



Tesis - SB142502

# **Skrining Virtual Senyawa Antidiabetes Tipe 2 Berbasis Etnofarmakologi**

**MAHARANI LUKITASARI**

**NRP.1515 201 208**

**DOSEN PEMBIMBING**

**Dr. Dewi Hidayati, M.Si.**

**Dr. Nurul Jadid, M.Sc.**

**PROGRAM MAGISTER**

**DEPARTEMEN BIOLOGI**

**FAKULTAS ILMU ALAM**

**INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER**

**SURABAYA**

**2017**

## LEMBAR PENGESAHAN

Judul Tesis : Skrining Virtual Senyawa Antidiabetes Tipe 2 Berbasis  
Etnofarmakologi

Tesis disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Magister Sains (M.Si)  
di  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

Oleh  
Maharani Lukitasari  
NRP : 1515201208

Tanggal Ujian : 30 Januari 2017  
Periode Wisuda : Maret 2018

Disetujui oleh :

-   
1. **Dr. Dewi Hidayati, M.Si.** (Pembimbing )  
NIP: 19691121 199802 2 001
-   
2. **Dr. Nurul Jadid, M.Sc.** (Pembimbing )  
NIP: 19820512 200501 1 002
-   
3. **Dr. Awik Puji Dyah Nurhayati, M.Si.** (Penguji )  
NIP : 19700621 199802 2 001
-   
4. **Dr. Enny Zulaika, MP.** (Penguji )  
NIP: 19600109 198803 2 001

Fakultas Ilmu Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Dekan,  
  
**Prof. Dr. rer. nat Agus Subiyanto, M. Eng. Sc.**  
NIP : 19650619 199803 1 001



## **SKRINING VIRTUAL SENYAWA ANTIDIABETES TIPE 2 BERBASIS ETNOFARMAKOLOGI**

Mahasiswa Nama : Maharani Lukitasari  
Mahasiswa ID : 1515 201 208  
Pembimbing : Dr. Dewi Hidayati, S.Si. M.Si  
Dr. Nurul Jadid, S.Si. M.Sc

### **ABSTRAK**

Prevalensi diabetes tipe 2 semakin tahun semakin meningkat. Berbagai obat oral sudah banyak dikembangkan namun memiliki efek samping yang cukup serius, seperti resiko gangguan liver dan jantung, bahkan resiko hipoglikemia. Namun, dari sekian banyak obat oral, inhibitor DPP4 dan SGLT2 diketahui memiliki efek samping minimum dan rendah resiko hipoglikemia sehingga bagus jika digunakan sebagai obat antidiabetes. Mengingat diabetes tipe 2 dapat mengakibatkan berbagai macam komplikasi, maka untuk pengobatan perlu dipilih terapi dan pengobatan yang tepat, aman, dan minim efek samping, yaitu dengan pengobatan berbasis etnofarmakologi atau pengobatan tradisional. Berbagai macam tanaman obat di Indonesia telah banyak dimanfaatkan sebagai obat antidiabetes namun belum teruji potensinya secara ilmiah. Maka dari itu, pada penelitian ini dilakukan skrining virtual menggunakan metode docking molekuler untuk menguji potensi dan interaksi senyawa bioaktif tanaman etnofarmaka Indonesia yang berpotensi sebagai antidiabetes (SBTEI-AD) melalui penghambatan DPP4 dan SGLT2. Docking molekuler dilakukan menggunakan metode Vina di PyRx 8.0, dengan ligan 16 SBTEI-AD, protein target DPP4 dan SGLT2, senyawa pembanding sitagliptin dan canagliflozin. Berdasarkan analisa afinitas ikatan dan interaksi non kovalen hasil docking molekuler, dari seleksi virtual antara 16 SBTEI-AD diperoleh hasil bahwa senyawa *Rutin* dari tumbuhan mengkudu (*Morinda citrifolia*) merupakan kandidat senyawa terbaik yang memiliki potensi sebagai obat antidiabetes oral melalui inhibisi DPP4 dan SGLT2, selain itu Cassiamin C dari tumbuhan Johar (*Cassia siamea*) juga memiliki potensi yang sama baiknya dengan mengkudu dalam penghambatan SGLT2.

**Kata kunci** : Diabetes mellitus, Docking molekuler, DPP-4, Etnofarmakologi, SGLT2.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **VIRTUAL SCREENING OF ANTIDIABETIC TYPE 2 COMPOUND BASED ON ETHNOPHARMACOLOGY**

Student Name : Maharani Lukitasari  
Student ID : 1515 201 208  
Lecturer : Dr. Dewi Hidayati, S.Si. M.Si  
Dr. Nurul Jadid, S.Si. M.Sc

### **ABSTRAK**

The prevalence of type 2 diabetes is increasing every year. Various oral medications have been widely developed but have serious side effects, such as the risk of liver and heart disorders, even the risk of hypoglycemia. However, of the many oral agents, DPP4 and SGLT2 inhibitors are known to have minimal and low-risk side-effects of hypoglycemia so it has a good efficacy to used as an antidiabetic drug. Given that type 2 diabetes can lead to a wide range of complications, it is necessary for treatment to be chosen an appropriate, safe, and minimal side-effects, with ethnopharmacology-based or traditional medication. Various medicinal plants in Indonesia have been widely used as an antidiabetic drug but the potencial have not proven scientifically. Therefore, in this study, a virtual screening using molecular docking method to test the potential and interaction of the bioactive compound of Indonesia ethnopharmacy plant which has potential as antidiabetic (SBTEI-AD) through DPP4 and SGLT2 inhibition. Molecular docking was performed using Vina method in PyRx 8.0, with 16 SBTEI-AD as ligands, DPP4 and SGLT2 as protein targets, sitagliptin and canagliflozine as comparing compound. The results of virtual screening, based on binding affinity analysis and non-covalent interactions (hydrogen bonds and hydrophobic bonds), among 16 SBTEI-AD, *Rutin* compound from noni fruit (*Morinda citrifolia*) are the best candidate compounds that have potential as oral antidiabetic drugs through DPP4 inhibition and SGLT2. In addition, Cassiamin C also have the same potential as Rutin to be SGLT2 inhibitor.

**Key Words** : Type 2 Diabetes, Molecular docking, DPP-4, Ethnopharmacology, SGLT2 Virtual Screening.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **KATA PENGANTAR**

Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul “Skrining Virtual Senyawa Antidiabetes Tipe 2 Berbasis Etnofarmakologi”.

Penyusunan Tesis ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari banyak pihak. Oleh sebab itu penulis menyampaikan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu yaitu:

1. Ketua Departemen Biologi ITS atas dukungan dan arahan kepada penulis.
2. Dr. Dewi Hidayati S.Si., M.Si. sebagai dosen pembimbing pertama dan Dr. Nurul Jadid S.Si., M.Sc. sebagai dosen pembimbing kedua yang selalu memberikan semangat, waktu, serta bimbingan dalam menyusun laporan tesis ini.
3. Dr. Awik Puji Dyah N., S.Si., M.Si. dan Dr. Enny Zulaika MP. selaku dosen penguji yang telah memberikan saran dan masukan untuk perbaikan penulisan laporan tesis ini supaya menjadi lebih baik.
4. Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan yang telah memberikan sarana dan prasarana dalam penyelesaian laporan tesis ini.
5. Serta semua pihak yang mendukung lancarnya pelaksanaan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tesis ini masih jauh dari sempurna. Kritik dan saran yang membangun sangat berarti bagi penulis. Penulis berharap semoga Tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pembaca. Akhir kata, semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan hidayahNya kepada kita semua. Amin.

Surabaya, 30 Januari 2018

Maharani Lukitasari

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”.*

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
ABSTRAK .....	v
ABSTRACT .....	vii
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	4
1.3. Batasan Masalah .....	4
1.4. Tujuan Penelitian .....	5
1.5. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI</b>	
2.1 Diabetes Mellitus .....	7
2.2 Gangguan Sekresi dan Resistensi Insulin pada DM Tipe 2.....	10
2.3 Etnofarmakologi dan Senyawa Bioaktif Etnofarmaka Indonesia (SBEI).....	11
2.4 Pengobatan Diabetes Mellitus .....	12
2.4.1 Inhibitor Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4).....	13
2.4.2 Inhibitor Sodium Glucose co-Transporter-2 (SGLT2).....	15
2.5 Penambatan Molekuler.....	17
2.6 <i>Lipinski's Rule of Five</i> .....	19
2.7 Interaksi Ikatan.....	19
2.7.1 Ikatan Ion .....	20
2.7.2 Ikatan Hidrogen.....	20
2.7.3 Interaksi Van Der Waals .....	20
2.7.4 Interaksi Dipol-Dipol.....	20
2.7.5 Ikatan Kovalen .....	21
2.8 Protein Data Bank .....	21
2.9 Autodock Vina .....	21
2.10 PyMol.....	22
2.11 Open Babel .....	22

<b>BAB III METODA PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	23
3.2 Metode yang Digunakan.....	23
3.2.1 Studi Literatur, prediksi potensi senyawa, dan penyusunan database SBTEI-AD.....	23
3.2.2 Penyiapan struktur 3D protein target (DPP4 dan SGLT2) .....	23
3.2.3 Penyiapan struktur 3D ligan .....	24
3.2.4 Docking molekuler dan validasi metode docking .....	24
3.2.5 Analisis dan visualisasi docking molekuler .....	25
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Hasil Studi Literatur Penentuan (SBTEI-AD) .....	27
4.2 Hasil Studi Literatur Daya serap SBTEI-AD dalam Usus Manusia .....	33
4.3 Hasil Penyiapan Struktur 3D Protein Target untuk Docking Molekular	34
4.4 Hasil Analisa SBTEI-AD sebagai obat antidiabetes menggunakan Docking Molekuler .....	36
4.4.1 Analisis Afinitas ikatan antara ligan SBTEI-AD dengan DPP-4 dan SGLT2.....	37
4.4.2 Analisis interaksi non kovalen antara ligan SBTEI-AD dengan DPP-4 dan SGLT2.....	40
<b>BAB 5 KESIMPULAN</b> .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	49
<b>LAMPIRAN</b> .....	53

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil studi literatur 16 jenis tanaman yang mengandung SBTEI-AD ..	28
Tabel 4.2 Hasil studi aktivitas biologis dan struktur kimia SBTEI-AD .....	29
Tabel 4.3 Data studi literatur <i>Human Intestinal Absorption</i> (HIA) SBTEI-AD...	32
Tabel 4.4 Analisa interaksi non kovalen antara ligan SBTEI-AD dengan DPP4.	38
Tabel 4.5 Analisa interaksi non kovalen antara ligan antara SBTEI-AD dengan SGLT2.....	41

*“Halaman Sengaja dikosongkan”.*

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Rumus struktur Sitagliptin, Vidagliptin, dan Saxagliptin .....	15
Gambar 2.2 Penanganan glukosa ginjal .....	16
Gambar 2.3 SGLT-2 memediasi reabsorpsi glukosa di ginjal .....	16
Gambar 2.4 Rumus struktur Dapagliflozin, Canagliflozin, dan Empagliflozin ....	17
Gambar 2.5 Prinsip docking molekuler .....	18
Gambar 4.1 Struktur 3D DPP4 dengan identitas 4A5S .....	33
Gambar 4.2 Struktur 3D SGLT2 hasil <i>homology modeling</i> .....	34
Gambar 4.3 Visualisasi 3D interaksi ikatan non kovalen antara DPP4 dengan ligan SBTEI-AD.....	40
Gambar 4.4 Visualisasi 3D interaksi ikatan non kovalen antara SGLT2 dengan ligan SBTEI-AD.....	43
Gambar 4.5 Tumbuhan Mengkudu ( <i>Morinda citrifolia</i> ) .....	44
Gambar 4.6 Tumbuhan johar ( <i>Cassia siamea</i> ).....	45

*“Halaman Sengaja dikosongkan”.*

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Skema Kerja .....	53
Lampiran 2 Daftar Tanaman Etnofarmaka Indonesia Berpotensi Antidiabetes....	55
Lampiran 3 Proses penyiapan struktur 3D protein DPP4 dan SGLT2 .....	59
Lampiran 4 Visualisasi 3D interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan DPP4.....	61
Lampiran 5 Visualisasi 3D interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan SGLT2 .....	67

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia yaitu peningkatan glukosa darah dari rentang kadar puasa normal 80 – 90 mg/dl darah, atau rentang non puasa sekitar 140 – 160 mg /100 ml darah. DM diklasifikasikan menjadi empat tipe, DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional, dan DM yang berhubungan dengan keadaan atau sindrom lainnya. DM tipe 1 disebabkan oleh penghancuran autoimun sel  $\beta$  penghasil insulin pada pulau Langerhans di pankreas. Massa sel  $\beta$  kemudian menurun dan sekresi insulin menjadi semakin terganggu Ekspresi DM tipe 1 dipicu oleh interaksi genetik dan lingkungan. Sedangkan DM tipe 2 merupakan hasil dari gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin. Resistensi insulin atau kurangnya aksi insulin pada jaringan target merupakan dasar dari kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein pada diabetes (Corwin, 2009).

DM tipe 2 merupakan penyakit yang dominan ditemukan di masyarakat Indonesia dan dunia. Dari seluruh penderita diabetes, 90-95% mengalami DM tipe 2 dan kebanyakan dari penderitanya mengalami obesitas. Obesitas dan kelebihan berat badan bahkan meningkatkan resiko diabetes karena jaringan adiposa terutama pada abdominal bertindak sebagai organ endokrin pensекреksi mediator kimia yang meningkatkan resistensi insulin dan inflamasi (Fowler, 2007).

Pada umumnya, pengobatan DM 2 dilakukan dengan pengaturan diet, terapi insulin, dan pemberian obat antidiabetik oral. Beberapa kelas obat antidiabetik oral yang telah dikembangkan antara lain sulfonilurea, inhibitor alpha-glukosida, biguanid, meglitinid, inhibitor *dipeptidyl peptidase-4* DPP-4, inhibitor *sodium glucose co-transporter-2* (SGLT2), agonis *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ), dan thiazolidinedione (Sheehan, 2003). Setiap kelas obat

memiliki target, mekanisme kerja, dan efek samping masing-masing. Inhibitor DPP-4 dan SGLT2 diketahui tidak memiliki efek samping yang serius terhadap organ-organ tubuh lainnya, selain itu juga memiliki resiko rendah hipoglikemia dan obesitas. Inhibitor DPP-4 adalah obat antidiabetik yang bekerja menghambat enzim DPP-4 di membran lumen usus halus. DPP-4 mampu memecah hormon inkretin, yaitu hormon yang menstimulus sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin (Guasch, 2012).. Sedangkan inhibitor SGLT2 bekerja menghambat aktivitas SGLT2 dalam proses reabsorpsi glukosa di ginjal sehingga kelebihan glukosa dibuang melalui urin (Zou *et al.*, 2017). Penghambatan aktivitas DPP-4 akan memperhatikan kadar insulin yang dihasilkan pankreas, dan penghambatan SGLT2 akan mengurangi kelebihan glukosa darah. Dua kelas obat tersebut merupakan pilihan yang tepat dalam pengobatan DM tipe 2. Mengingat DM tipe 2 dapat menyebabkan berbagai komplikasi, maka untuk pencegahan dan pengobatan juga diperlukan terapi yang aman dan minim efek samping. Salah satunya melalui pengobatan berbasis etnofarmakologi.

Etnofarmakologi adalah ilmu yang mempelajari tentang kegunaan tumbuhan yang memiliki efek farmakologi dalam hubungannya dengan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan oleh suatu suku bangsa. Pengobatan berbasis tumbuhan telah menjadi tradisi dan budaya suatu etnis di berbagai wilayah di dunia (Sukenti *et al.*, 2004). Tidak hanya etnis-etnis lokal di wilayah yang jauh dari pusat kesehatan, masyarakat modern di negara maju juga mengenal pengobatan tradisional. Senyawa kimia bahan baku obat tradisional tersebut merupakan metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan. Beberapa metabolit sekunder antara lain alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin, polifenolat dan kuinon (Ajizah, 2004).

Salah satu etnofarmaka untuk terapi DM tipe 2 adalah buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang kerap digunakan oleh masyarakat Jawa. Senyawa-senyawa flavonoid mahkota dewa seperti fevicordin, mirisetin, quercetin terbukti memiliki aktivitas antidiabetik lebih baik dari acarbose, salah satu obat antidiabetik komersial (Rachmania *et al.*, 2015). Meskipun penemuan dan perkembangan obat-obatan di bidang farmasi telah berkembang pesat, namun kebutuhan akan senyawa

baru yang berpotensi tinggi untuk melawan berbagai penyakit dengan prevalensi tinggi seperti diabetes masih menjadi tantangan besar.

Sebagai negara dengan megabiodiversitas, Indonesia memiliki 30.000 spesies tumbuhan dari 40.000 spesies tumbuhan di dunia. Pewarisan pengetahuan tradisional tentang tumbuhan obat sebagian besar masih dilakukan secara lisan. Beberapa penelitian ilmiah tentang potensi obat tradisional dibidang kesehatan telah banyak dikembangkan di Indonesia. Hasilnya, sebanyak 300 spesies tanaman telah digunakan sebagai bahan obat oleh industri obat tradisional. Namun demikian, jumlah tersebut hanya sekitar 3.5% dari 9.600 spesies tanaman yang telah dimanfaatkan untuk kesehatan dan obat oleh 400 ragam etnis di Indonesia, sedangkan sisanya belum teridentifikasi dengan ilmiah (Wiwaha, 2012). Hal ini diduga karena proses skrining obat masih banyak menggunakan metode *in situ* dan *in vitro* yang memerlukan proses analisa yang relatif lama. Maka dari itu pada penelitian ini dilakukan skrining virtual, yaitu penyeleksian senyawa menggunakan metode komputasi docking molekuler.

Aplikasi pembuatan database berbasis skrining komputasi (docking) telah menjadi semakin populer dalam penelitian farmasi. Melalui docking molekuler, potensi obat suatu senyawa bioaktif dapat ditemukan lebih cepat. Docking adalah metode komputasi pendisainan obat berbasis struktur yang bertujuan meniru peristiwa interaksi molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya. Prinsip docking adalah teknik penambatan ligan ke sisi aktif reseptor yang dilanjutkan dengan evaluasi molekul berdasarkan kecocokan konformasi struktur dan sifat elektrostatik. Informasi yang didapat dari docking dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan atau afinitas ikatan, energi bebas, dan kestabilan kompleks antara protein dan ligan kandidat obat (Kroemer, 2003).

