Sugar acid
2.762	111.0086	C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>4</sub>	Itaconic acid	Unsaturated dicarboxylic acid
18.378	327.2174	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>5</sub>	Malyngic acid	Fatty acid derivative
18.239	215.1287	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	NP-018716	Carboxylic acid derivative
2.764	173.0090	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>6</sub>	trans-Aconitic acid	Tricarboxylic acid
17.565	269.1392	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>5</sub>	Xylaric acid A	Fatty acid derivative

Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar *A. indica* kaya akan senyawa turunan asam karboksilat, termasuk asam dikarboksilat, fenolat, furan, dan asam gula, yang memiliki potensi biologis tinggi. Data LC-HRMS ini memberikan landasan kuat untuk analisis lanjut terhadap aktivitas biofarmakologis yaitu antidiabetes spesifik dari masing-masing senyawa secara *in silico*, tanpa secara langsung menyimpulkan aktivitas biologis spesifik sebelum dilakukan validasi eksperimental lebih lanjut (Tsugawa et al., 2015).

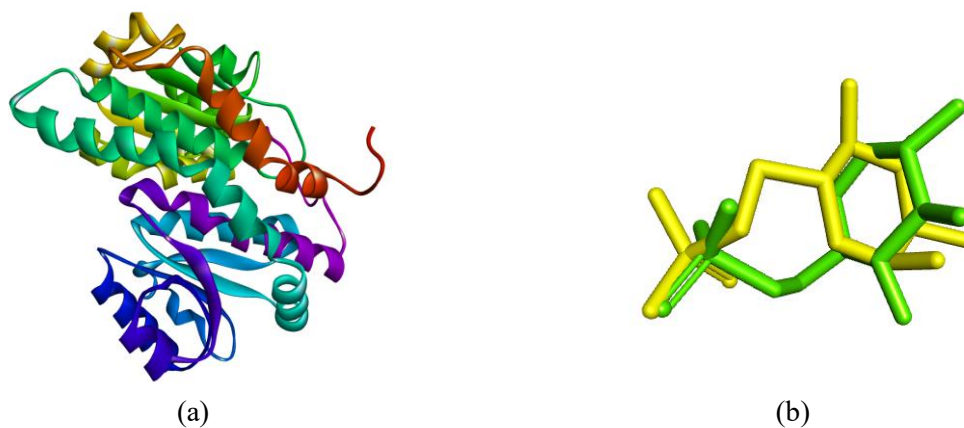
### Validasi Metode Docking terhadap Target GFAT (PDB ID: 2ZJ3)

Validasi metode docking dilakukan menggunakan struktur kristal enzim *glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT) manusia (PDB ID: 2ZJ3), yang merupakan enzim kunci dalam jalur biosintesis heksosamin dan berperan sebagai enzim penentu laju dalam regulasi metabolisme glukosa terkait diabetes tipe 2 (Nakaishi et al., 2008; Obilineni et al., 2025).

Visualisasi hasil *re-docking* dapat dilihat pada Gambar 1, menunjukkan ligan dalam posisi awal (*native*) ditunjukkan

dengan warna kuning, dan pose hasil re-docking ditunjukkan dalam warna hijau. Kedua struktur terlihat sangat tumpang

tindih, yang mendukung validitas metode *docking* yang digunakan.

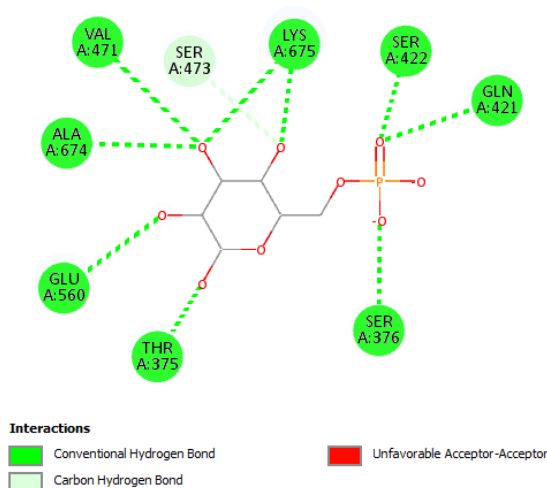


Gambar 1. (a) Protein target PDB ID:2ZJ3; (b) Superimposisi antara ligan *native* sebelum dan sesudah re-docking. Ligan pada posisi awal ditampilkan dalam warna kuning, sedangkan hasil pose setelah *re-docking* ditampilkan dalam warna hijau.