Pengintegrasian aktivitas senyawa bioaktif dengan protein target melalui virtual skrining dapat digunakan untuk menentukan senyawa bioaktif tanaman obat tradisional di Indonesia yang berpotensi sebagai obat antidiabetik tipe 2 kelas inhibitor DPP-4 dan SGLT2. Pada penelitian ini dilakukan docking molekuler menggunakan *software* PyRx, dengan metode Vina. ligan yang digunakan adalah 16

Senyawa Bioaktif Tanaman Etnofarmaka Indonesia yang diduga berpotensi antidiabetes (SBTEI-AD). 16 tanaman tersebut dianggap cukup representatif untuk mewakili etnofarmakologi di lima pulau terbesar di Indonesia. Sedangkan protein targetnya meliputi DPP-4 dan SGLT2. Docking molekuler dilakukan untuk mendapatkan informasi mengenai interaksi aktivitas ligan terhadap protein target. Selain itu juga untuk mendapatkan visualisasi makromolekul kompleks ligan dan protein target. Pada penelitian ini digunakan sitagliptin dan canagliflozin sebagai senyawa pembanding. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat diperoleh database senyawa baru obat antidiabetik tipe 2 yang potensial, stabil, aman, serta memiliki aktivitas penghambatan DPP-4 dan SGLT2.

## **1.2 Perumusan Masalah**

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana afinitas dan interaksi pengikatan hasil docking molekuler ligan (16 SBTEI-AD) terhadap protein target (DPP-4 dan SGLT2), dibandingkan dengan senyawa pembanding (sitagliptin dan canagliflozin)?
2. Senyawa tanaman apa yang paling berpotensi sebagai obat antidiabetes melalui penghambatan DPP4 dan SGLT2, ditinjau dari afinitas dan interaksi pengikatan hasil docking molekuler ligan (16 SBTEI-AD) terhadap protein target (DPP-4 dan SGLT2)?

## **1.3 Batasan Masalah**

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Ligan yang digunakan adalah 16 Senyawa Bioaktif Tanaman Etnofarmaka Indonesia yang diduga berpotensi sebagai antidiabetes (SBTEI-AD).
2. Reseptor yang digunakan adalah DPP-4 dan SGLT2.

3. Senyawa pembanding yang digunakan adalah obat komersial inhibitor DPP4 dan SGLT2 yaitu Sitagliptin dan Canagliflozin.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan informasi afinitas dan interaksi pengikatan hasil docking molekuler ligan (16 senyawa SBTEI-AD) terhadap protein target (DPP-4 dan SGLT2), dibandingkan dengan senyawa pembanding (sitagliptin dan canagliflozin).
2. Mendapatkan informasi senyawa tanaman yang paling berpotensi sebagai obat antidiabetes melalui penghambatan DPP4 dan SGLT2, ditinjau dari afinitas dan interaksi pengikatan hasil docking molekuler ligan (16 SBTEI-AD) terhadap protein target (DPP-4 dan SGLT2)

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Hasil yang diperoleh dapat memberikan informasi tentang database senyawa tanaman baru obat antidiabetik tipe 2 yang potensial, stabil, aman, serta memiliki aktivitas penghambatan DPP-4 dan SGLT2.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI**

#### **2.1. Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu kelainan metabolik kronis yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia yaitu peningkatan glukosa darah dari rentang kadar puasa normal 80 – 90 mg / dl darah, atau rentang non puasa sekitar 140 – 160 mg /100 ml darah. Salah satu penyebabnya adalah penurunan hormon insulin yang diproduksi oleh sel Kadar  $\beta$  pancreas. Hormon ini berperan dalam metabolisme glukosa, khususnya sebagai perantara masuknya glukosa dalam darah ke sel dan jaringan target yaitu otot dan lemak (Corwin, 2001).

Secara normal, insulin dan hormon lainnya dilepaskan sebagai respon kenaikan kadar glukosa darah. Hormon tersebut mengaktifkan penyimpanan seluler glukosa, asam amino, dan trigliserida pada sel target, termasuk hati, otot, dan lemak. Pada penderita diabetes, terjadi ketiadaan respon insulin dan resistensi seluler terhadap insulin, yang menyebabkan tingginya kadar glukosa darah. Insulin yang menurun mengakibatkan turunnya jumlah glukosa yang masuk kedalam sel sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat. Kompensasinya, tubuh akan meningkatkan glukagon sehingga terjadi proses glukoneogenesis. Selain itu tubuh akan menurunkan penggunaan glukosa oleh otot, lemak dan hati serta peningkatan produksi glukosa oleh hati dengan pemecahan lemak (Joshi *et al.*, 2007).

Kenaikan kadar glukosa darah jangka lama berasosiasi dengan komplikasi makro dan mikrovaskular yang memicu penyakit jantung, stroke, kebutaan, dan penyakit ginjal (Loghmani, 2005). Selain hiperglikemia, ada beberapa faktor yang berperan dalam patogenesis diabetes seperti hiperlipidemia dan stress oksidatif yang memicu resiko komplikasi tinggi (Kangralkar *et al.*, 2010). Selain itu, faktor pola makan, obesitas, genetik, bahan kimia dan obat-obatan juga turut mempengaruhi berkembangnya penyakit ini.

Diabetes mellitus diklasifikasikan menjadi empat tipe yaitu

1. DM tipe 1 dikenal sebagai *insulin-dependent diabetes* disebabkan oleh penghancuran autoimun sel  $\beta$  penghasil insulin pada pulau Langerhans di pankreas. Massa sel  $\beta$  kemudian menurun dan sekresi insulin menjadi semakin terganggu Ekspresi DM tipe 1 ditrigger oleh interaksi genetik dan lingkungan (Corwin, 2009).

DM tipe 1 berkembang sebagai akibat dari faktor genetik, lingkungan, dan faktor imunologi yang menghancurkan sel-sel  $\beta$  pancreas. Gejala DM tidak akan muncul pada seorang individu hingga  $\pm$  80% sel  $\beta$  pankreas dihancurkan (Fauci et al., 2009).

Berdasarkan studi yang ada didapatkan berbagai gen yang dapat memicu timbulnya DM tipe 1. Gen yang paling berpengaruh adalah lokus HLA pada kromosom 6p21. Sekitar 50% penderita DM tipe 1 memiliki HLA-DR3 atau HLA-DR4 haplotype. Beberapa gen non-HLA yang dapat memicu timbulnya DM tipe 1 adalah insulin dengan variable number of tandem repeats (VNTRs) pada region promoter. Polimorfisme dari CTLA4 dan PTPN22 mengganggu fungsi aktivitasnya sebagai inhibitor respon sel T dapat memicu proses autoimun pada DM tipe 1 (Maitra et al., 2005).

Di antara sekian banyak jenis sel pankreas, hanya sel  $\beta$  yang dihancurkan oleh sistem imun. Walaupundemikian tipe sel islet lain seperti sel  $\alpha$  yang memproduksi glukagon, sel  $\delta$  yang memproduksi somatostatin, dan sel PP yang memproduksi polipeptida pankreas, masih berfungsi. (Fauci et al., 2009).

Dasar dari abnormalitas imun pada DM tipe 1 adalah kegagalan dari self-tolerance sel T. Kegagalan toleransi ini dapat disebabkan oleh defek delesi klonal pada sel T self-reactive pada timus, defek pada fungsi regulator atau resistensi sel T efektor terhadap supresi sel regulator. Hal-hal tersebut membuat sel T autoreaktif bertahan dan siap untuk berespon

terhadap self-antigen. Aktivasi awal dari sel tersebut terjadi pada nodus limfe peripankreatik sebagai respon terhadap antigen yang dilepaskan dari sel Pulau Langerhans yang rusak. Sel T yang teraktivasi bergerak ke pancreas kemudian merusak sel  $\beta$ . Populasi sel T yang dapat menyebabkan kerusakan tersebut adalah TH1 cells (merusak dengan mensekresi sitokin) dan CD8+ CTLs (Fauci et al., 2009).

2. DM tipe 2 dikenal dengan *non-insulin-dependent diabetes* merupakan hasil dari gangguan sekresi insulin dan resistensi insulin. Resistensi insulin atau kurangnya aksi insulin pada jaringan target merupakan dasar dari kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein pada diabetes (Corwin, 2009).
3. DM gestasional, adalah diabetes yang terjadi pada wanita hamil yang sebelumnya tidak mengidap diabetes (Corwin, 2009).
4. DM yang berhubungan dengan keadaan atau sindrom lainnya, seperti penyakit pankreas dan kelainan genetik pada kerja insulin (Corwin, 2009).

Dari seluruh penderita diabetes, 90-95% mengalami DM tipe 2 dan kebanyakan dari penderitanya mengalami obesitas. Obesitas dan kelebihan berat badan bahkan meningkatkan resiko diabetes karena jaringan adiposa terutama pada abdominal bertindak sebagai organ endokrin pensекреksi mediator kimia yang meningkatkan resistensi insulin dan inflamasi (Fowler, 2007). Sedangkan prevalensi DM tipe 1 hanya sekitar 5-10% dari penderita diabetes segala umur, bahkan pada anak-anak dan remaja, Tingkat kehancuran sel  $\beta$  cukup bervariasi, menjadi cepat pada beberapa individu (terutama bayi dan anak-anak) dan lambat pada orang lain (terutama dewasa). Kehancuran autoimun sel  $\beta$  memiliki beberapa kecenderungan genetik dan juga terkait dengan faktor lingkungan yang masih buruk (American Diabetes Association, 2012).

## 2.2 Gangguan Sekresi dan Resistensi Insulin pada DM tipe 2

Sekresi insulin pada orang normal /non diabetes meliputi 2 fase,yaitu :

- (a) Fase 1/fase dini/*acute insulin secretion responsse (AIR)* merupakan sekresi insulin yang terjadi ketika adanya rangsangan terhadap sel beta, terjadi dalam 3-10 menit pertama setelah makan. Sekresi fase 1 mempunyai puncak yang relatif tinggi untuk mengantisipasi kadar glukosa yang meningkat setelah makan (*postprandial spike*) (Guyton, 2014).
- (b) Fase 2/*sustained phase/ latent phase*, sekresi insulin mulai meningkat perlahan dan bertahan dalam waktu yang relatif lebih lama. Seberapa tinggi puncaknya akan ditentukan dari seberapa besar kadar glukosa darah di akhir fase 1. Dengan kata lain, terjadi mekanisme kompensasi dalam respons dari fase 2 terhadap sekresi insulin pada fase 1. Apabila sekresi insulin fase 1 tidak adekuat, maka dikompensasi dengan peningkatan sekresi fase 2, agar glukosa darah tetap dalam keadaan normal (Guyton, 2014).

Pada DM tipe 2, gangguan sekresi dan fungsi insulin bermanifestasi melalui tiga mekanisme, yaitu :

- (a) Hilangnya sekresi insulin tahap pertama, berakibat pada tidak adanya sekresi insulin untuk menetralkan glukosa darah prandial.
- (b) Penurunan sentifitas sekresi insulin sebagai respons terhadap glukosa, sehingga hiperglikemia gagal memberikan stimulus pada sekresi insulin yang normal.
- (c) Penurunan dari kapasitas insulin terjadi secara progresif (Mayfield & White, 2004; Skyler, 2004).

Resistensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan pre reseptor, reseptor dan post reseptor. Gangguan pre reseptor dapat disebabkan oleh antibodi insulin dan gangguan pada insulin. Gangguan reseptor dapat disebabkan oleh jumlah reseptor yang kurang atau kepekaan reseptor yang menurun. Sedangkan gangguan post reseptor disebabkan oleh gangguan pada proses fosforilasi dan pada signal transduksi di dalam sel otot. Daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah pada postreseptor sel target di jaringan otot rangka dan sel hati. Kerusakan post reseptor ini

menyebabkan kompensasi peningkatan sekresi insulin oleh sel  $\beta$ , sehingga terjadi hiperinsulinemi pada keadaan puasa maupun postprandial (Groop, 1999; Henry, 2003).

### **2.3 Etnofarmakologi dan Senyawa Bioaktif Etnofarmaka Indonesia (SBEI)**

Etnofarmakologi adalah ilmu yang mempelajari tentang kegunaan tumbuhan yang memiliki efek farmakologi dalam hubungannya dengan pengobatan dan pemeliharaan kesehatan oleh suatu etnis ataupun suku bangsa. Etnofarmakologi biasa disebut pengobatan tradisional, suatu pengobatan yang mengacu pada pengalaman dan keterampilan turun temurun dan diterapkan sesuai dengan norma yang berlaku dalam masyarakat. Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (gelenik) atau campuran dari bahan tersebut secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Zukulfi, 2004).

Sebagai negara dengan megabiodiversitas, Indonesia memiliki 30.000 spesies tumbuhan dari 40.000 spesies tumbuhan di dunia. Sebanyak 300 spesies tanaman telah digunakan sebagai bahan obat oleh industri obat tradisional. Namun demikian, jumlah tersebut hanya sekitar 3.5% dari 9.600 spesies tanaman yang telah dimanfaatkan untuk kesehatan dan obat oleh 400 ragam etnis di Indonesia, sedangkan sisanya belum teridentifikasi dengan ilmiah (Wiwaha, 2012).

Berbagai senyawa kimia bahan baku obat merupakan metabolit sekunder yang berasal dari tumbuhan. Metabolit sekunder merupakan senyawa organik yang tidak secara langsung berhubungan dengan pertumbuhan, perkembangan dan reproduksi tumbuhan (Wink, 1987). Beberapa metabolit sekunder antara lain adalah alkaloid, flavonoid, tanin, steroid, saponin, polifenolat dan kuinon. Dalam dunia medis, tanin memiliki kemampuan antibakteri karena dapat merusak membran sel, menginaktivasi enzim dan menginaktivasi atau menghancurkan fungsi materi genetik bakteri. Selain antibakteri, tanin juga mampu menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur, serta mempercepat penyembuhan luka (Chung *et al.*, 1998). Steroid merupakan

komponen aktif dalam tumbuhan yang telah digunakan untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, antibakteri dan antivirus. Di bidang farmasi, steroid banyak dimanfaatkan terkait fungsinya pada hormon reproduksi (Savithamma *et al.*, 2011). Di bidang farmasi dan medis, flavonoid berfungsi sebagai antimikroba, antivirus, antioksidan, antihipertensi, merangsang pembentukan estrogen dan mengobati gangguan fungsi hati. Mukherjee dalam Meshram, *et al.*, 2013 juga melaporkan bahwa flavonoid berperan penting dalam aktivitas antidiabetes, yaitu menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan. Lima bentuk flavonoid, yaitu myrciacitrin I-V yang diisolasi dari daun *Myrcia multiflora* D.C (Myrtaceae) semuanya menunjukkan aktivitas antidiabetes (Jung, *et al.*, 2006).

Contoh penggunaan tumbuhan sebagai obat tradisional antara lain *Alstonia scholaris* yang dikenal etnis Dayak Meratus dengan nama lokal Pulantan / Pulai. Pohon ini dimanfaatkan sebagai obat bisul dengan menggunakan getah dari batang maupun daun. Meskipun pada etnis ini penggunaan getah *Alstonia scholaris* untuk bisul, sebenarnya jenis ini telah dimanfaatkan oleh berbagai etnis untuk mengobati berbagai penyakit, diantaranya berpotensi sebagai antidiabetes. Etnis dayak Meratus juga memanfaatkan kayu manis tidak hanya sebagai bahan rempah penyedap masakan dan minuman saja. Kayu manis juga digunakan untuk pengobatan diantaranya sebagai antimikroba, antidiare, antidiabetes, demam hingga influenza. Contoh lainnya adalah buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) yang kerap digunakan oleh masyarakat Jawa. Senyawa-senyawa flavonoid mahkota dewa seperti fevicordin, mirisetin, quercetin terbukti memiliki aktivitas antidiabetik lebih baik dari acarbose, salah satu obat antidiabetik komersial (Rachmania *et al.*, 2015).

#### **2.4 Pengobatan Diabetes Mellitus**

Pada umumnya, pengobatan DM 2 dilakukan dengan pengaturan diet, terapi insulin, dan pemberian obat antidiabetik oral. Terapi farmakologis yang telah ada berperan mengurangi resistensi insulin, meningkatkan sekresi insulin, memperlambat

pencernaan karbohidrat, mempertahankan produksi glukagon, dan memberikan insulin eksogen.

Obat-obat yang saat ini digunakan dalam manajemen terapi DM tipe 2 dapat dikategorikan menjadi tiga kelompok. Kelompok pertama bekerja dengan cara meningkatkan ketersediaan insulin endogen. Contohnya adalah sulfonilurea seperti glibenklamid, glinida, analog insulin, agonis *glucagon-like peptide 1* (GLP-1), dan inhibitor *dipeptidyl peptidase-IV* (DPP-IV). Kelompok kedua memiliki mekanisme kerja meningkatkan sensitivitas insulin, misalnya thiazolidindione yang merupakan agonis *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR $\gamma$ ) dan biguanid metformin. Sedangkan kelompok ketiga adalah inhibitor  $\alpha$ -glukosidase seperti akarbose yang bekerja dengan menurunkan digesti polisakarida (Sheehan, 2003).

#### **2.4.1 Inhibitor Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4)**

DPP-4 adalah suatu serin protease yang terdistribusi secara luas dalam tubuh. Enzim ini memecah dua asam amino dari peptida kecil yang mengandung alanin atau prolin di posisi kedua peptida N-terminus. Enzim ini terikat pada membran yang terdapat dalam sirkulasi dan terdapat dalam berbagai jaringan seperti saluran gastrointestinal, hepar, ginjal, limfosit, dan sel endothelium (Seino *et al.*, 2010).

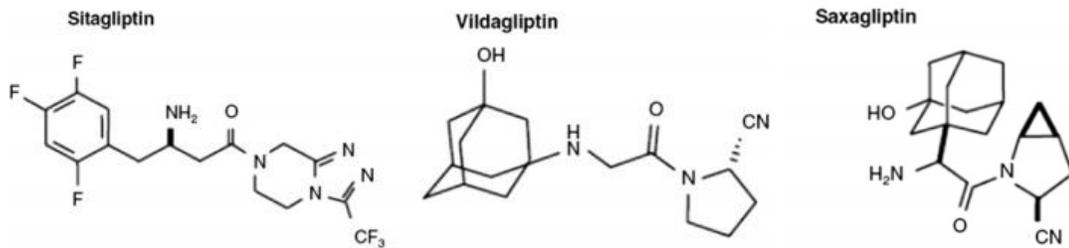
DPP-4 diketahui mampu memecah hormon inkretin, yaitu hormone yang terdiri dari *Glucagon-like-peptide-1* (GLP-1) dan *glucose-dependent insulintropic polypeptide* (GIP) yang dilepaskan oleh sel endokrin dalam membran lumen usus halus sebagai respon tingginya kadar glukosa darah untuk menstimulasi sekresi insulin. GLP 1 dilepaskan dari *L-cell* ileum sebagai respon terhadap nutrisi yang masuk, kemudian melakukan beberapa aksi antara lain menstimulasi biosintesis dan sekresi insulin, mengurangi pelepasan glukagon, memperlambat pengosongan lambung, mengurangi nafsu makan, dan menstimulasi regenerasi sel- $\beta$  pankreas. Sedangkan GIP diproduksi oleh *K-cell* usus untuk terlibat dalam metabolisme glukosa melalui peningkatan sekresi insulin. Kedua peptida tersebut memiliki waktu paruh hidup pendek akibat degradasi yang cepat oleh DPP-4 (Guasch, 2012).

GIP dan GLP-1 berikatan dengan reseptornya di sel beta pankreas dan akan menghasilkan efek inkretin. Paruh waktu dari GIP dan GLP-1 cukup singkat (Baggio *et al.*, 2007). GIP mempunyai paruh waktu 4-5 menit dan GLP-1 mempunyai paruh waktu 2-3 menit, dengan memotong 2 asam amino NH<sub>2</sub> terminal dan hanya sekitar 10-15% yang beredar dalam sirkulasi yang secara aktif merangsang pankreas.

Hubungan antara kadar glukosa, sekresi inkretin, dan sekresi insulin dikenal dengan istilah enteroinsular axis, yang berperan terhadap sekitar 50% sekresi insulin postprandial. Peranan inkretin dalam pengaturan kadar glukosa darah, karena adanya efek inkretin. Yang dimaksud dengan efek inkretin apabila ada beban glukosa yang diberikan secara oral, maka jumlah insulin yang disekresi oleh sel beta pankreas lebih banyak bila dibandingkan dengan pemberian beban glukosa yang sama secara intravena (Campbell *et al.*, 2013). Perbedaan tersebut disebabkan karena adanya rangsangan dari glukosa yang diberikan secara oral pada usus untuk mensekresi hormon inkretin. Hormon inkretin selanjutnya akan meningkatkan sekresi insulin melalui aktivasi reseptornya yang spesifik pada sel beta pankreas (Vilsbøll *et al.*, 2004). Pada penderita DM tipe 2 terjadi kekurangan sekresi hormon inkretin, yang berakibat pada penurunan efek inkretin sehingga keseimbangan glukagon dan insulin terganggu (Kim *et al.*, 2008). Hal tersebut merupakan tanda awal dari gangguan metabolisme glukosa dan adanya resistensi insulin yang berkontribusi terhadap penurunan fungsi dari sel beta, sehingga memperparah keadaan DM tipe 2 (Opinto *et al.*, 2013).

Inhibitor DPP-4 dapat menghambat inaktivasi inkretin, sehingga memperpanjang aksi GLP 1 dan GIP untuk menjaga homeostasis glukosa dengan resiko rendah hipoglikemia (Guasch, 2012). Inhibitor DPP-4 yang pertama dipasarkan adalah sitagliptin (oleh Merck & Co.), kemudian diikuti oleh vidagliptin (oleh Novartis) dengan struktur yang mirip, dan saxagliptin (oleh Bristol-Myers Squibb and AstraZeneca). Struktur inhibitor DPP-4 ditampilkan dalam Gambar 2.1. Berbeda dari sulfonilurea dan obat antidiabets lainnya, inhibitor DPP-4 tidak memiliki resiko

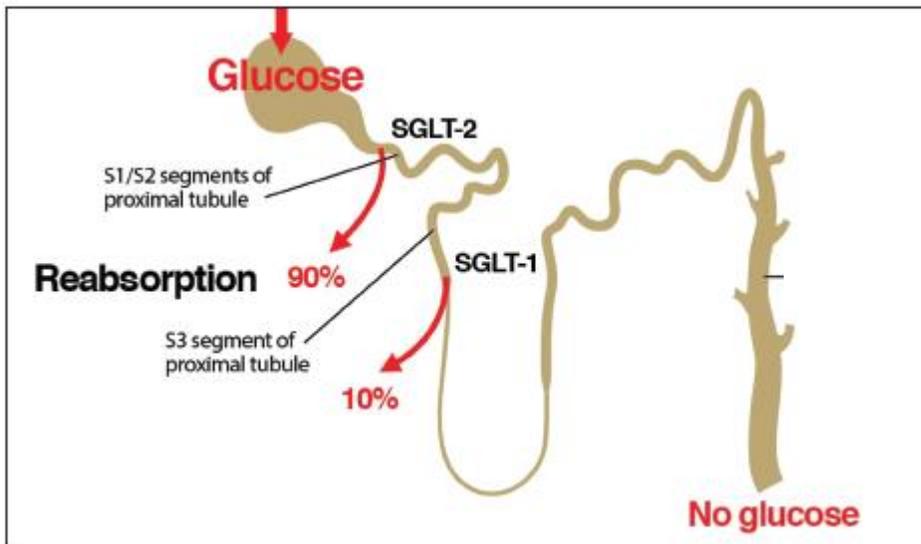
intrinsik hipoglikemia, selain itu juga tidak menyebabkan penambahan berat badan (Guasch, 2012).



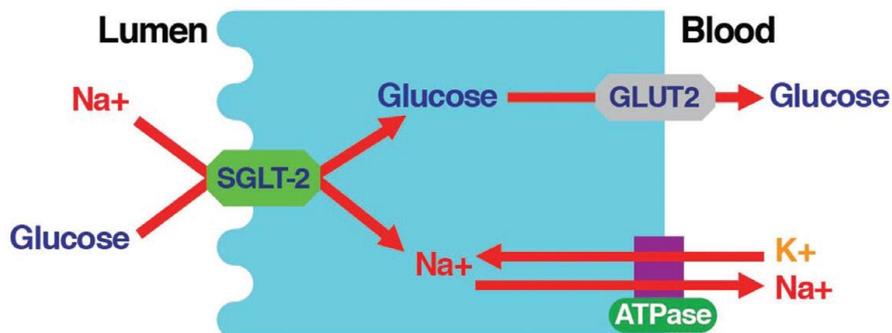
Gambar 2.1 Rumus struktur Sitagliptin, Vidagliptin, dan Saxagliptin (Thornbery et al., 2009).

#### 2.4.2 Inhibitor Sodium Glucose co-Transporter-2 (SGLT2)

*Sodium glucose co-transporter 2* (SGLT2) merupakan sistem transpor dominan dalam reabsorpsi glukosa dari filtrasi glomerulus. Pada individu sehat, kontribusi ginjal terhadap glukoneogenesis sekitar 15-55 g/ hari, atau 20-25% dari glukosa yang dilepaskan dalam sirkulasi setelah puasa semalaman. Sekitar 180 g glukosa difiltrasi oleh glomerulus ginjal setiap hari dan hampir seluruh (99%) hasil filtrasi glukosa direabsorpsi dalam tubulus kontortus proksimal untuk dikembalikan ke plasma. Proses ini difasilitasi oleh transporer pasif *glucose transporter-2* (GLUT2) dan *sodium glucose co-transporters* (SGLTs) (Gambar 2.2). SGLTs mentranspor sodium dan glukosa ke dalam sel menggunakan gradien sodium yang dihasilkan pompa Na-K-ATPase pada membran sel basolateral. Glukosa kemudian ditranspor secara pasif oleh *glucose transporter-2* (GLUT2) sesuai dengan gradien konsentrasinya ke dalam ruang intersisial (Gambar 2.3).



Gambar 2.2 Penanganan glukosa ginjal (Wright, 2011).

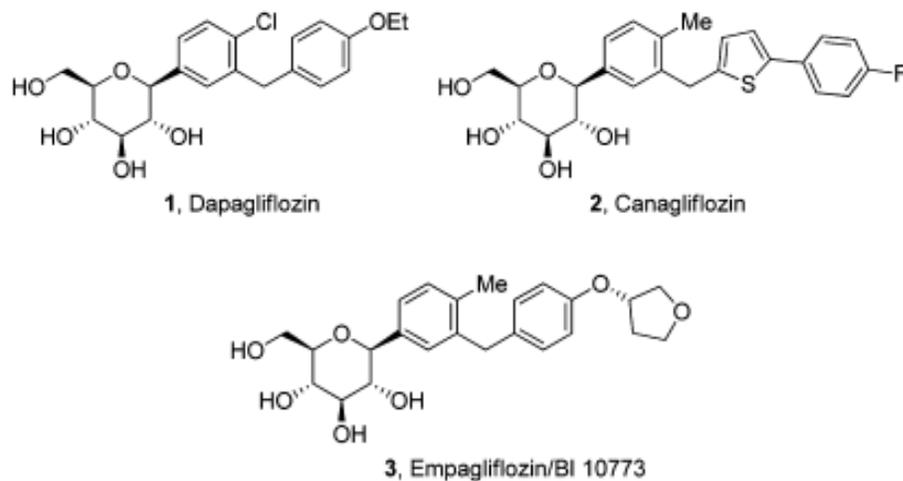


Gambar 2.3 SGLT-2 memediasi reabsorpsi glukosa di ginjal (Wright, 2011).

Penghambatan SGLT2 akan mendukung glukosuria, glukosa akan dikeluarkan bersama urin sehingga kadar glukosa darah turun. Inhibitor SGLT2 adalah kelas obat antidiabetik yang baru dikembangkan dengan mekanisme aksi yang unik. Senyawa pertama yang teridentifikasi sebagai inhibitor SGLT2 adalah phlorizin, yang diisolasi dari kulit kayu pohon apel. Beberapa jenis inhibitor SGLT2 yang telah beredar di pasaran antara lain dapagliflozin, canagliflozin, dan empagliflozin. Struktur inhibitor SGLT2 ditampilkan pada Gambar 2.4 Secara klinis inhibitor SGLT2 tidak

menunjukkan interaksi yang relevan antar obat, termasuk dengan obat antidiabetik dan diuretic. Obat ini dapat dikombinasikan dengan metformin, pioglitazone, sitagliptin, dan voglibose (Kalra, 2014). Sebagai terapi kombinasi yang diberikan pada pasien DM tipe 2, inhibitor SGLT2 menunjukkan efektivitas dalam:

- Menurunkan HbA1c
- Memperbaiki penurunan berat badan jika bersamaan dengan perbaikan gaya hidup dan diet
- Menurunkan tekanan darah sistolik
- Menurunkan kadar glukosa darah puasa

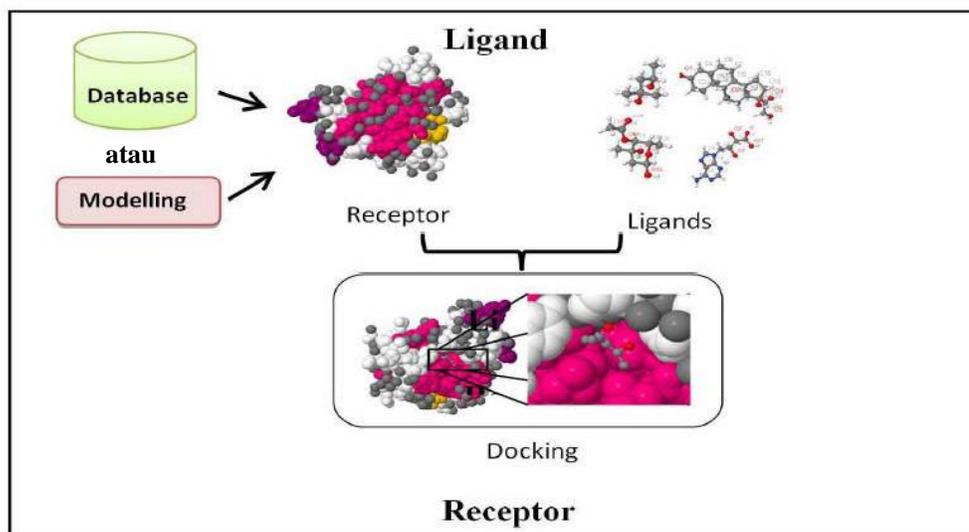


Gambar 2.4 Rumus struktur Dapagliflozin, Canagliflozin, dan Empagliflozin (Kalra, 2014).

## 2.5 Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Pendisainan obat secara *in silico* dengan *molecular docking* saat ini semakin populer dan menjadi bagian penting dalam dunia modern pengungkapan obat baru. Penambatan molekuler atau *molecular docking* adalah prosedur komputasional yang digunakan untuk memprediksi orientasi dari suatu ligan terhadap reseptor (protein) ketika terikat satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil

(Lengauer and Rarey, 1996). Prinsip docking seperti pada gambar 2.5 adalah menambatkan ligan ke sisi aktif reseptor yang dilanjutkan dengan evaluasi molekul berdasarkan kecocokan konformasi struktur dan sifat. Informasi yang didapat dari teknik penambatan dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan hubungan atau afinitas ikatan, energi bebas, dan kestabilan kompleks (Dar *et al.*, 2017). Hasil prediksi ikatan sangat penting dalam proses pendisainan dan pengembangan obat, sehingga uji *in silico* melalui docking molekuler sering dilakukan terlebih dahulu sebelum suatu senyawa kandidat obat diujikan secara *in vitro* supaya modifikasi ligan dan uji *in vitro* turunan-turunannya dapat berlangsung secara efisien.



Gambar 2.5 Prinsip docking molekuler (Dar *et al.*, 2017).

Praktik pengaplikasian program docking membutuhkan input data berupa struktur 3D protein dan ligan. Struktur 3D protein didapat dari protein data bank dengan format .pdb. Sedangkan ligan didapatkan dari beberapa database seperti ZINC, PubChem, atau dapat disketsa secara manual menggunakan Chem sketch tool. Untuk dapat digunakan sebagai bahan obat yang potensial, ligan harus memenuhi kriteria parameter *Lipinski's rule*. Parameter ini digunakan sebagai dasar *fragment base drug design*, yang mudah diabsorpsi oleh tubuh.

Keberhasilan penambatan tergantung pada dua komponen yaitu pencarian algoritma dan fungsi penilaian. Algoritma harus membuat angka konfigurasi optimum yang diterima oleh metode percobaan penentuan mode ikatan, sehingga terbentuk konformasi yang paling stabil dari pembentukan kompleks (Chaudary and Mishra, 2016). Sedangkan fungsi penilaian digunakan untuk memprediksi afinitas ikatan. Teori energi bebas Gibbs adalah salah satu yang mendasari identifikasi penilaian. Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk memiliki kompleks yang stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan tidak stabilnya kompleks yang terbentuk (Funkhouser, 2007).

## **2.6 Lipinski's Rule of Five**

*Lipinski's Rule of Five* juga dikenal sebagai *Pfizer's Rule of five* atau *Rule of five* (RO5) adalah aturan praktis untuk mengevaluasi obat atau menentukan apakah senyawa kimia dengan aktivitas farmakologi atau biologi tertentu memiliki sifat yang akan membuatnya menjadi obat yang aktif diberikan secara oral pada manusia. Aturan ini menjelaskan sifat molekul penting bagi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Lipinski, 2001 & Lipinski et al, 2004). Kriteria *Lipinski's Rule of Five* yaitu:

- Berat molekul kurang dari 500,
- Memiliki tidak lebih dari 5 gugus hidrogen donor,
- Memiliki tidak lebih dari 10 gugus hidrogen akseptor,
- Nilai logP tidak lebih dari 5.
- Molar refractivity sebaiknya diantara 40-130 (Lipinski, 2001 & Lipinski *et al.*, 2004).

## **2.7 Interaksi Ikatan**

Ada beberapa bentuk ikatan yang berperan dalam interaksi ligand dan makromolekul. Biasanya dalam bentuk interaksi ikatan intermolekular seperti ikatan

ion, ikatan hidrogen, ikatan van der waals, dan ikatan dipol-dipol. Beberapa obat juga membentuk ikatan kovalen terhadap targetnya (Patrick, 2001).

### **2.7.1 Ikatan Ion**

Ikatan ion terbentuk antara gugus – gugus yang memiliki muatan yang berlawanan dan sangat penting untuk beberapa interaksi ikatan obattarget. Beberapa pengantar pesan kimia alami tubuh berinteraksi melalui ikatan ion (Patrick, 2001).

### **2.7.2 Ikatan Hidrogen**

Ikatan ini terlibat dalam interaksi antara dua molekul, yang salah satunya bertindak sebagai donor dan yang lainnya sebagai akseptor. Hidrogen donor mengandung gugus fungsi yang mempunyai proton yang terikat pada atom elektronegatif. Atom elektronegatif memiliki bagian yang lebih besar dari elektron dalam ikatan hidrogen, sehingga membuat hidrogen sedikit bermuatan positif dan elektrofilik. Hidrogen akseptor mengandung elektronegatif atom seperti oksigen atau nitrogen. Ikatan hidrogen lebih lemah dari ikatan ion. (Patrick, 2001).

### **2.7.3 Interaksi Van Der Waals**

Interaksi van der waals adalah interaksi lemah yang muncul diantara gugus – gugus hidrofobik seperti cincin aromatik dan gugus alkil. Interaksi ini muncul disebabkan adanya fluktuasi acak dalam densitas elektron sehingga membentuk daerah sementara yang kaya elektron atau sedikit elektron. Daerah kaya elektron pada satu molekul akan menarik daerah yang elektronnya sedikit pada molekul lain. Interaksi ini lebih lemah dari ikatan ion dan ikatan hidrogen dan melibatkan molekul hidrogen netral (Patrick, 2001).