Validasi metode penambatan molekular dilakukan melalui proses *re-docking*, yaitu dengan mendocking ulang ligan *native* ke dalam situs aktif protein target yang sama. Nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang dihasilkan dari perbandingan ini adalah 1,4991 Å, yang berada di bawah ambang batas 2,0 Å. Hal ini menunjukkan bahwa metode docking yang digunakan cukup akurat dan dapat dipercaya untuk analisis lebih lanjut (Cleves et al., 2024; Morris et al., 2009). Interaksi residu asam amino native ligand dengan protein target 2ZJ3 disajikan pada Gambar 2.

Parameter *grid box* ditentukan dengan memusatkan area pencarian pada situs aktif protein berdasarkan posisi ligan *native*, dengan koordinat pusat pada sumbu

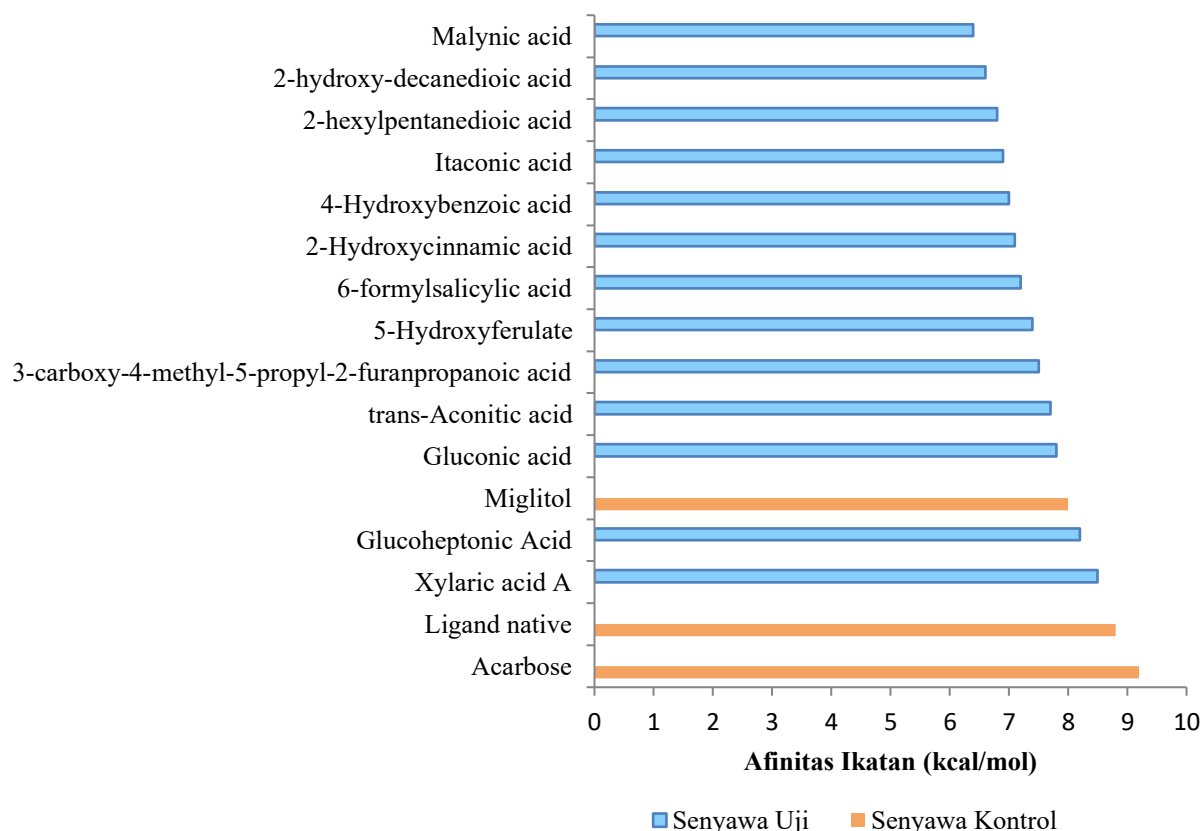
$x = 72,032$ ;  $y = 30,568$ ; dan  $z = 5,239$ . Ukuran *grid box* ditetapkan sebesar  $40 \times 40 \times 40$  Å untuk memastikan cakupan ruang pencarian yang mencakup seluruh kantung aktif. Nilai *exhaustiveness* sebesar 8 digunakan untuk menjaga keseimbangan antara efisiensi komputasi dan ketelitian pencarian konformasi ligan.