### **2.7.4 Interaksi Dipol-Dipol**

Momen dipol penting dalam orientasi molekul ketika berinteraksi dengan situs ikatan. Obat mempunyai momen dipol yang kemungkinan untuk menyelaraskan

dengan momen dipol lokal pada situs ikatan sehingga momen dipol sejajar dan dalam arah yang berlawanan. Momen dipol yang salah berorientasi bisa juga mengakibatkan penurunan aktivitas (Patrick, 2001).

### **2.7.5 Ikatan Kovalen**

Kebanyakan obat berinteraksi dengan targetnya menggunakan ikatan intermolekular. Namun, beberapa obat membentuk ikatan kovalen terhadap targetnya. Obat-obat yang mengandung gugus alkil halida dapat bertindak sebagai elektrofilik dan bereaksi dengan residu asam amino nukleofilik, seperti serin dan sistein, pada situs ikatan target, yang menyebabkan hubungan ireversibel antara obat dan target. Beberapa penghambat enzim dirancang untuk bekerja sebagai substrat dan untuk menjalani reaksi katalis enzim. Hal ini menyebabkan pembentukan hubungan kovalen antara obat dan enzim (Patrick, 2001).

## **2.8 Protein Data Bank**

Protein Data Bank (PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/>) merupakan website yang berisi kumpulan dokumen atau data eksperimental struktur 3D dari makromolekul biologis, termasuk protein dan asam nukleat. Molekul-molekul tersebut ditemukan pada hampir semua organisme termasuk bakteri, ragi, tanaman, lalat, manusia, dan lain-lain. Informasi pada website ini digunakan dalam membantu menyimpulkan peran dan struktur suatu molekul terhadap kesehatan manusia dan dalam pengembangan obat. data-data yang terdapat pada arsip ini mulai dari protein kecil dan potongan DNA sampai molekul kompleks seperti ribosom (RCSB, 2014).

## **2.9 Autodock Vina**

Autodock Vina adalah salah satu perangkat lunak yang tepat dan dapat diandalkan yang tersedia untuk penemuan obat, penambatan molekul dan skrining virtual yang dirancang dan dirapikan oleh Dr. Oleg Trott. Vina menawarkan fungsi yang beragam, tingkat kinerja tinggi dan meningkatkan akurasi untuk mempermudah

penggunaan. perangkat lunak ini dapat dioperasikan dengan bantuan AutoDock Tools (ADT) atau instruksi command line (Sandeep *et al.*, 2011).

## **2.10 PyMol**

PyMol merupakan salah satu program visualisasi yang digunakan untuk memahami suatu struktur biologi dan dapat menampilkan gambar tiga dimensi yang berkualitas dan mampu menyajikan tampilan struktur dalam beberapa warna dari suatu molekul kecil maupun makromolekul seperti protein. Perangkat lunak ini dikomersilkan oleh DeLano Scientific LLC (DeLano, 2004).

## **2.11 Open Babel**

Open babel adalah perangkat lunak untuk mengubah beberapa format berkas kimia. Selain itu, perangkat ini menyediakan berbagai fungsi berguna yaitu pencarian konformer dan penggambaran 2D, penapisan, konversi *batch*, dan pencarian substruktur dan kemiripan. Open babel mendukung 111 format berkas kimia, yang dapat membaca 82 format dan menulis 85 format (O'Boyle *et al.*, 2011).

## **BAB III**

### **METODA PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan selama bulan Oktober – Januari 2017 di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan jurusan Biologi ITS Surabaya.

#### **3.2 Metode yang Digunakan**

##### **3.2.1. Studi Literatur, prediksi potensi senyawa, dan penyusunan database SBTEI-AD**

Untuk menentukan ligan yang akan didocking, pada penelitian ini dilakukan studi literatur awal mengenai SBTEI-AD (Senyawa Bioaktif Tanaman Etnofarmaka Indonesia yang berpotensi sebagai antidiabetes) dari PubMed. Database SBEI diperoleh dari berbagai data flora Indonesia yang telah dikenal sebagai etnofarmaka. Kemudian dilakukan prediksi potensi senyawa (biological activity) menggunakan layanan online PASS SERVER (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/>) dan penyerapan obat di usus manusia (*Human Intestinal Absorption :HIA*). Dari studi literatur akan dipilih 16 SBTEI-AD sebagai ligan yang akan didocking dengan protein target *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4) dan *sodium glucose co-transporter-2* (SGLT2). Hasil docking tersebut akan dibandingkan dengan sitagliptin dan canagliflozin sebagai kontrol positif.

##### **3.2.2. Penyiapan struktur 3D protein target (DPP4 dan SGLT2)**

Langkah awal sebelum melakukan proses docking molekuler adalah penyiapan struktur makromolekul protein dan ligan yang akan digunakan. Pada tahap ini, struktur 3D protein target yang digunakan diunduh dari Protein Data Bank dengan situs <http://www.rcsb.org/>. Untuk protein target DPP4, data yang diunduh memiliki identitas 4A5S. 4A5S merupakan struktur kristal kompleks DPP4 dengan ligan inhibitor DPP4 heterosiklik yang terdapat pada manusia (*Homo sapiens*). Protein ini

terdiri dari dua rantai, yaitu rantai A dan B, pada masing-masing rantai memiliki 740 residu asam amino yang berikatan dengan N7F, SO4, MAN, dan NAG. kristal 4A5S diperoleh dari difraksi sinar-X dengan resolusi 1,62 Å. Struktur 3D DPP4 dioptimasi menggunakan perangkat lunak PyMol, dihilangkan molekul air, dipisahkan antara rantai A dan B, kemudian dipisahkan ligan natif yang masih berikatan dengan protein target.

Struktur 3D SGLT2 belum tersedia, sehingga dilakukan *homology modeling* menggunakan layanan online SWISS-MODEL (<http://swissmodel.expasy.org/>). Input data berupa sekuens SGLT2 dalam format FASTA. Dipilih satu model dengan sekuens identity lebih dari 30%, lalu diunduh. Setelah diunduh dibersihkan dari komponen lain menggunakan software pyMol. Struktur 3D DPP4 dan SGLT2 diunduh dalam format .pdb.

### 3.2.3 Penyiapan struktur 3D ligan

Struktur 3D ligan diunduh dari database senyawa PubChem dengan format .sdf. Sebelum *didocking*, ligan diminimisasi dengan program Open Babel di PyRx 0.8 untuk optimasi konformasi ligan. Kemudian hasil minimisasi disimpan dalam format .pdbqt supaya dapat digunakan sebagai input data ligan dalam proses docking dengan metode Vina di PyRx 8.0.

### 3.2.4 Docking molekuler dan validasi metode docking

Docking dilakukan dengan menggunakan program Autodock Vina di PyRx 8.0. Tahap pertama adalah memasukkan data struktur 3D protein target dan ligan. Kemudian menentukan *grid box* dengan koordinat (X,Y,Z) 13,5243; 35,2924; 55,2551 dan volume kotak 25 x 25 x 25 Å. Proses docking dapat dimulai dengan menekan tombol forward. Validasi metode docking dilakukan dengan melihat nilai (*Root Mean Square Deviation*) RMSD yang akan tampil setelah proses docking selesai. Metode yang digunakan dikatakan valid jika harga RMSD yang diperoleh  $\leq 2$  (Pebriana, *et al.*, 2008).

### **3.2.5 Analisis dan visualisasi docking molekuler**

Setelah proses docking selesai, akan tampil nilai  $\Delta G$  afinitas ikatan dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Visualisasi *docking* dilihat dengan menggunakan *software* Ligplot dan Pymol untuk mengetahui jenis ikatan dan residu apa saja yang terikat pada interaksi tersebut (Rachmania, 2015).

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Hasil Studi Literatur Penentuan SBTEI-AD**

Jenis SBTEI-AD (Senyawa Bioaktif Tumbuhan Etnofarmaka Indonesia yang Berpotensi Antidiabetes) didalam penelitian ini ditentukan berdasar studi literatur menggunakan pendekatan etnofarmakologi, yaitu tumbuhan di Indonesia yang digunakan oleh masyarakat dan diyakini sebagai alternatif obat tradisional antidiabetes tipe 2. Berdasarkan aktivitas biologisnya senyawa yang terkandung dalam tumbuhan tradisional tersebut juga memiliki aktivitas antidiabetik. Pemilihan kandidat tumbuhan yang mengandung SBTEI-AD diperoleh dari studi literatur mengenai tumbuhan etnofarmaka Indonesia.

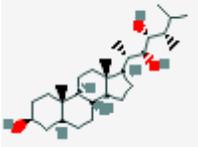
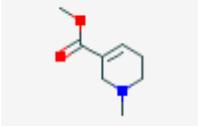
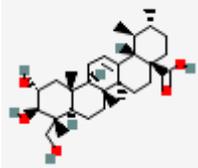
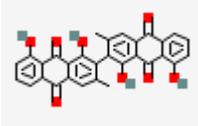
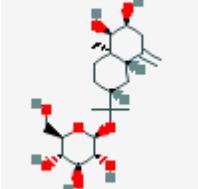
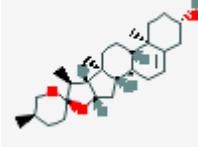
Hasil studi literatur dalam penelitian ini diperoleh 16 kandidat jenis tumbuhan yang memiliki SBTEI-AD dan disajikan dalam Tabel 4.1 (informasi gambar tumbuhan disajikan dalam lampiran 2). Selanjutnya, dilakukan studi literatur aktivitas biologis menggunakan layanan online Way2Drug ([www.pharmaexpert.ru/passonline](http://www.pharmaexpert.ru/passonline)) untuk mengkonfirmasi bahwa 16 kandidat jenis SBTEI-AD benar-benar memiliki potensi antidiabetes. Hasil konfirmasi SBTEI-AD yang disajikan dalam Tabel 4.2 menunjukkan bahwa aktivitas biologis SBTEI-AD antara lain sebagai *insulin promoter*, *alpha glucosidase inhibitor*, *beta glucosidase inhibitor*, dan *insulin secretagogues*. Sementara itu, data aktivitas antidiabetes SBTEI-AD melalui inhibisi DPP4 dan SGLT2 belum terdata dalam database online Way2Drug. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menambah data screening virtual SBTEI-AD sebagai inhbibitor DPP4 dan SGLT2 menggunakan metode docking molekuler. Sebagai pendukung analisis komputasi docking molekuler, dilakukan juga studi literatur struktur masing-masing SBTEI-AD tersebut menggunakan database senyawa Pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Berdasarkan pengelompokan senyawa utamanya ada 4 SBTEI-AD yang tergolong

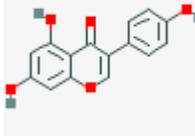
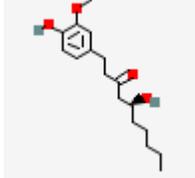
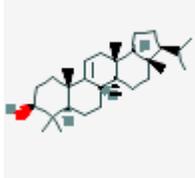
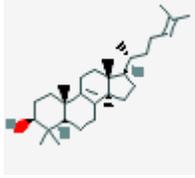
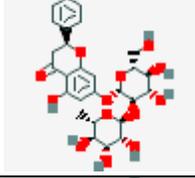
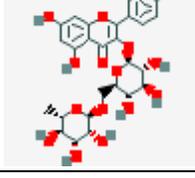
terpenoid, 2 steroid, 2 alkaloid, 1 quinon, 1 isoflavonoid, 1 fenol, 1 triterpenoid, 1 Alpha-hydroxyl acid, 2 flavonoid, dan 1 isoprenoid.

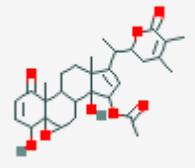
Tabel 4.1 . Hasil studi literatur 16 jenis tumbuhan yang mengandung SBTEI-AD

<b>No.</b>	<b>Nama lokal tumbuhan</b>	<b>Nama ilmiah</b>	<b>Familia</b>	<b>Bagian yang digunakan</b>
1.	Tapak dara	<i>Catharantus roseus</i>	Apocynaceae	Daun
2.	Pinang	<i>Areca catechu</i>	Arecaceae	Buah, akar
3.	Pegagan	<i>Centella asiatica</i>	Apiaceae	Daun
4.	Johar	<i>Cassia siamea</i>	Fabaceae	Daun
5.	Seledri	<i>Apium graveolens</i>	Apiaceae	Daun
6.	Gembolo	<i>Dioscorea bulbifera</i>	Dioscoreaceae	Umbi
7.	Kedelai	<i>Glycine max</i>	Fabaceae	Biji
8.	Jahe	<i>Zingiber officinale</i>	Zingiberaceae	Rimpang
9.	Alang-alang	<i>Imperata cylindrica</i>	Poaceae	Daun
10.	Kastuba	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	Euphorbiaceae	Daun
11.	Bunga pagar	<i>Lantana camara</i>	Verbenaceae	Buah
12.	Jeruk bali	<i>Citrus maxima</i>	Rutaceae	Daun, buah
13.	Mengkudu	<i>Morinda citrifolia</i>	Rubiaceae	Buah
14.	Ceplukan	<i>Physalis angulata</i>	Solanaceae	Buah
15.	Asparagus	<i>Asparagus officinalis</i>	Asparagaceae	Batang, tunas
16.	Tumpangan air	<i>Peperomia pellucida</i>	Piperaceae	Daun

Tabel 4.2 . Hasil studi aktivitas biologis dan struktur kimia SBTEI-AD

No.	Nama tumbuhan	Senyawa diduga berpotensi antidiabetes	Golongan	Aktivitas biologis	Struktur	Referensi
1.	<i>Catharantus roseus</i>	6-deoxoteasterone	Steroid	Insulin promoter, diabetic nephropathy treatment		Sutrisna, 2015; Pubchem 2017
2.	<i>Areca catechu</i>	Arecoline	Alkaloid	Insulin promoter, diabetic nephropathy treatment		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
3.	<i>Centella asiatica</i>	Asiatic acid	Terpenoid	Antidiabetic, alpha glucosidase inhibitor, beta glucosidase inhibitor, insulin promoter, insulin secretagogues		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
4.	<i>Cassia siamea</i>	Cassiamin C	Quinone	Insulin promoter		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
5.	<i>Apium graveolens</i>	Celerioside	Terpenoid	antidiabetes		Sowbhagya, 2014; Pubchem 2017
6.	<i>Dioscorea bulbifera</i>	Diosgenin	Terpenoid	Beta glucosidase inhibitor		Gosh et al., 2014; Pubchem 2017

7.	<i>Glycine max</i>	<i>Genistein</i>	Isoflavonoid	Antidiabetic symptomatic, diabetic nephropathy treatment		Dang et al., 2003; Pubchem 2017
8.	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Gingerols</i>	Phenol	Antidiabetic symptomatic, diabetic nephropathy treatment, insulin sensitizer		Jeyam et al., 2014; Pubchem 2017
9.	<i>Imperata cylindrica</i>	<i>Isoarborinol</i>	Terpenoid	Antidiabetes, beta glucosidase inhibitor, alpha glucosidase inhibitor, insulin promoter		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
10.	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	<i>Lanosterol</i>	Triterpenoid	Antidiabetes, beta glucosidase inhibitor, alpha glucosidase inhibitor, insulin promoter		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
11.	<i>Lantana camara</i>	<i>Lantic acid</i>	Alpha-hydroxyl acid	Antidiabetes, beta glucosidase inhibitor, sodium/bile acid cotransporter inhibitor, insulin promoter		Masitha, 2011; Pubchem 2017
12.	<i>Citrus maxima</i>	<i>Naringin</i>	Flavonoid	SGLT inhibitor, antidiabetic,		Selvaraj et al., 2016
13.	<i>Morinda citrifolia</i>	<i>Rutin</i>	Flavonoid	Antidiabetes		Awwaludin et al., 2014; Pubchem 2017

14.	<i>Physalis angulata</i>	<i>Withangulatin A</i>	Steroid	antidiabetes		Masitha, 2011; Pubchem, 2017
15.	<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Yamogenin</i>	Isoprenoid	beta glucosidase inhibitor, alpha glucosidase inhibitor		Simanjutak 2015; Pubchem, 2017
16.	<i>Peperomia pellucida</i>	<i>Yohimbine</i>	Alkaloid	Antidiabetes, insulin promoter		Akhila et al.,2012; Pubchem, 2017

#### 4.2 Hasil Studi Literatur Daya serap SBTEI-AD dalam Usus Manusia

Salah satu syarat obat oral adalah memiliki daya serap yang baik di dalam usus (Lipinski, 2004). Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan studi literatur secara online mengenai daya serap SBTEI-AD dalam usus manusia atau *human intestinal absorption* (HIA) menggunakan layanan *online* admetSAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn/admetSar1/>). Hasil studi menunjukkan bahwa 16 SBTEI-AD dalam penelitian ini semuanya memiliki nilai HIA mendekati angka 1, sehingga dikatakan memiliki daya serap yang baik. Menurut Wessel (1998), nilai HIA semakin mendekati angka 1 mengindikasikan bahwa suatu senyawa semakin mudah diserap oleh usus manusia, sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat bahan obat. Data studi literatur mengenai aktivitas biologis dan HIA ditampilkan dalam tabel 4.3

Tabel 4.3 Data studi literatur *Human Intestinal Absorption* (HIA) SBTEI-AD

No	Nama Tanaman	Senyawa	Gugus hidrogen donor	Gugus hidrogen akseptor	TPSA (Å <sup>2</sup> )	Berat molekul (g/mol)	HIA
1.	Johar	Cassiamin C	4	8	149	506,466	1
2.	Alang-alang	Isoarborinol	1	1	20,2	426,729	1
3.	Kastuba	Lanosterol	1	1	20,2	426,729	1
4.	Gembolo	Diosgenin	1	3	38,7	414,63	0,9961
5.	Asparagus	Yamogenin	1	3	38,7	414,63	0,9961
6.	Tapak dara	6-deoxoteasterone	3	3	60,7	434,705	0,9957
7.	Kedelai	Genistein	3	5	87	270,24	0,9877
8.	Jahe	Gingerol	2	4	66,8	294,391	0,9805
9.	Tumpangan air	Yohimbine	2	4	65,6	354,45	0,9782
10.	Pinang	Arecoline	0	3	29,5	155,197	0,9713
11.	Bunga pagar	Lantic acid	2	4	66,8	470,694	0,9686
12.	Pegagan	Asiatic acid	4	5	98	488,709	0,9442
13.	Jeruk bali	Naringin	8	14	225	580,539	0,8645
14.	Ceplukan	Whitangulatin A	2	8	123	526,626	0,8270
15.	Mengkudu	Rutin	10	16	266	610,521	0,8041
16.	Seledri	Celerioside	5	9	146	430,494	0,7228

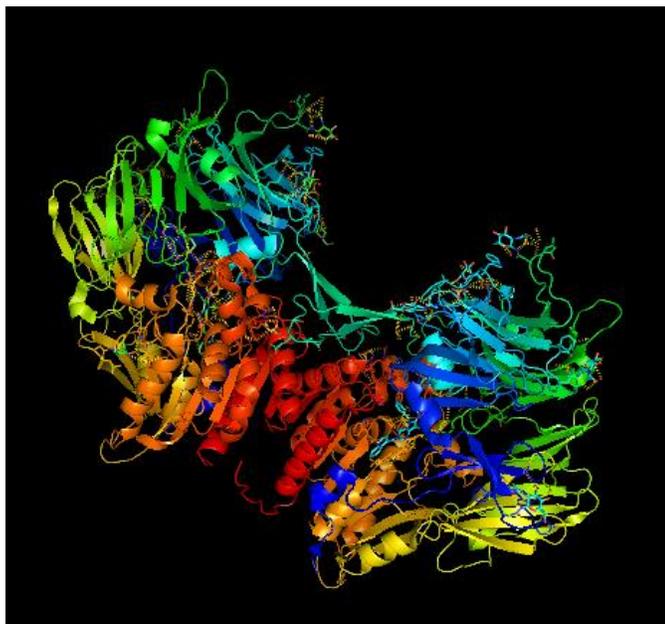
Ket : TPSA (*Topological Polar Surface Area*), HIA (*Human Intestinal Absorption*)  
(WaytoDrug, 2018)

Berdasarkan nilai HIA (Tabel 4.3), *Cassiamin C*, *Isoarborinol* dan *Lanosterol* memiliki daya serap tertinggi (HIA=1) sedangkan *Rutin* memiliki daya serap terendah (HIA=0,8041). Hal ini dapat terjadi karena senyawa –senyawa yang HIA nya lebih tinggi memiliki faktor jumlah berat molekul (BM) yang < 500, dan/atau jumlah donor ikatan hidrogen < 5, dan mempunyai jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski, 1997) .

### 4.3 Hasil Penyiapan Struktur 3D Protein Target untuk Docking Molekular

Penyiapan struktur protein target dalam penelitian ini dilakukan agar protein target yaitu DPP4 dan SGLT2 memiliki struktur yang sesuai dan siap digunakan sebagai reseptor ligan SBTEI-AD.

Langkah pertama adalah mengunduh struktur 3D DPP4 dari *protein data bank* dengan identitas 4A5S (Gambar 4.1) dan mengambil salah satu rantai homodimer, dengan cara memisahkan homodimer rantai A dan B menggunakan software Pymol. Protein rantai A yang telah terpisah kemudian dihilangkan ligan natif dan molekul airnya dan siap digunakan sebagai protein reseptor SBTEI-AD. Hasil penyiapan 3D protein DPP4 sebagai protein target disimpan juga dengan format pdb.



Gambar 4.1 Struktur 3D DPP4 dengan identitas 4A5S

Mengacu pada Aditya (2012), pengambilan ligan natif dan air dari protein DPP4 harus dilakukan karena ligan yang terikat pada sisi aktif DPP4 akan menghalangi interaksi antara DPP4 dengan SBTEI-AD saat proses docking. Sedangkan molekul air dapat mengganggu ikatan proses penambatan yaitu kemungkinan terikatnya ligan dengan molekul air melalui ikatan hydrogen.

Berbeda dengan DPP4, struktur tiga dimensi SGLT2 belum tersedia di *protein data bank* sehingga dilakukan pemodelan homologi. Pemodelan ini berdasarkan template yang memiliki homologi tinggi dan telah diketahui strukturnya. Prinsip yang digunakan yaitu jika suatu protein memiliki urutan yang sama pasti akan memiliki struktur yang sama. Struktur tiga dimensi SGLT2 dibuat menggunakan layanan online *SWISS-MODEL* (<http://swissmodel.expasy.org/>). Berdasarkan *sequence alignment* SGLT2 (target) dengan vSGLT (*template*), SGLT2 manusia memiliki *sequence identity* sebesar 31,32% dengan vSGLT. Model SGLT2 menunjukkan posisi dalam zona aman pada kurva interpretasi hasil pemodelan homologi dengan panjang 659 residu dan *sequence identity* 31,32%,. Oleh karena itu model SGLT2 dianggap dapat mewakili struktur SGLT2. Proses penyiapan struktur 3D protein SGLT2 sebagai protein target untuk docking molekular juga dilakukan menggunakan software PyMol (Gambar 4.2)



Gambar 4.2. Struktur 3D SGLT2 hasil *homology modeling*

#### **4.4 Hasil Analisa SBTEI-AD sebagai obat antidiabetes menggunakan Docking Molekuler**

*Molecular docking* merupakan sebuah prosedur yang digunakan untuk memprediksikan orientasi dari suatu ligan terhadap reseptor (protein) ketika terikat satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil (Lengauer and Rarey, 1996). Ligan yang digunakan dalam adalah struktur 3D dari 16 jenis SBTEI-AD (tabel 4.1)

yang diunduh dari database senyawa PubChem dengan format .sdf. Kemudian masing-masing 3D ligan ditambatkan (*docking*) dengan struktur 3D protein DPP4 dan SGLT2 sebagai protein target dengan metode Vina di PyRx 8.0.

#### 4.4.1 Analisis Afinitas ikatan antara ligan SBTEI-AD dengan DPP-4 dan SGLT2

Analisa hasil docking molekuler pada penelitian ini meliputi nilai  $\Delta G$ , *Root Mean Square Deviation* (RMSD), serta interaksi ligan dengan residu protein.

Tabel 4.4 Nilai afinitas ikatan hasil docking molekuler SBTEI-AD dengan DPP4 dan SGLT2

No	Tumbuhan	Ligan	RMSD	$\Delta G$ Afinitas ikatan (kkal/mol)	
				DPP4	SGLT2
1.	Tapak dara	<i>Cassiamin C</i>	0	-10,3	-10,9
2.	Pinang	<i>Witangulatin A</i>	0	-10,1	-10,0
3.	Pegagan	<i>Yamogenin</i>	0	-9,9	-9,5
4.	Johar	<i>Diosgenin</i>	0	-9,5	-9,4
5.	Seledri	<i>6-deoxoteasterone</i>	0	-9,2	-8,5
6.	Gembolo	<i>Rutin</i>	0	-9,2	-9,9
7.	Kedelai	<i>Naringin</i>	0	-9,1	-9,1
8.	Jahe	<i>Isoarborinol</i>	0	-9,1	-9,4
9.	Alang-alang	<i>Lanosterol</i>	0	-9,0	-8,9
10.	Kastuba	<i>Lantic acid</i>	0	-8,7	-9,2
11.	Bunga pagar	<i>Yohimbine</i>	0	-8,9	-8,7
12.	Jeruk bali	<i>Asiatic acid</i>	0	-8,0	-9,3
13.	Mengkudu	<i>Celerioside</i>	0	-7,9	-8,0
14.	Ceplukan	<i>Genistein</i>	0	-7,9	-8,0
15.	Asparagus	<i>Gingerol</i>	0	-6,5	-6,8
16.	Tumpangan air	<i>Arecoline</i>	0	-4,9	-4,9
17.	Senyawa pembanding	<i>Sitagliptin</i>	0	-9,2	-
18.	Senyawa pembanding	<i>Canagliflozin</i>	0	-	-9,7

Validasi metode docking dilakukan dengan melihat nilai RMSD yang akan tampil setelah proses docking selesai. RMSD merupakan nilai yang digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil dan penting untuk validasi program *docking*. Nilai RMSD dikatakan baik apabila  $< 2 \text{ \AA}$ . Dengan penyimpangan yang semakin besar, semakin besar kesalahan pada prediksi interaksi ligan dengan protein. RMSD merupakan nilai penyimpangan antara satu konformasi ligan dengan pembandingnya. (Brooijmans, 2009). Berdasarkan tabel 4.4 diketahui bahwa semua hasil docking memiliki nilai RMSD=0 sehingga dapat dikatakan hasil docking SBTEI-AD dengan DPP4 dan SGLT2 di penelitian ini telah valid.

Interaksi *docking* ligan 16 SBTEI-AD dengan DPP4 dan SGLT2 ditunjukkan dalam Tabel 4.4. Pada tabel tersebut ditunjukkan interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan DPP4 dengan nilai  $\Delta G$  tertinggi dimiliki oleh cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* dengan nilai  $-10,3 \text{ kkal/mol}$ . Menurut Damayant et al (2017), semakin kecil/negatif nilai  $\Delta G$  menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk semakin stabil dan kuat, hal ini disebabkan kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada kompleks enzim ligan dapat dilihat dari besarnya energi bebas yang dilepaskan saat interaksi pada kompleks enzim ligan terbentuk. Oleh karena itu berdasar afinitas ikatan, dapat dikatakan cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* (johar) memiliki potensi sebagai obat diabetes yang terbaik melalui penghambatan protein enzim DPP4.

Potensi antidiabetik cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* (johar) juga dibandingkan dengan obat yang saat ini sudah digunakan yaitu senyawa sitagliptin (Herman,2005). Berdasar tabel 4.4 ditunjukkan bahwa  $\Delta G$  cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* ( $\Delta G = -10,3 \text{ kkal/mol}$ ) lebih kuat ikatannya daripada  $\Delta G$  dari sitagliptin ( $-9,2 \text{ kkal/mol}$ ). Selain cassiamin C dari tumbuhan johar, terdapat lima SBTEI-AD lain yang berpotensi sebagai obat diabetes melalui penghambatan protein enzim DPP4, yaitu whitangulatin A dari tumbuhan ceplukan ( $\Delta G = -10,1 \text{ kkal/mol}$ ), yamogenin dari tumbuhan asparagus ( $\Delta G = -10,1 \text{ kkal/mol}$ ), diosgenin

dari tumbuhan gembolo ( $\Delta G = -9,5$  kkal/mol), 6-deoxoteasterone dari tumbuhan tapak dara ( $\Delta G = -9,2$  kkal/mol), dan *Rutin* dari tumbuhan mengkudu ( $\Delta G = -9,2$  kkal/mol). Visualisasi interaksi keenam ligan SBTEI-AD dengan DPP4 ditunjukkan pada Lampiran 4.

Sementara itu hasil interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan SGLT2 dengan nilai  $\Delta G$  tertinggi dimiliki oleh cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* dengan nilai  $\Delta G = -10,9$  kkal/mol. Oleh karena itu berdasar afinitas ikatan, dapat dikatakan cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* (johar) memiliki potensi sebagai obat diabetes yang terbaik melalui penghambatan protein enzim SGLT2.

Potensi obat cassiamin C dari tumbuhan *Cassia siamea* (johar) sebagai penghambat SGLT2 dibandingkan dengan obat yang saat ini sudah digunakan yaitu senyawa canagliflozin (Kalra, 2014). Berdasar tabel 4.4 ditunjukkan bahwa  $\Delta G$  cassiamin C dari tumbuhan johar ( $\Delta G = -10,9$  kkal/mol) lebih kuat ikatannya daripada  $\Delta G$  dari canagliflozin ( $-9,7$  kkal/mol). Selain cassiamin C dari tumbuhan johar, terdapat 2 SBTEI-AD lain yang berpotensi sebagai obat diabetes melalui penghambatan protein SGLT2, yaitu whitangulatin A dari tumbuhan ceplukan ( $\Delta G = -10,0$  kkal/mol), dan *Rutin* dari tumbuhan mengkudu ( $\Delta G = -9,9$  kkal/mol). Visualisasi interaksi ketiga ligan SBTEI-AD dengan SGLT2 ditunjukkan pada Lampiran 5.

Jumlah energi pengikat bebas ( $\Delta G$ ) merupakan indikator kemampuan mengikat senyawa aktif ke protein target. Dalam proses spontan, Pengikatan protein-ligan hanya terjadi apabila terjadi perubahan Energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dari sistem negatif saat sistem mencapai keadaan ekuilibrium pada tekanan konstan dan suhu. Karena tingkat asosiasi protein-ligan ditentukan oleh besarnya  $\Delta G$  negatif, dapat dipertimbangkan bahwa  $\Delta G$  menentukan stabilitas kompleks protein-ligan, atau, alternatifnya, ikatan afinitas ligan ke akseptor tertentu (Gilson dan Zhou 2007). Berdasarkan pernyataan tersebut diprediksi bahwa cassiamin C berikatan secara spontan ke sisi aktif reseptor protein DPP4 membentuk kompleks protein-ligan molekul yang stabil.

#### 4.4.2 Analisis interaksi non kovalen antara ligan SBTEI-AD dengan DPP-4 dan SGLT2

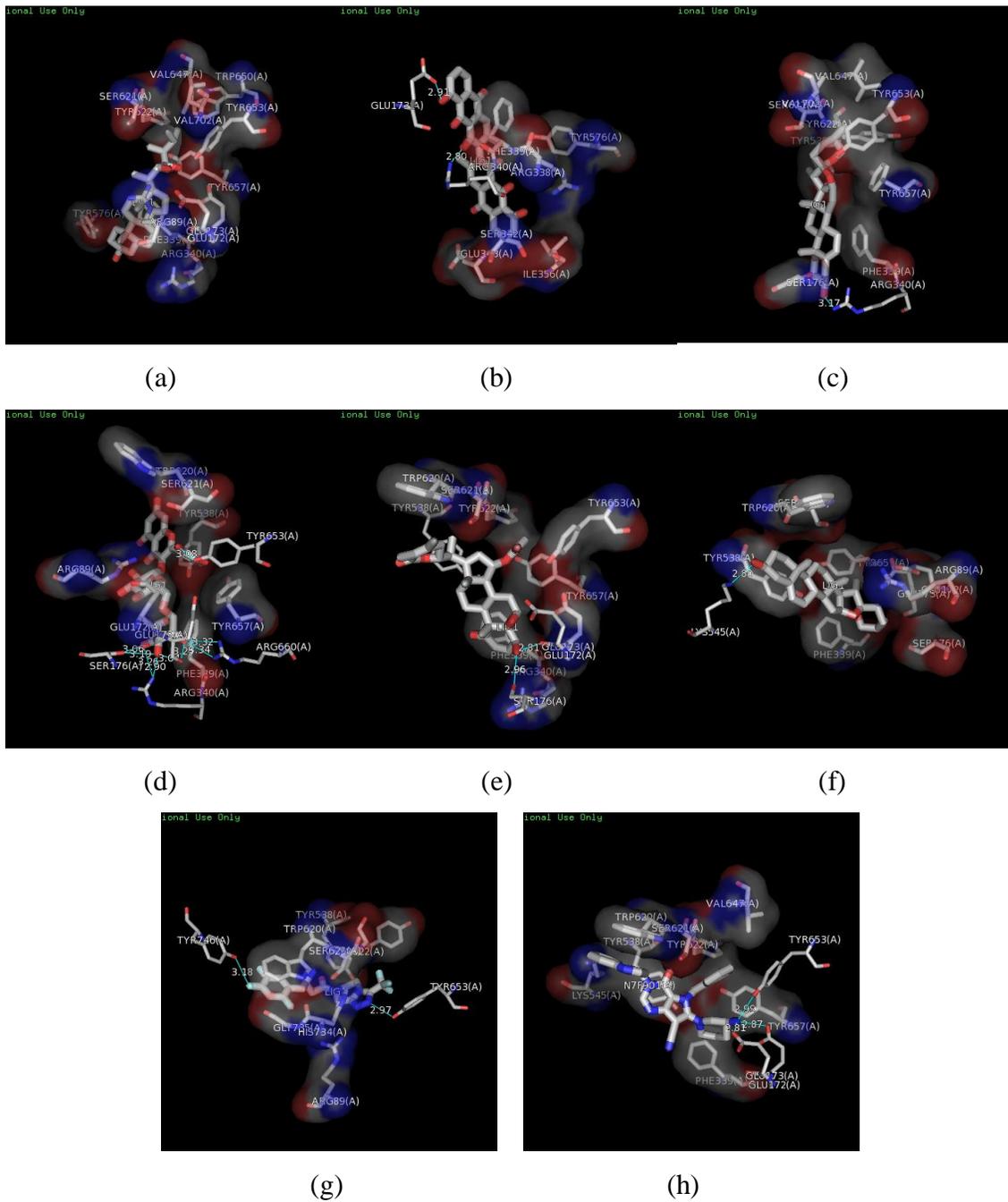
Prediksi bahwa keenam SBTEI-AD berpotensi sebagai inhibitor DPP4 harus diperkuat dengan analisis interaksi non kovalen. Interaksi non kovalen antara ligan dan protein dianalisis untuk menentukan kekuatan ikatan. Senyawa aktif diprediksi berikatan kuat dengan protein target apabila mampu mengikat dengan kuat residu asam amino yang sama seperti residu pengikatan ligan natif melalui ikatan hidrogen (Damayanti et al., 2017). Analisis dalam penelitian ini menggunakan program Discovery Studio Visualizer. Melalui program Discovery Studio Visualizer dapat dihasilkan visualisasi 3D dan 2D interaksi ligan dengan protein. Interaksi yang terjadi berupa ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik (Bansode, 2016). Hasil analisis interaksi non kovalen ligan SBTEI-AD dengan DPP4 ditampilkan pada Tabel 4.5.