Gambar 2. Interaksi residu asam amino *native ligand* dengan protein target 2ZJ3

Penambatan molekular merupakan pendekatan *in silico* yang digunakan untuk menilai potensi interaksi antara senyawa dan target protein, yang dinyatakan dalam bentuk nilai afinitas ikatan. Nilai afinitas ini mencerminkan kekuatan interaksi ligan-

protein, di mana semakin besar (lebih negatif) nilainya, maka ikatan yang terbentuk cenderung lebih stabil (Ferreira et al., 2015; Meng et al., 2011; Morris et al., 2009; Trott & Olson, 2010). Perbandingan nilai afinitas antara senyawa uji dan kontrol seperti yang disajikan pada Gambar 3 menunjukkan variasi kemampuan ikatan yang dapat digunakan sebagai dasar seleksi kandidat senyawa potensial.



Gambar 3. Perbandingan Nilai Afinitas Ikatan Senyawa Uji dan Kontrol terhadap Target Protein

Xylaric acid A dan *glucoheptonic acid* menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi, masing-masing sebesar  $-7,9$  dan  $-8,0$  kcal/mol, yang mendekati ligan

kontrol seperti miglitol dan ligan *native*, sehingga mengindikasikan potensi interaksi yang relatif kuat dengan target protein. Senyawa lain seperti trans-aconitic acid dan

gluconic acid juga menunjukkan afinitas yang cukup baik (-7,4 hingga -7,5 kcal/mol) dan masih relevan untuk kajian lanjutan. Sebaliknya, senyawa dengan afinitas kurang negatif (di atas -7,0 kcal/mol), seperti malynic acid, 2-hydroxy-decanedioic acid, dan NP-018716,

menunjukkan interaksi yang lebih lemah. Namun demikian, nilai afinitas dari penambatan molekular hanya bersifat prediktif, sehingga tetap memerlukan validasi eksperimental lebih lanjut (Lionta et al., 2014; Morris et al., 2009).