**Tabel 4.5** Analisa interaksi non kovalen antara ligan SBTEI-AD dengan DPP4

No.	Nama Tumbuhan	Ligan	Interaksi	
			Ikatan hidrogen	Ikatan hidrofobik
1.	Tapak dara	<i>6-deoxoteasterone</i>		Arg89, Arg340, Glu172, Glu173, <b>Phe339</b> , <b>Ser621</b> , Trp650, Tyr576, Tyr653, <b>Tyr657</b> , <b>Tyr622</b> , <b>Val647</b> , Val702
2.	Johar	<i>Cassiamin C</i>	Arg340, <b>Glu173</b>	Arg338, Glu343, Ile356, <b>Phe339</b> , Ser342, Tyr576
3.	Gembolo	<i>Diosgenin</i>	Arg340	<b>Phe339</b> , <b>Ser621</b> , <b>Tyr538</b> , Tyr622, <b>Tyr657</b> , Tyr653, <b>Val647</b> , Val702
4.	Mengkudu	<i>Rutin</i>	Arg660, Arg340, <b>Glu173</b> , Ser176, <b>Tyr653</b>	Arg89, Glu172, Phe339, <b>Ser621</b> , <b>Trp620</b> , <b>Tyr538</b> , <b>Tyr657</b>

5.	Ceplukan	<i>Witangulatin A</i>	<b>Glu172</b> , Ser176, Tyr538	Arg340, Glu173, Phe339, <b>Ser621, Trp620, Tyr622,</b> Tyr653, <b>Tyr657</b>
6.	Asparagus	<i>Yamogenin</i>	Lys545	Arg89, Glu172, Glu173, Ser176, <b>Ser621, Trp620,</b> <b>Tyr538, Tyr657</b>
7.	Senyawa pembanding	<i>Sitagliptin</i>	<b>Tyr653</b> , Tyr746	Arg89, Gly735, His734, <b>Ser621, Trp620, Tyr538,</b> <b>Tyr622</b>
8.	Kontrol	<i>Ligan natif</i>	<b>Glu172, Glu173, Tyr653</b>	<b>Lys545, Phe339, Ser621,</b> <b>Trp620, Tyr538, Tyr657,</b> <b>Tyr622, Val647</b>

Identifikasi interaksi tersebut pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa ligan natif berikatan pada sisi aktif DPP4 melalui ikatan hidrogen dengan tipe asam amino Glu172, Glu173, dan Tyr653. Selain itu juga berikatan melalui ikatan hidrofobik dengan asam amino Lys545, Phe339, Ser621, Trp620, Tyr538, Tyr657, Tyr622, dan Val647. Berdasar tabel 4.5 tersebut diketahui bahwa senyawa *Rutin* dari tumbuhan mengkudu memiliki kemampuan mengikat paling tinggi yaitu 66% residu asam amino yang sama dengan ligan natif melalui ikatan hidrogen. Selain itu *Rutin* juga memiliki kemampuan mengikat 50% residu asam amino yang sama dengan ligan natif melalui ikatan hidrofobik. Sedangkan, lima SBTEI-AD lainnya yang sudah terseleksi pada tahap analisis afinitas ikatan menunjukkan kemampuan mengikat yang lebih kecil, seperti whitangulatin A, cassiamin, dan sitagliptin memiliki kemampuan mengikat 33% residu asam amino yang sama dengan ligan natif. Sedangkan yamogenin, diosgenin, dan 6-deoxoteasterone tidak memiliki kemampuan mengikat residu asam amino yang sama dengan ligan natif. Interaksi ikatan non kovalen tersebut divisualisasikan secara 3D pada gambar 4.3



Gambar 4.3 Visualisasi 3D interaksi ikatan non kovalen antara DPP4 dengan ligan SBTEI-AD.

Ket: 6-deoxoteasterone (a), Cassiamin C (b), Diosgenin (c), Rutin (d), Whitangulatin A (e), Yamogenin (f), Sitagliptin (g) dan ligan natif (h) menggunakan software PyMol.

Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan, *Rutin* dari tumbuhan mengkudu merupakan SBTEI-AD yang kandidat terbaik sebagai obat antidiabetes melalui penghambatan aktivitas DPP4. Sehingga, disimpulkan bahwa dari 6 SBTEI dengan nilai afinitas ikatan lebih besar dari sitagliptin, *Rutin* merupakan kandidat terbaik yang memiliki kemampuan menghambat DPP4.

Ketika protein mengikat ligan, akan terjadi interaksi antara ligan dan protein, terlepas dari ikatannya dengan air. Ikatan antara protein dan ligan membentuk sebuah ikatan yang stabil. Untuk membentuk ikatan stabil ini, ligan akan menempati kantong pengikat protein yang tersusun dari asam amino (Damayanti et al., 2017). Senyawa aktif diprediksi memiliki kemampuan untuk mengikat target protein melalui ikatan hidrogen dan berinteraksi secara spontan jika memiliki energi ikatan bebas yang lebih rendah atau setara dari pada kontrol (Zukhurullah et al 2012).

Ikatan hidrogen adalah interaksi elektrostatik antara atom hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif dengan atom elektronegatif lainnya. Kekuatan ikatan hidrogen berada di bawah ikatan kovalen, namun kehadirannya sangat penting. Kehadirannya berkontribusi pada struktur dan karakteristik molekul. Dalam ilmu farmasi, ikatan hidrogen berperan dalam mempelajari desain dan interaksi antara molekul obat dan sistem metabolisme dalam tubuh (Jeffrey 1997)

Selanjutnya ketiga SBTEI-AD berpotensi sebagai inhibitor SGLT2 juga dianalisis interaksi non kovalen dengan hasil ditunjukkan pada tabel 4.6

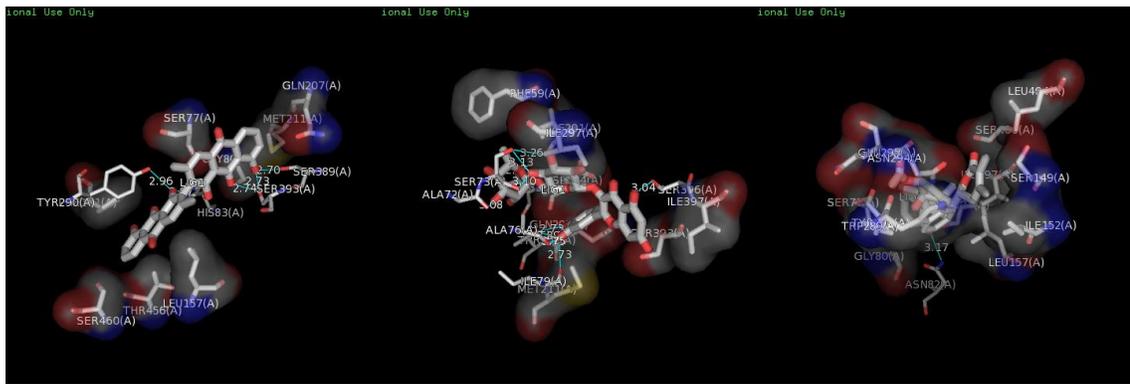
**Tabel 4.6** Analisa interaksi non kovalen ligan antara SBTEI-AD dengan SGLT2

No.	Nama Tumbuhan	Ligan	Interaksi	
			Ikatan hidrogen	Ikatan hidrofobik
1.	Johar	<i>Cassiamin C</i>	His83, <b>Ser389</b> , Tyr290	<b>Gln207</b> , Gly80, Leu157, <b>Met211</b> , Phe101, Ser77, Ser460, Thr456,
2.	Mengkudu	<i>Rutin</i>	Ala72, Ala76, Ile79, Ser73, Ser396, Thr205, <b>Thr208</b>	Asp204, <b>Gln207</b> , Ile201, Ile297, Ile397, <b>Met211</b> Phe59, Ser393

3.	Ceplukan	<i>Witangulatin A</i>	Asn82	Asn294, Gln295, Gly80, Ile397, Ile152, Leu157, Leu404, Ser77, Ser149, Ser393, Ser400, Trp289, Tyr290
4.	Senyawa pembanding	<i>Canagliflozin</i>	Asn294, Tyr290	Gln295, Ile152, Ile297, Ile453, Leu87, Leu156, Leu157, Phe101, Ser77, Ser460, Thr456, Trp289
5.		Ligan natif	<b>Asp204, Ser389, Ser393, Thr208</b>	<b>Gln207, Ile79, Met211, Ser392</b>

Tabel 4.6 menunjukkan bahwa ligan natif berikatan pada sisi aktif SGLT2 melalui ikatan hidrogen dengan tipe asam amino Asp204, Ser389, Ser393, dan Thr208. Selain itu juga berikatan melalui ikatan hidrofobik dengan asam amino Gln207, Ile79, Met211, dan Ser392. Berdasarkan tabel 4.6 ditunjukkan bahwa *Rutin* dari mengkudu dan *cassiamin C* dari johar memiliki kemampuan mengikat 25% residu asam amino yang sama dengan ligan natif, selain itu keduanya juga memiliki kemampuan mengikat 50% residu asam amino pada sisi aktif SGLT2 yang sama dengan ligan natif melalui ikatan hidrofobik, sedangkan *Whitangulatin A* tidak memiliki ikatan hidrogen dan hidrofobik dengan SGLT2. Interaksi ikatan non kovalen divisualisasikan secara 3D pada gambar 4.4. Hasil menunjukkan bahwa, diantara 16 SBTEI-AD, *Rutin* dan *Cassiamin C* sama-sama menjadi kandidat senyawa terbaik antidiabetes yang memiliki kemampuan menghambat SGLT2.

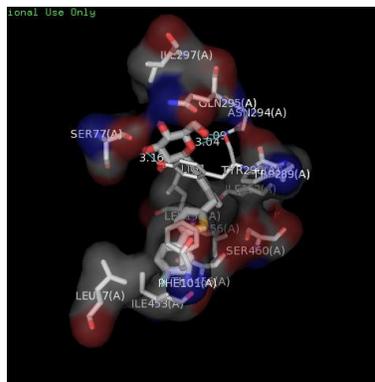
Secara keseluruhan, hasil analisis docking enam belas SBTEI-AD dengan DPP4 dan SGLT2 menunjukkan bahwa *Rutin* dari tumbuhan mengkudu merupakan kandidat terbaik sebagai antidiabetes baik melalui penghambatan DPP4 maupun SGLT2. Selain itu, *Cassiamin C* dari tumbuhan johar juga memiliki potensi antidiabetik yang sama seperti senyawa *Rutin* dalam penghambatan SGLT2.



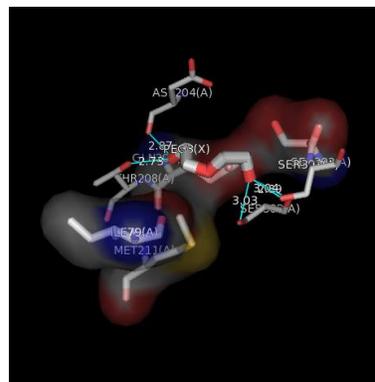
(a)

(b)

(c)



(d)



(e)

Gambar 4.4 Visualisasi 3D interaksi ikatan non kovalen antara SGLT2 dengan ligan SBTEI-AD

Ket: Cassiamin C (a), Rutin (b), Whitangulatin A (c), Canagliflozin (d), dan ligan natif (e) menggunakan software PyMol.

Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dan johar (*Cassia siamea*) telah lama digunakan secara tradisional sebagai obat antidiabetes. Penelitian terdahulu membuktikan bahwa keduanya memiliki potensi sebagai obat antidiabetes kelas inhibitor PPAR $\gamma$  dan alfa glukosidase (Awwaludin et al., 2014; Simanjutak, 20015). Namun kemampuannya sebagai inhibitor DPP4 dan SGLT2 belum dibuktikan secara ilmiah. Oleh karena itu, hasil penelitian docking molekuler ini dapat menjadi bukti ilmiah dan kebaruan informasi etnofarmaka tumbuhan mengkudu sebagai obat tradisional diabetes.

Mengkudu (gambar 4.5) (*Morinda citrifolia*), atau *keumeudee* (Aceh); *pace*, *kemudu*, *kudu* (Jawa); *cangkudu* (Sunda); *kodhuk* (Madura); *tibah* (Bali), adalah salah satu tumbuhan yang tergolong dalam famili Rubiaceae (Bangun, 2002). Tumbuhan ini berbentuk pohon dengan tinggi 4-8 cm. Batang berkayu, bulat, kulit kasar, percabangan monopoidal. Daun tunggal, bulat telur, ujung dan pangkal runcing. Panjang 10-40 cm. Bunga majemuk, bentuk bongkol, bertangkai, benang sari. Buah bongkol, permukaan tidak teratur, berdaging, panjang 5-10 cm, hijau kekuningan (Aalbersberg, 1999).



Gambar 4.5 Tumbuhan Mengkudu (*Morinda citrifolia*)

Mengkudu telah banyak digunakan oleh masyarakat sebagai pencegahan dan pengobatan diabetes serta suplemen kesehatan. Beberapa penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa *Morinda citrifolia* mengandung sekitar 200 zat kimia senyawa yang telah diidentifikasi dan diisolasi dari berbagai bagian tanaman ini. Salah satunya adalah senyawa flavonoid yang ditemukan pada buah, bunga, dan daun (Singh, 2012).

Rutin adalah salah satu senyawa polifenolik paling melimpah yang termasuk dalam kelas flavonoid. Melalui efek ganda, senyawa alami baik dalam bentuk murni atau ekstrak tanaman yang dihasilkannya dalam jumlah tinggi memiliki potensi terapeutik yang luar biasa untuk mengobati diabetes (Habtemariam et al., 2015). Penelitian Awwaludin (2014) juga membuktikan bahwa Rutin berpotensi sebagai obat antidiabetes kelas inhibitor PPAR $\gamma$  dengan nilai afinitas pengikatan -8,5 kkal/mol, mendekati nilai afinitas ikatan Rosiglitazone yang merupakan obat komersial inhibitor PPAR $\gamma$  (-8,9 kkal/mol).

Berdasarkan hasil docking penelitian ini, diprediksikan senyawa *Rutin* mampu menghambat aktivitas enzim DPP4 di membran lumen usus halus. Secara normal, DPP4 berfungsi untuk memecah ikatan peptida N-terminus hormon inkretin yaitu GIP dan GLP1 sehingga kedua hormon inaktif dan menyebabkan sintesis insulin terhambat. Dengan adanya pengikatan *Rutin* pada enzim DPP4, maka aktivitas GIP dan GLP1 tetap berlangsung sehingga sintesis insulin dipertahankan. Sintesis insulin tersebut dapat meningkatkan aktivitas penyimpanan seluler glukosa, asam amino, dan trigliserida pada sel target, termasuk hati, otot, dan lemak (Joshi et al., 2007) sehingga kadar glukosa dalam darah menurun.



Gambar 4.6 Tumbuhan johar (*Cassia siamea*)

Johar (*Cassia siamea*) (gambar 4.6) adalah nama sejenis pohon penghasil kayu keras yang termasuk famili Fabaceae (=Leguminosae, polong-polongan). Pohon yang sering ditanam sebagai peneduh tepi jalan ini dikenal pula dengan nama-nama yang mirip, seperti *juwar* (Btw., Jw., Sd.), atau *johor* (Mly.). Di Jawa sering juga disebut *jati wesi*. Di Sumatra, pohon ini dinamai pula *bujuk* atau *dulang*. Tanaman johar dapat tumbuh mencapai tinggi 2 - 20 (-30)m; dengan batang lurus dan pendek, gemang jarang melebihi 50cm. Pepagan (kulit batang) berwarna abu-abu kecoklatan pada cabang yang muda; percabangan melebar membentuk tajuk yang padat dan membulat. Daun menyirip genap, 10 – 35 cm panjangnya; Bunga terkumpul dalam malai di ujung ranting. Mahkota bunga berwarna kuning cerah, 5 helai, gundul, bundar telur terbalik, bendera dengan kuku sepanjang 1 – 2 mm. Buah polong memipih (Steenis, 1981). Johar memiliki banyak manfaat, diantaranya untuk

pengobatan diabetes, pencegah pertumbuhan cacing di perut, hipertensi, konstipasi, dan insomnia (Shafiulla et al., 1995).

Cassiamin C adalah salah satu senyawa bioaktif dari tanaman johan dari golongan quinon. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa Cassiamin C memiliki potensi antidiabetes melalui penghambatan enzim alfa glukosidase dengan nilai afinitas ikatan  $-8,7$  kkal/mol (Simanjutak, 2015).

Pada penelitian ini, diprediksikan apabila senyawa *Rutin* berikatan dengan reseptor SGLT2 di membran sel epitel tubulus proksimal ginjal, maka tidak terjadi reabsorpsi glukosa kembali ke darah sehingga kadar gula darah dalam tubuh menurun. Secara teoritis, prosesnya dapat dijelaskan sebagai berikut: menurut Abdul-Ghani (2011) secara normal *sodium glucose co-transporters* (SGLTs) berfungsi untuk mentranspor sodium dan glukosa dari lumen tubulus ke dalam sel epitel tubulus proksimal ginjal menggunakan gradien sodium yang dihasilkan pompa Na-K-ATPase. Selanjutnya, glukosa ditranspor secara pasif oleh glucose transporter-2 (GLUT2) sesuai dengan gradien konsentrasinya ke dalam ruang intersisial (terjadi reabsorpsi ke plasma darah). Oleh karena jika SGLT diikat oleh senyawa *Rutin*, maka glukosa dari lumen tidak dapat masuk ke dalam sel epitel dan tidak tereabsorpsi, sehingga ikut keluar bersama urin.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dinyatakan bahwa senyawa *Rutin* dalam mengkudu merupakan SBETI-AD dapat menjadi kandidat obat antidiabetes melalui penghambatan aktivitas DPP4 sehingga mempertahankan sintesis insulin, dan menghambat SGLT2 untuk mengurangi reabsorpsi glukosa dan peningkatan pembuangan glukosa melalui urin.

Namun demikian, uji lanjutan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* perlu dilakukan. Meskipun demikian, *docking* memiliki peran penting sebagai langkah awal dalam pengembangan dan perancangan obat baru, terutama dalam skrining dan pemodelan senyawa bioaktif senyawa etnofarmaka Indonesia.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Pada docking molekuler antara 16 SBTEI-AD dengan DPP4, diperoleh 6 SBTEI-AD yang memiliki afinitas pengikatan lebih baik dari sitagliptin, namun analisis interaksi ikatan hidrogen dan hidrofobik menunjukkan bahwa senyawa Rutin memiliki interaksi terbaik. Sementara itu dari docking molekuler antara 16 SBTEI-AD dengan SGLT diperoleh 3 senyawa yang memiliki afinitas ikatan lebih baik dari canagliflozin, namun analisis interaksi ikatan hidrogen dan hidrofobik menunjukkan bahwa senyawa Rutin dan Cassiamin C sama-sama memiliki interaksi terbaik.
2. Skrining virtual potensi 16 SBTEI-AD sebagai obat antidiabetik menunjukkan hasil bahwa senyawa Rutin dari tanaman mengkudu (*Morinda citrifolia*) memiliki potensi terbaik untuk menjadi obat antidiabetik melalui penghambatan DPP4 dan SGLT2, selain itu senyawa cassiamin C dari tanaman johar (*Cassia siamea*) juga memiliki potensi yang sama seperti senyawa Rutin dalam penghambatan SGLT2.

#### **5.2 Saran**

1. Hasil ini merupakan ramalan aktivitas biologis karena didapat dari simulasi pemodelan terkomputerisasi. Sehingga perlu dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa – senyawa tersebut.
2. Dapat dilakukan penelitian docking molekuler dengan menggunakan ligan lain yang ditambahkan pada DPP4 dan SGLT2
3. Dapat dilakukan penelitian ddocking molekuler dengan menggunakan reseptor lain yang berperan dalam pengobatan diabetes sehingga didapat pengobatan yang terbaik.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## DAFTAR PUSTAKA

- Aalbersberg, W.G.L., Hussein, S., Sotheeswaran, S., Parkinson, S., (1999), Carotenoids in The Leaves of *Morinda citrifolia*, *J. Herbs Spices Med.Plants*, Vol 2, Hal 51-54.
- Accelrys Enterprise Platform, (2005), *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, Accelrys Software Inc., California.
- Ajizah, A., (2004), Sensitivitas *Salmonella typhium* Terhadap Ekstrak Daun Jambu Biji. *Bioscientiae*. Vol 1, Hal 22-29.
- American Diabetes Association, (2012), Standards of Medical Care in Diabetes, *Diabetes Care*, Vol 35, Hal 11-63.
- Awaluddin, F., Putra, A.M.J., Supandi, (2014). Molecular Docking Studies of Flavonoids of Noni Fruit (*Morinda citrifolia*L.) to Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR $\gamma$ ), *3rd International Conference on Computation for Science and Technology*, Vol 3, 95-99.
- Baggio, L.L., Drucker, D.J., (2007), Biology of Incretins: GLP-1 and GIP, *Gastroenterology*, Vol 132, Hal 2131-2157.
- Bangun, A.P., Sarwono, B., (2002), Sehat dengan Ramuan Tradisional: Khasiat dan Manfaat Mengkudu, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Campbell, J.E., Drucker, D.J., (2013), Pharmacology, Physiology, and Mechanisms of Incretin Hormone Action, *Cell Metabolism*, Vol 17, Hal 819-837.
- Chung, K.T., TY Wong., CL Wei., YW Huang., Y Lin, (1998), Tannins and Human health: A Review, *Criti Rev. Food. Sci. Nutr.*, Vol 6, Hal 421-64.
- Corwin, E.J., (2001), *Buku Saku Patofisiologi*, EGC, Jakarta.
- Dar, A. M., Mir, S., (2017), Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges, *J Anal Bioanal Tech*, Vol 8, Hal 2-8.
- DeFronzo, R.A., Davidson, J.A., del Prato, S., (2012), The Role of The Kidneys in Glucose Homeostasis: a New Path Towards Normalizing Glycaemia. *Diabetes Obes Metab*, Vol 14, Hal 5–14.
- DeLano, W. L., & Bromberg, S. (2004). *PyMOL User's Guide*. San Carlos, California, U.S.A: DeLano Scientific LLC.
- Fauci a., Braunwald, E., Kasper, D., Hauser, S., Longo, D., (2009), *Harrison's Manual of Medicine*, McGraw Hill, New York.
- Funkhouser, T., (2007), *Protein-Ligand Docking Methods*. Princeton, New Jersey, U.S.A: Princeton University.

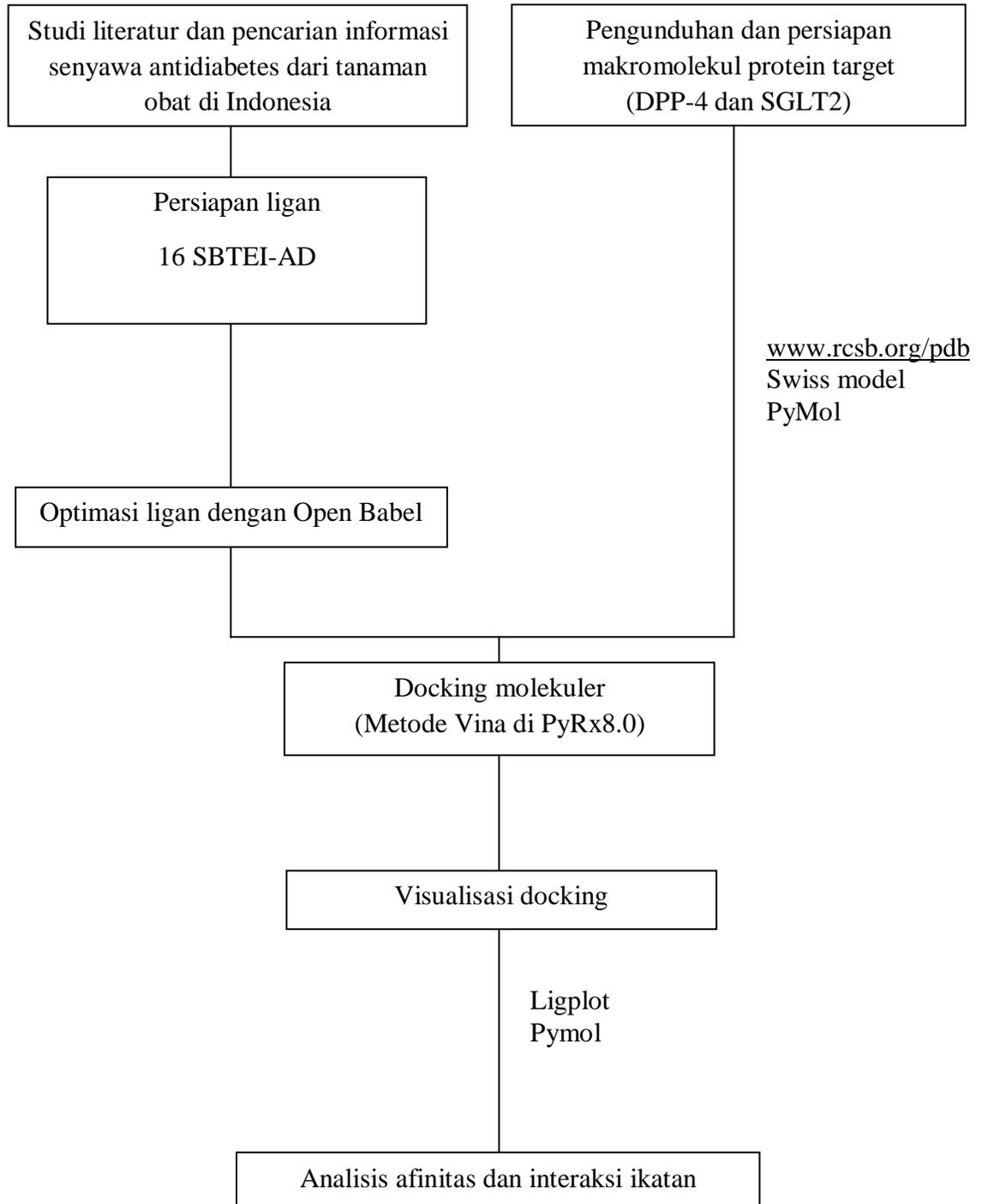
- Guasch, L., Sala, E., Ojeda, M.J., Valls, C., Blade', C., (2012) Identification of Novel Human Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitors of Natural Origin (Part II): In Silico Prediction in Antidiabetic Extracts. *PLoS ONE*, Vol 7, Hal 1-7.
- Guyton, A.C., Hall, J.E., (2014), *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Habtemariam, S., Lentini, G., (2015), The Therapeutic Potential of Rutin for Diabetes: An Update, Vol 15, Hal524-528.
- Henry, R.R., (2003), Insulin Resistance: from Predisposing Factor to Therapeutic target in Type 2 Diabetes, *Clin Ther*, Vol 25, Hal 47-63.
- Herman G.A, Stevens C, Van Dyck K, Bergman A, Yi B, De Smet M, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Tanaka W, Wang AQ, Zeng W, Musson D, Winchell G, Davies MJ, Ramael S, Gottesdiener KM, Wagner JA, (2015), Pharmacokinetics And Pharmacodynamics Of Sitagliptin, An Inhibitor Of Dipeptidyl Peptidase IV, In Healthy Subjects: Results From Two Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Studies With Single Oral Doses. *Clin Pharmacol Ther*. Vol 78, Hal 675-688.
- Jeffrey, G.A., (1997), An introduction to hydrogen bonding. Oxford University Press, Oxford.
- Joshi, S.R., Parikh, R.M., Das, A.K., (2007), Insulin-history, biochemistry, physiology and pharmacology, *J. Assoc. Phys. India*, Vol 5, Hal 19-37.
- Kalra, S., (2014), Sodium Glucose Co-Transporter-2 (SGLT2) Inhibitors: A Review of Their Basic and Clinical Pharmacology, *Diabetes Ther*, Vol 5, Hal 355–366.
- Kangralkar, V.A. , Patil, S.D., Bandivadekar, R.M., (2010), Oxidative stress and diabetes: a review, *Int. J. Pharm. Appl.*, vol 1, Hal 38-45
- Kim, S., Nian. C, Doudet, D.J., Mcintosh, C. H. S., (2008),. Inhibition of Dipeptidyl Peptidase IV with Sitagliptin (MK0431) Prolongs Islet Graft Survival in Streptozotocin-induced Diabetic Mice. *Diabetes*, Vol 57, Hal 1331-1340.
- Kroemer, R.T., (2003), Molecular Modelling Probes: Docking and Scoring, *Biochemical Transactions*, Vol 31, Hal 980-984.
- Lengauer, T.; Rarey, M., (1996), Computational Methods for Biomolecular Docking., *Curr Opin. Struct. Biol.*, Vol 6, Hal 402-406.
- Lipinski, C.A., (2001), Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Depelopment Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol 46, Hal 3-26.
- Lipinski, C. A., (2004), Drug Discovery Today: *Technologie*, Vol 1, Hal 337-341.
- Loghmani, E., (2005). Diabetes Mellitus: Type 1 and Type 2. In: Stang, J., Story, M. (Eds),. *Guidelines for Adolescent Nutrition Services*, Vol 3, Hal 16-26.
- Maitra, A., Abbas, A.K., (2005), *The endocrine system. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease*, Elsevier Saunders, Philadelphia.

- Mayfield, J.A., White, R.D., (2004), Insulin Therapy for Type 2 Diabetes: Rescue, Augmentation, and Replacement of Beta-Cell Function, *Am Fam Physician*, Vol 70, Hal 489-501.
- Meshram, S. S., Itankar, P.R., Patil, A.T., (2013), To Study Antidiabetic Activity of Stem Bark of *Bauhinia purpurea* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Vol.2, Hal 171-175.
- Michael J.F., (2007), Diabetes Treatment, Part 2: Oral Agents for Glycemic Management, *Diabetes Foundation*, Vol 25, Hal 131-134.
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., Hutchison, G. R., (2011), Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. Vol5, Hal 20-24.
- Opinto, G., (2013), Physiology of Incretins and Loss of Incretin Effect in Type 2 Diabetes and Obesity, *Arch Physiol Biochem*, Vol 119, Hal 170-178.
- Patrick, G., (2001), *Instant Notes in Medicinal Chemistry*. BIOS Scientific Publisher, Oxford.
- Pebriana, R.B., Romadhon, A.F., Yuniarto, A., (2008), *Docking Kurkumin Dan Senyawa Analognya Pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya Sebagai Selective Progesterone Receptor Modulators (Sprms) Docking Of Curcumin And Its Analogues On Progesterone Receptor*, *Pharmacon*, Vol 9, Hal 14-20.
- Rachmania, R.A., Supandi, Larasati, O.A., (2015), Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Pada Reseptor *Alpha-Glucosidase* Sebagai Antidiabetes Tipe I, *Pharmacy*, Vol 12, Hal 210-212.
- RCSB. (2014, March 10). About the PDB Archive and the RCSB PDB. Retrieved from Protein Data Bank: [http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general\\_information/about\\_pdb/index.htm](http://www.rcsb.org/pdb/static.do?p=general_information/about_pdb/index.htm)
- Savithamma, N., Rao, M.N., Suhrulatha, D., (2011). Screening of Medicinal Plants for Secondary Metabolites. *Middle East Journal of Scientific Research*, Vol 8, Hal 579-584.
- Sandeep, G., Nagasree, K. P., Hanisha, M., Murali, M., & Kumar, K. (2011). *AUDocker LE: A GUI for virtual screening with AUTODOCK Vina*. BMC Research Notes.
- Seino, Y., Nanjo, K., Tajima, N., (2010), Report of The Committee on The Classification and Diagnostisic Criteria of Diabetes Mellitus: The Committee of the Japan Diabetes Society on the Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes Investigation*, Vol 1, Hal 212-228.
- Shafiullah, M., Parveen, M., Kamil, M., Illyas, M., (1995). A new isoflavone Cglycoside from *Cassia siamea* L. *Fitoterapia*, Vol 65, Hal 339-341

- Sheehan, M.T., (2003), Current Therapeutic Options in Type 2 Diabetes Mellitus: a Practical Approach, *Clinical Medicine and Research*, Vol 1, Hal 189–200.
- Steenis, CGGJ van, (1981), *Flora, untuk sekolah di Indonesia*. PT Pradnya Paramita, Jakarta.
- Simanjuntak R.M., (2015), Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekuler Kompleks A-Glukosidase dengan Sepuluh Senyawa Kimia Tanaman Hasil Virtual Screening Dari Basis Data Herbal, Universitas Indonesia, 2015
- Singh, D.R., (2012), *Morinda citrifolia* L. (Noni): A review of the scientific validation for its nutritional and therapeutic properties, *Journal of Diabetes and Endocrinology*, Vol 3, Hal 54-59.
- Skyler, J.S., (2004) Diabetes Mellitus: Pathogenesis and Treatment Strategies. *Chemistry*. Vol 47, Hal 4113–4117.
- Sukenti, K., Guhardja, Purwanto, Y., (2004), Kajian Etnobotani Serat Centhini. *Journal of Tropical Ethnobiology*. Vol 2.
- Sutrisna, E., (2015), *Cataranthus roseus* (Tapak Dara): A controversial ‘ Medicine Plant in Indonesia, *Int. J. Res. Ayurveda Pharm*, Vol 6, Hal 629-633
- Sowbhagya, H.B., (2014), Chemistry, Technology, and Nutraceutical Function of Celery (*Apium graveolens* L.): An Overview, *Crit Rev Food Sci Nutr*, Vol 54, Hal 389-398
- Vilsbøll, T, Christensen, M., Junker, A.E., Knop, F.K., Gluud, L.L., (2012), Effects of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists on Weight Loss: Systematic Review and Meta-analyses of Randomised Controlled Trials, *BMJ*, Vol 344, Hal 1-11.
- Wink, M., (1987). Physiology of the Accumulation of Secondary Metabolites with Special Reference to Alkaloids. *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*. Vol.4. Hal 5-10.
- Wiwaha, G., (2012), Tinjauan Etnofarmakologi Tumbuhan Obat/Ramuan Obat Tradisional untuk Pengobatan Dislipidemi yang Menjadi Kearifan Lokal di Provinsi Jawa Barat, *Jurnal Medika Planta*, Volume 2, Hal63-68.
- Wright, E.M., Loo, D.D., Hirayama, B., (2011), Biology of Human Sodium Glucose Transporters, *Physiol Rev*, Vol 91, Hal 733–794.
- Zou, H., Zhou, B., Xu, Gaosi., (2017), SGLT2 inhibitors: a novel choice for the combination therapy in diabetic kidney disease, *Cardiovasc Diabetol*, Vol.16, Hal 1-11.
- Zukhurullah, M., Aswad, M., Subehan, S., (2012), Kajian beberapa senyawa antiinflamasi: docking terhadap siklooksigenase-2 secara in silico. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vol 16, Hal 37–44

## Lampiran 1. Skema Kerja

### SKEMA KERJA



*“Halaman sengaja dikosongkan”*

## Lampiran 2. Daftar Tanaman Etnofarmaka Indonesia Berpotensi Antidiabetes

No	Nama lokal	Nama latin	Senyawa diduga berpotensi antidiabetes	Gambar	Literatur
1.	Tumpangan air	<i>Peperomia pellucida</i>	<i>Yohimbine</i>		Sutrisna, 2015; Pubchem 2017
2.	Mengkudu	<i>Morinda citrifolia</i>	<i>Rutin</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
3.	Tapak dara	<i>Catharantus roseus</i>	<i>6-deoxoteasterone</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
4.	Ceplukan	<i>Physalis angulata</i>	<i>Withangulatin A</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
5.	Kastuba	<i>Euphorbia pulcherrima</i>	<i>Lanosterol</i>		Sowbhagya, 2014; Pubchem 2017
6.	Johar	<i>Cassia siamea</i>	<i>Cassiamin C</i>		Gosh et al., 2014; Pubchem 2017