Tabel 2. Interaksi residu asam amino terhadap protein target 2ZJ3

No	Compounds	Asam Amino yang terikat
-	Ligand <i>native</i>	(Thr375, Ser376, Ser422, Thr425, Gln421, Val471) <sup>a</sup> (Cys373, Ser473, Ala674) <sup>b</sup>
-	Acarbose	(His378, Lys559, Ser420, Ser422, Gln421, Lys675, Val471, Ser473, Thr375, Thr425) <sup>a</sup> (Leu552) <sup>b</sup>
-	Miglitol	(Ser420, Ser422, Gln421, Lys675, Val471, Ser473, Thr375) <sup>a</sup> (Cys373) <sup>b</sup>
1	2-hydroxy-decanedioic acid	(Gln421, Ser376, Ser422, Ser473) <sup>a</sup> (Lys675) <sup>d</sup> (Cys373) <sup>f</sup> (Ser420) <sup>g</sup>
2	2-Hydroxycinnamic acid	(Gln421, Ser376, Ser422, Val677) <sup>a</sup> (Ser420) <sup>g</sup>
3	3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid	Gly374, Ser422, Ser420, Val677 (Ser422, Val677) <sup>a</sup> (Gly374) <sup>b</sup> (Ser420) <sup>g</sup>
4	4-Hydroxybenzoic acid	(Ser422, Thr375, Thr425) <sup>a</sup>
5	5-Hydroxyferulate	(Ser422, Gln421, Thr425, Thr375) <sup>a</sup> (Lys675) <sup>d</sup> (Ala674) <sup>b</sup> (Ser420) <sup>g</sup>
6	6-formylsalicylic acid	(Lys675, Gln421, Ser376, Ser422, Thr425) <sup>a</sup>
7	Glucoheptonic acid	(Thr375, Ser376, Ser420, Ser422, Thr425, Gln421) <sup>a</sup> (Leu419) <sup>b</sup> (Glu560) <sup>g</sup>
8	Gluconic acid	(Ser420, Ser422, Lys675, Gln421, Ser376, Thr375) <sup>a</sup>
9	Itaconic acid	(Thr375, Ser376, Ser422) <sup>a</sup> (Ser420) <sup>b</sup>
10	Malynic acid	(Thr425, Ser422, Ser376, Gln421) <sup>a</sup> (Val677, Ala426, Cys373) <sup>f</sup>
11	2-hexylpentanedioic acid	(Ser376, Ser422, Gln421) <sup>a</sup> (Thr375, Ser473) <sup>b</sup> (Val677) <sup>f</sup>
12	trans-Aconitic acid	(Ser422, Thr425, Ser376, Thr375) <sup>a</sup>
13	Xylaric acid A	(Val471, Cys373, Thr375, Ser376, Gln480) <sup>a</sup> (Thr375, Ser376) <sup>b</sup> (Glu560) <sup>g</sup>

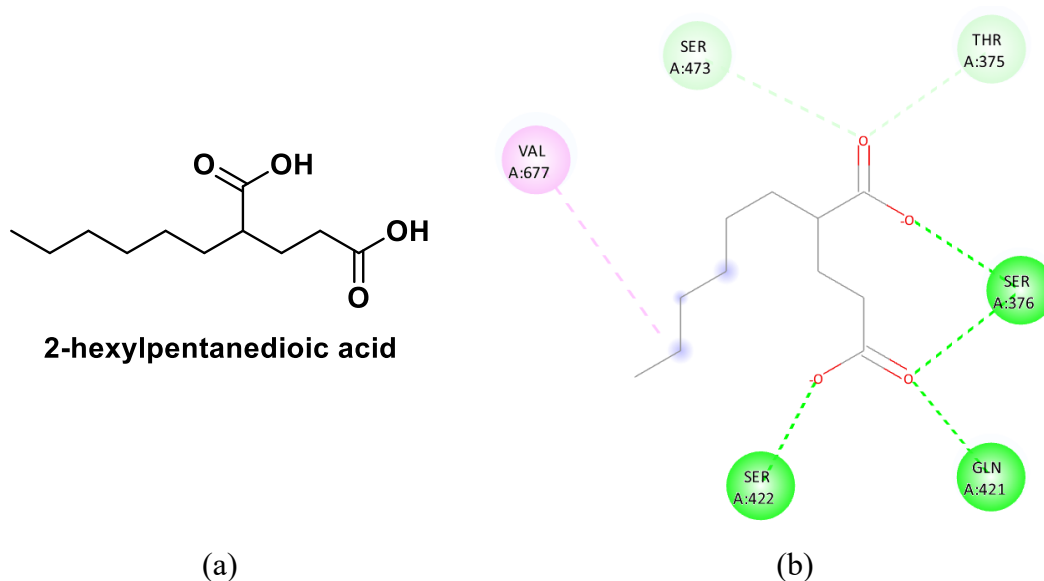
Keterangan : a—conventional hydrogen bond, b—carbon-hydrogen bond, c—Pi interactions, d—salt bridge/attractive charges, e—Pi-ions, f—Alkyl, g— Unfavorable Acceptor-Acceptor

Kesamaan residu interaksi dan dominasi ikatan hidrogen menunjukkan bahwa *glucoheptonic acid* dan 5-hydroxyferulate berpotensi meniru mode pengikatan ligan *native* pada sisi aktif. Kemiripan pola interaksi dengan inhibitor referensi seperti acarbose dan miglitol memperkuat indikasi kesamaan mekanistik (Bhatia et al., 2019; Bissantz et al., 2010; Fultang et al., 2019; Widiyanto et al., 2018). Hasil *in silico* seperti disajikan pada Tabel 2, menunjukkan bahwa beberapa senyawa berpotensi sebagai kandidat inhibitor GFAT, dengan tumpang tindih interaksi residu dan energi ikatan yang mendukung perlunya validasi lebih

lanjut melalui simulasi dinamika molekuler dan uji eksperimental (Abchir et al., 2024).

Tabel 3. Ringkasan kandidat senyawa terbaik berdasarkan afinitas, interaksi, ADME, dan toksisitas

Senyawa	Afinitas (kcal/mol)	Residu Kunci GFAT	Profil ADME	Toksistas (LD <sub>50</sub> ; Kelas)	Evaluasi
<b>Glucosheptonic acid</b>	-8.0	Gln421, Ser420, Ser422, Thr375, Thr425	Absorpsi GI tinggi, BBB (-), non-CYP inhibitor	9100 mg/kg; VI	Sangat baik (aman & aktif)
<b>Xylaric acid A</b>	-8.0	Val471, Cys373, Thr375, Ser376	ADME moderat	34 mg/kg; II	Tidak direkomendasikan (toksik)
<b>trans-Aconitic acid</b>	-7.5	Ser422, Thr425, Ser376, Thr375	ADME cukup	Tidak tersedia	Potensial
<b>Gluconic acid</b>	-7.4	Ser420, Ser422, Lys675, Gln421	Absorpsi tinggi, BBB (-)	>8000 mg/kg; V-VI	Baik (aman)
<b>2-hexylpentanedioic acid</b>	-7.3	Gln421, Ser422, Ser376, Thr375	Absorpsi tinggi, BBB (+), non-CYP inhibitor, no PAINS	3250 mg/kg; IV	Paling seimbang ( <i>lead candidate</i> )
<b>5-Hydroxyferulate</b>	~ -7.2	Gln421, Ser422, Thr375, Thr425	ADME moderat	Tidak tersedia	Potensial
<b>6-Formylsalicylic acid</b>	~ -7.1	Lys675, Gln421, Ser376, Ser422	ADME moderat	Tidak tersedia	Potensial terbatas



Gambar 4. (a) Struktur senyawa 2-hexylpentanedioic acid, (b) Interaksi residu asam amino senyawa uji 2-hexylpentanedioic acid terhadap protein 2ZJ3

Berdasarkan analisis *in silico* yang secara ringkas disajikan pada tabel 3, menggunakan SwissADME, 2-hexylpentanedioic acid menunjukkan profil ADME yang relatif baik, ditandai dengan

absorpsi gastrointestinal tinggi, kemampuan menembus BBB, serta rendahnya potensi interaksi obat karena tidak bersifat substrat P-gp maupun inhibitor utama enzim CYP450 (Daina et al., 2017).

Tabel 4. *In Silico ADMET Prediction Results 2-hexylpentanedioic acid*

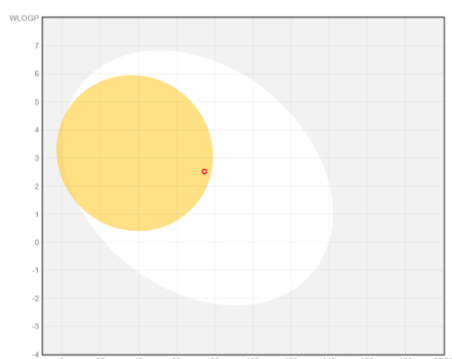
Properties	Parameters	Data
Sifat fisikokimia	Molecular Weight ((g/mol))	216.27
	Num. heavy atoms	15
	Num. aromatic heavy atoms	0
	Num. rotatable bonds	9
	Num. H-bond acceptors	4
	Num. H-bond donors	2
	Molar Refractivity	58.53
Lipofilisitas	Log P (M Log P)	1.85
Water Solubility	Log S (ESOL)	-2.27
	GI absorption	High
	BBB permeant	Yes
	P-gp substrate	No
	Pharmacokinetics	CYP1A2 inhibitor
	CYP2C19 inhibitor	No
	CYP2C9 inhibitor	No
	CYP2D6 inhibitor	No
	CYP3A4 inhibitor	No
Druglikeness	Lipinski violation	Yes; 0 violation
	Ghose violation	Yes
	Veber violation	No
	Egan violation	Yes
	Muegge violation	Yes
Medicinal Chemistry	PAINS alert	0 alert
	Brenk alert	0 alert
	Leadlikeness violation	No; 2 violations: MW<250, Rotors>7
	Synthetic accessibility	2.58

Data pada tabel 4 dan Gambar 5 menyajikan hasil prediksi ADMET secara *in silico* untuk 2-hexylpentanedioic acid, yang mengindikasikan bahwa parameter fisikokimia berada dalam kisaran yang umumnya dikaitkan dengan

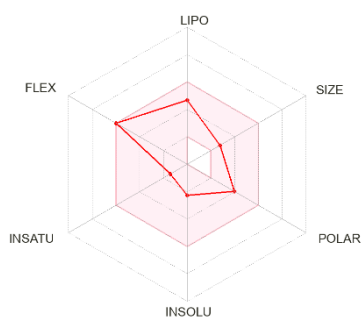
bioavailabilitas oral (BM ~216 Da, log P ~1,8, dan TPSA ~75 Å<sup>2</sup>) sesuai dengan kriteria Lipinski dan praktik evaluasi awal ADME/PK (Young et al., 2022).

Analisis *in silico* menunjukkan bahwa interaksi kuat pada residu katalitik

enzim GFAT (Gln421, Ser420, Ser422, dan Lys675) sejalan dengan profil ADME, menempatkan *glucoheptonic acid* dan *2-hexylpentanedioic acid* sebagai kandidat untuk validasi eksperimental.



(a)



(b)

Gambar 5. (a) *The boiled egg*, (b) *Physiochemical radar chart prediction results 2-hexylpentanedioic acid*

Temuan ini mengindikasikan potensi akar *A. indica* sebagai sumber kandidat antidiabetes, sekaligus menegaskan perlunya uji lanjutan melalui simulasi dinamika molekuler dan validasi biologis (Bagal & Bungay, 2012; Coumau & Csajka, 2025; Daina et al., 2017).

## KESIMPULAN

Penelitian ini mengidentifikasi turunan asam karboksilat akar *Acalypha indica* dengan LC-HRMS dan menunjukkan potensinya sebagai inhibitor GFAT melalui *in silico*. *Glucoheptonic acid* dan *trans-aconitic acid* memiliki afinitas ikatan terendah, sedangkan *2-hexylpentanedioic acid* menunjukkan profil ADME baik dan toksisitas rendah, sehingga layak untuk uji lanjut.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Rektor Universitas Negeri Gorontalo atas dukungan pendanaan PNB/BLU Tahun Anggaran 2025 melalui skema RAKPT RAPN.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abchir, O., Khedraoui, M., Yamari, I., Nour, H., Errougui, A., & Samadi, A. (2024). Exploration of alpha-glucosidase inhibitors: A comprehensive *in silico* approach targeting a large set of triazole derivatives. *PLoS ONE*, 19(9), e0308308. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308308>
- An, Y., Xu, B., Wan, S., & others. (2023). The role of oxidative stress in diabetes mellitus-induced vascular endothelial dysfunction. *Cardiovascular Diabetology*, 22, 237. <https://doi.org/10.1186/s12933-023-01965-7>
- Bagal, S. K., & Bungay, P. J. (2012). Minimizing Drug Exposure in the CNS

- while Maintaining Good Oral Absorption. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 3(12), 948–950.  
<https://doi.org/10.1021/ml300378n>
- Belete, T. M. (2020). A recent achievement in the discovery and development of novel targets for the treatment of type-2 diabetes mellitus. *Journal of Experimental Pharmacology*, 1–15.  
<https://doi.org/10.2147/JEP.S226113>
- Bhatia, A., Singh, B., Arora, R., & Arora, S. (2019). In vitro evaluation of the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory potential of methanolic extracts of traditionally used antidiabetic plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19, 74.  
<https://doi.org/10.1186/s12906-019-2482-z>
- Bissantz, C., Kuhn, B., & Stahl, M. (2010). A medicinal chemist's guide to molecular interactions. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(14), 5061–5084.  
<https://doi.org/10.1021/jm100112j>
- Bumolo, N., Aman, L. O., La Kilo, J., La Kilo, A., Salimi, Y. K., & Arviani, A. (2025). Uji in silico potensi metabolit sekunder Moringa oleifera sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. *Indonesian Journal of Pharmacy Education*, 5(1), 132–141.
- Chen, X., Xie, N., Feng, L., Huang, Y., Wu, Y., Zhu, H., Tang, J., & Zhang, Y. (2025). Oxidative stress in diabetes mellitus and its complications: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Chinese Medical Journal*, 138(1), 15–27.  
<https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000>
- 003230
- Cleves, A. E., Tandon, H., & Jain, A. N. (2024). Structure-based pose prediction: Non-cognate docking extended to macrocyclic ligands. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 38(1), 33.  
<https://doi.org/10.1007/s10822-024-00574-0>
- Coumau, C., & Csajka, C. (2025). A Systematic Review and Classification of the Effects of P-glycoprotein Inhibitors and Inducers in Humans, Using Digoxin, Fexofenadine, and Dabigatran as Probe Drugs. *Clinical Pharmacokinetics*, 64, 849–863.  
<https://doi.org/10.1007/s40262-025-01514-3>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME : a free web tool to evaluate pharmacokinetics , drug- likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Nature Publishing Group, January*, 1–13.  
<https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Elkhawas, Y. A., Gad, H. A., AbdelRazek, M. M., Mandour, A. A., Bishr, M. M., Al Musayeb, N. M., Ashour, M. L., & Khalil, N. (2024). LC-ESI-MS/MS-Based Comparative Metabolomic Study, Antioxidant and Antidiabetic Activities of Three Lobelia Species: Molecular Modeling and ADMET Study. *ACS Omega*, 9(18), 20477–20487.  
<https://doi.org/10.1021/acsomega.4c01587>
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular

- docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421.  
<https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Fultang, N., Illendula, A., Chen, B., Wu, C., Jonnalagadda, S., Baird, N., Klase, Z., & Peethambaran, B. (2019). Strictinin, a novel ROR1-inhibitor, represses triple negative breast cancer survival and migration via modulation of PI3K/AKT/GSK3 $\beta$  activity. *PLOS ONE*, 14(5), e0217789.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217789>
- Hakim, R. W., Fadilah, F., Tarigan, T. J., Jusman, S. W., & Purwaningsih, E. H. (2021). Molecular study of *Acalypha indica* to leptin, alpha-glucosidase, and its antihyperglycemic effect. *Pharmacognosy Journal*, 13(6), 1639–1647.
- Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D. K., & Cournia, Z. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(16), 1923–1938.  
<https://doi.org/10.2174/1568026614666140929124445>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157.
- Misra, B. B. (2021). New software tools, databases, and resources in metabolomics: Updates from 2020. *Metabolomics*, 17, 49.  
<https://doi.org/10.1007/s11306-021-01796-1>
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791.  
<https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- Nakaishi, Y., Bando, M., Shimizu, H., Watanabe, K., Goto, F., Tsuge, H., Kondo, K., & Komatsu, M. (2008). Structural analysis of human glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase. *FEBS Letters*, 582(29), 3979–3984.  
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.11.041>
- Ningrum, D. W. C., Kusumaningtyas, T. A., Febriansah, R., Juniananda, M., Tasminatun, S., & Krisridwany, A. (2023). Bioinformatics and Molecular Docking Study of Amentoflavone and 3,8-Biapigenin as Inhibitors on Cervical Cancer Proteins. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 14(2), 105–116.
- Obilineni, I., Ramachandran, V., & Magesh, H. (2025). Targeting GFAT for diabetes management: A therapeutic approach to alleviate hexosamine pathway-induced complications. *Marmara Medical Journal*, 38(1), 1–8.  
<https://izlik.org/JA24UT88HG>
- Ravi, S., Jyothi, P., Shanmugam, B., Subbaiah, Arviani, dkk | 111

- G. V., Prasad, S. H., & Reddy, K. S. (2021). A comprehensive review on traditional knowledge, phytochemistry and pharmacological properties of *Acalypha indica* L. *Pharmacognosy Reviews*, 15(30), 134–185.
- Stefaniak, J., Nowak, M. G., Wojciechowski, M., Milewski, S., & Skwarecki, A. S. (2022). Inhibitors of glucosamine-6-phosphate synthase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 1928–1956. <https://doi.org/10.1080/14756366.2022.2096018>
- Stratton, I. M., Adler, A. I., Neil, H. A. W., Matthews, D. R., Manley, S. E., Cull, C. A., Hadden, D., Turner, R. C., & Holman, R. R. (2000). Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): Prospective observational study. *BMJ*, 321(7258), 405–412. <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7258.405>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Tshiluka, N. R., Mbedzi, D. T., & Bvumbi, M. V. (2025). *In vitro*  $\alpha$  - Glucosidase Inhibition , Cytotoxicity , SAR , Swiss ADME Prediction and Molecular Docking Study of New N - Substituted Hydantoin Derivatives. 4. <https://doi.org/10.1002/open.202400119>
- Tsugawa, H., Cajka, T., Kind, T., Ma, Y., Higgins, B., Ikeda, K., Kanazawa, M., VanderGheynst, J., Fiehn, O., & Arita, M. (2015). MS-DIAL: Data-independent MS/MS deconvolution for comprehensive metabolome analysis. *Nature Methods*, 12(6), 523–526. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3393>
- 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, 5424. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54563-2>
- Widiyanto, A., Anwar, E., & Nurhayati, T. (2018). In vitro assay of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor activities of three seagrasses from Banten Bay, Indonesia. *Pharmacognosy Journal*, 10(5), 907–910. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.5.152>
- Yang, C., Chu, F., Chen, X., Meng, F., Li, Y., Chen, J., Sun, C., Shang, Y., Guo, R., Wang, J., Wu, C., Duan, H., Shao, M., & Yuan, W. (2025). Glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT) in the pathology of diseases: a review. *Cell Death Discovery*, 12, 52. <https://doi.org/10.1038/s41420-025-02898-8>
- Yohana, V., Wijianto, B., & Arief, I. (2024). Molecular Docking Study of Arviani, dkk | 112

Epigallocatechin Gallate (EGCG) as a  
Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus.  
*Jurnal Kimia Riset*, 9(1), 46–58.

Young, G. C., Spracklin, D. K., James, A. D.,  
Hvenegaard, M. G., Scarfe, G., Wagner,  
D. S., Georgi, K., Schieferstein, H.,  
Bjornsdottir, I., van Groen, B., Romeo, A.  
A., Cassidy, K. C., Da-Violante, G.,  
Bister, B., Blech, S., Lyer, R., Schulz, S.  
I., Cuyckens, F., & Moliner, P. (2022).  
Considerations for human ADME strategy  
and design paradigm shift(s) – An industry  
white paper. *Clinical Pharmacology &  
Therapeutics*, 113(4), 775–781.  
<https://doi.org/10.1002/cpt.2691>

Abchir, O., M. Khedraoui, I. Yamari, H.  
Nour, A. Errougui, and A. Samadi.  
2024. “Exploration of Alpha-  
Glucosidase Inhibitors: A  
Comprehensive in Silico Approach  
Targeting a Large Set of Triazole  
Derivatives.” *PLoS ONE*  
19(9):e0308308.  
[doi:10.1371/journal.pone.0308308](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0308308).