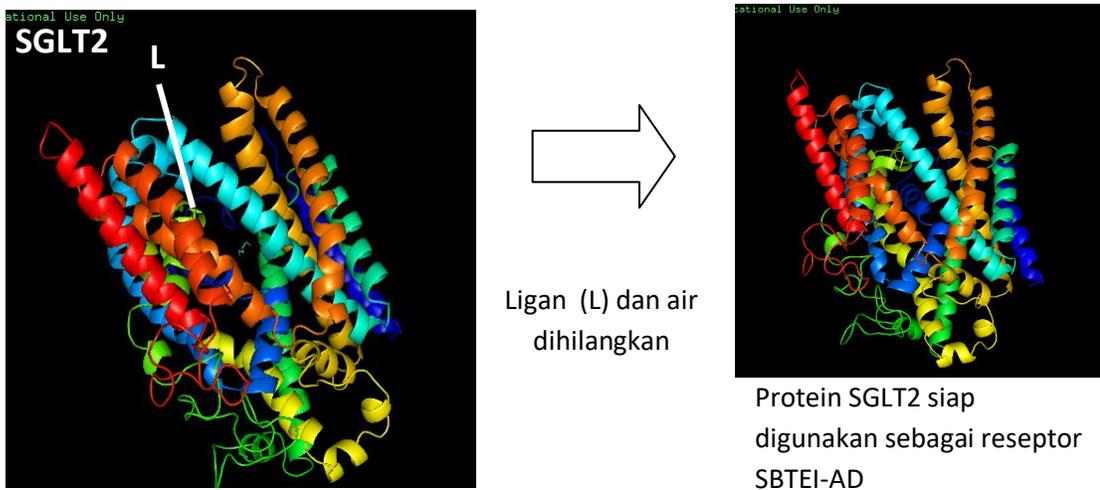
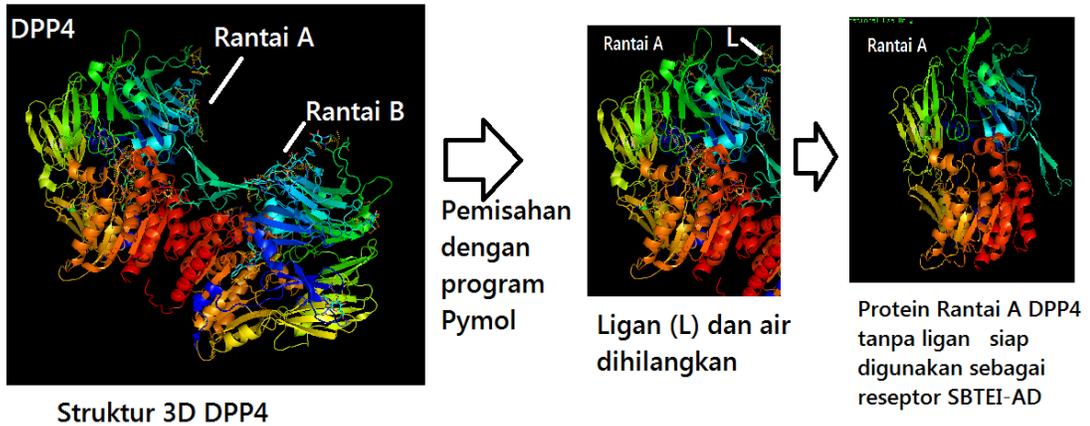
7	Pegagan	<i>Centella asiatica</i>	<i>Asiatic acid</i>		Dang et al., 2003; Pubchem 2017
8.	Alang-alang	<i>Imperata cylindrica</i>	<i>Isoarborinol</i>		Jeyam et al., 2014; Pubchem 2017
9.	Asparagus	<i>Asparagus officinalis</i>	<i>Yamogenin</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
10.	Bunga pagar	<i>Lantana camara</i>	<i>Lantic acid</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
11.	Gembolo	<i>Dioscorea bulbifera</i>	<i>Diosgenin</i>		Masitha, 2011; Pubchem 2017
12.	Kedelai	<i>Glycine max</i>	<i>Genistein</i>		Selvaraj et al., 2016

13.	Jahe	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Gingerols</i>		Simanjutak 2015; Pubchem 2017
14.	Jeruk bali	<i>Citrus maxima</i>	<i>Naringin</i>		Masitha, 2011; Pubchem, 2017
15.	Pinang	<i>Areca catechu</i>	<i>Arecoline</i>		Simanjutak 2015; Pubchem, 2017
16.	Seledri	<i>Apium graveolens</i>	<i>Celerioside</i>		Akhila et al., 2012; Pubchem, 2017

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

### Lampiran 3. Proses penyiapan struktur 3D protein DPP4 dan SGLT2

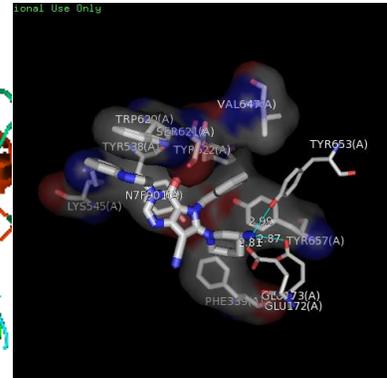
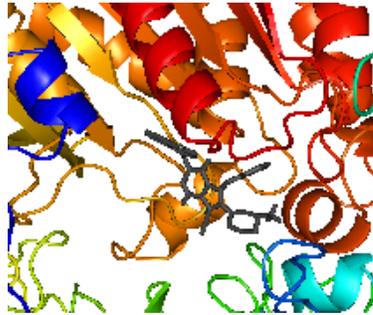
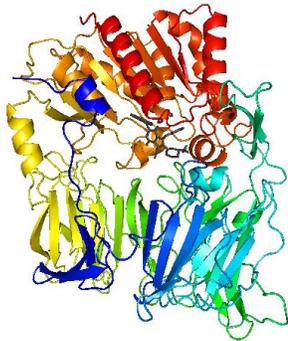
Proses penyiapan struktur 3D protein DPP4 dan SGLT2 sebagai protein target untuk docking molekular menggunakan *software* PyMol



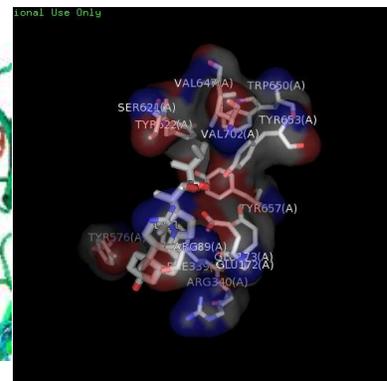
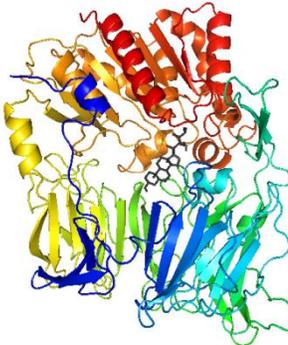
*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## Lampiran 4. Visualisasi 3D interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan DPP4

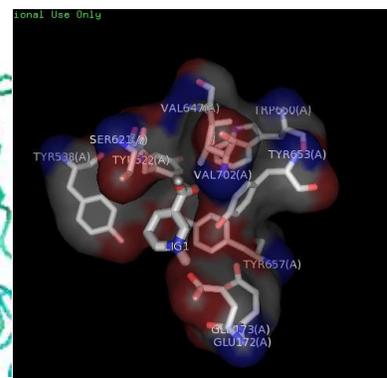
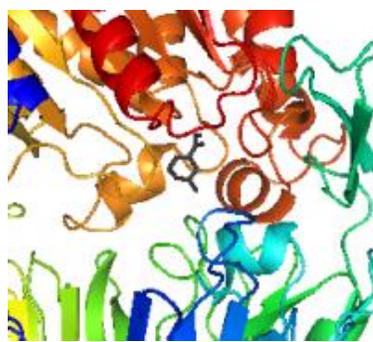
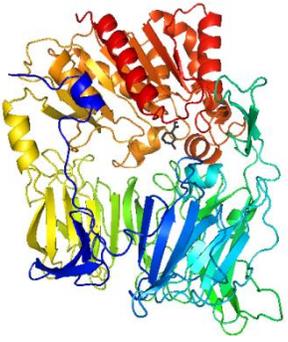
### Interaksi ligan natif dengan DPP4



### Interaksi 6-deoxoteasterone dengan DPP4

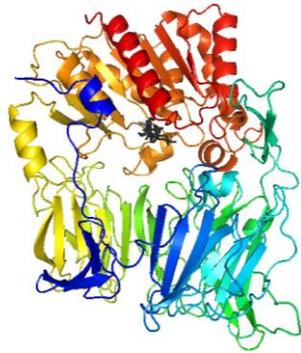


### Interaksi arecoline dengan DPP4

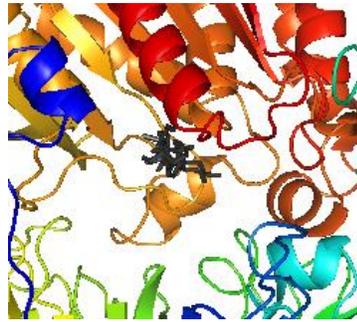


### Interaksi asiatic acid dengan DPP4

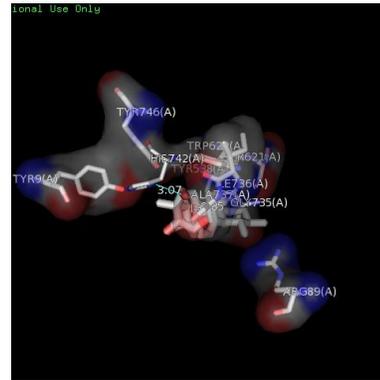
Nonatlonal Use Only



(a)



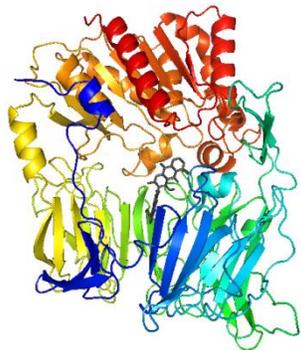
(b)



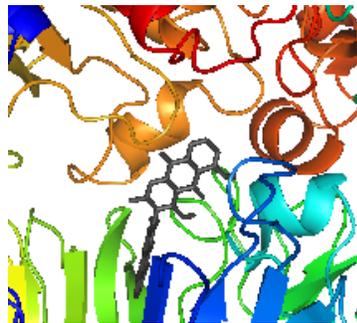
(c)

### Interaksi cassiamin C dengan DPP4

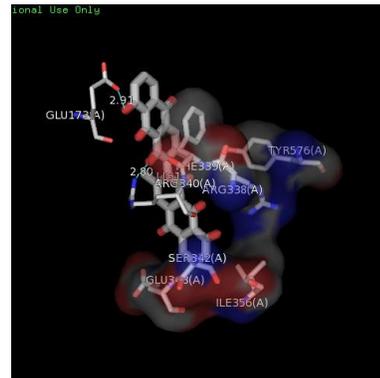
Nonatlonal Use Only



(a)



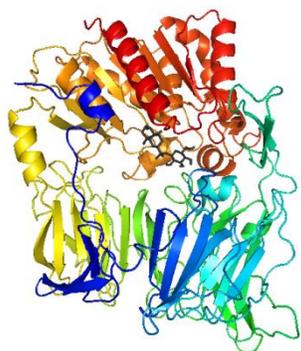
(b)



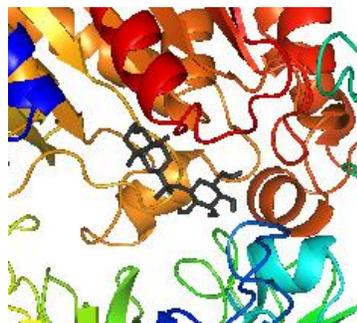
(c)

### Interaksi elerioside dengan DPP4

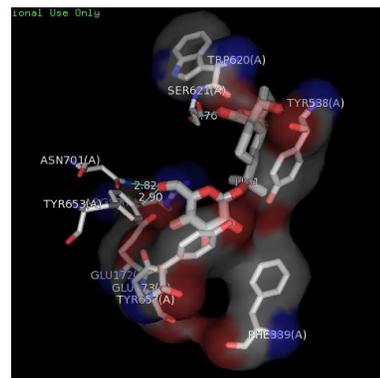
Nonatlonal Use Only



(a)



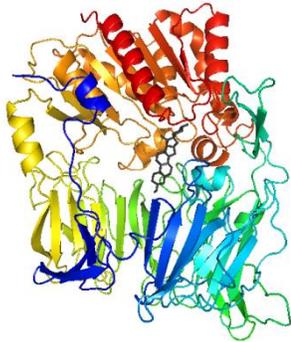
(b)



(c)

### Interaksi diosgenin dengan DPP4

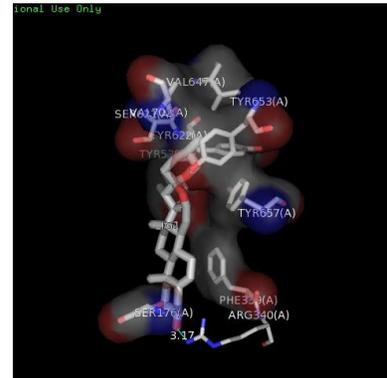
Acetazolamid Use Only



(a)



(b)



(c)

### Interaksi genistein dengan DPP4

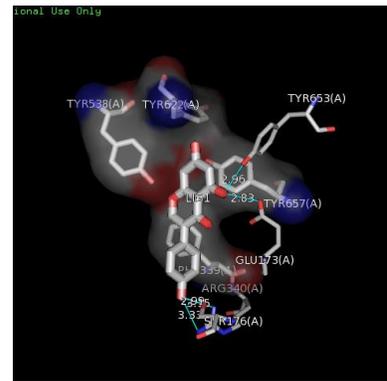
Acetazolamid Use Only



(a)



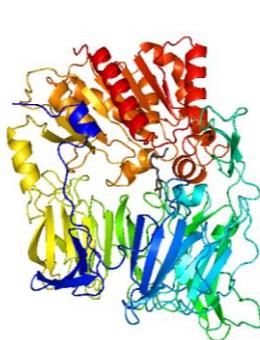
(b)



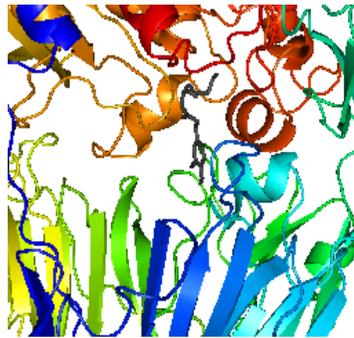
(c)

### Interaksi gingerol dengan DPP4

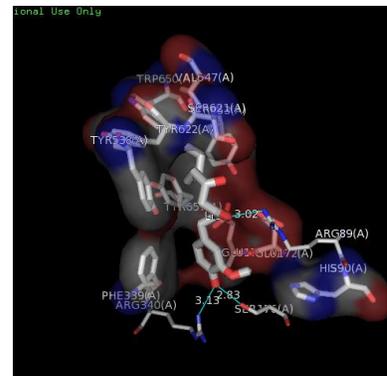
Acetazolamid Use Only



(a)



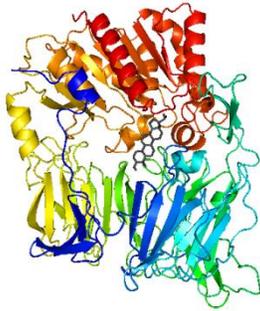
(b)



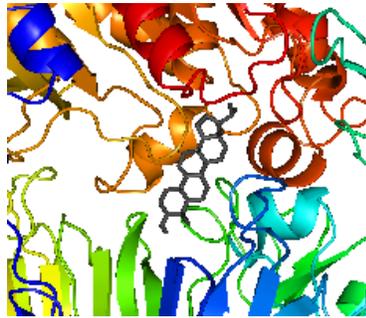
(c)

### Interaksi isoarborinol dengan DPP4

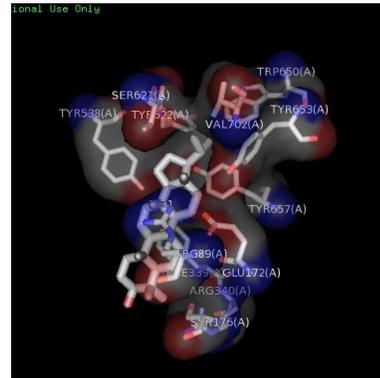
Acetational Use Only



(a)



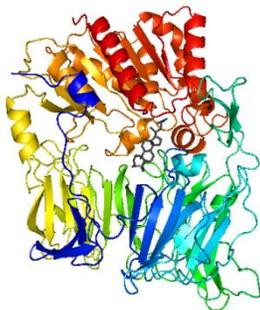
(b)



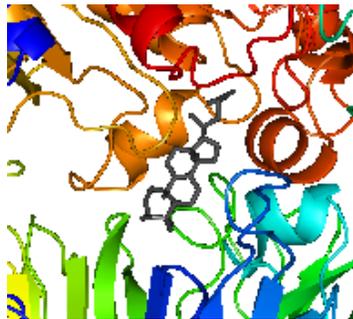
(c)

### Interaksi lanosterol dengan DPP4

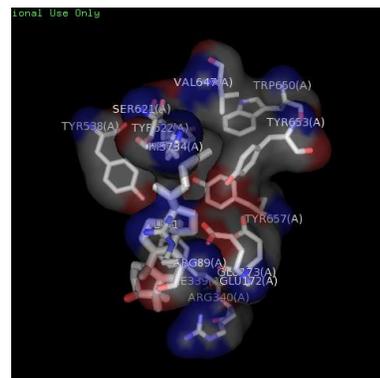
Acetational Use Only



(a)



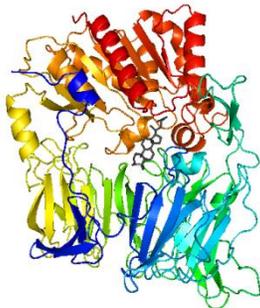
(b)



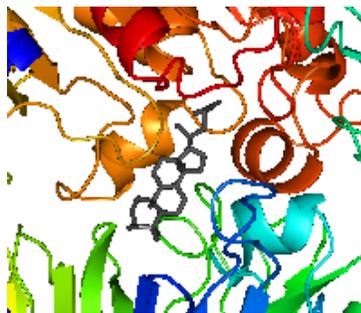
(c)

### Interaksi lactic acid dengan DPP4

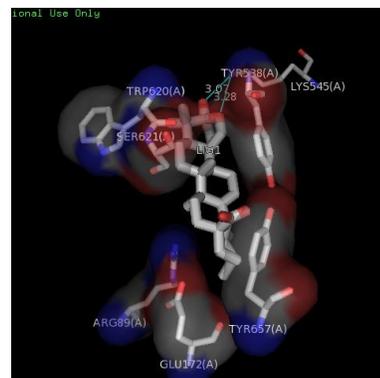
Acetational Use Only



(a)



(b)

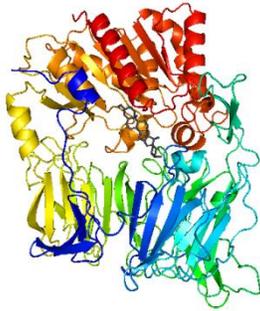


(c)

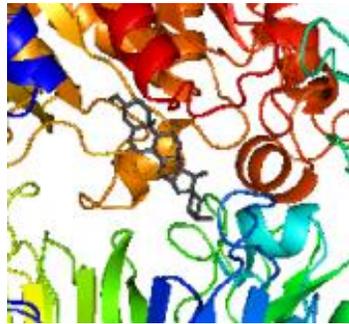


### Interaksi yamogenin dengan DPP4

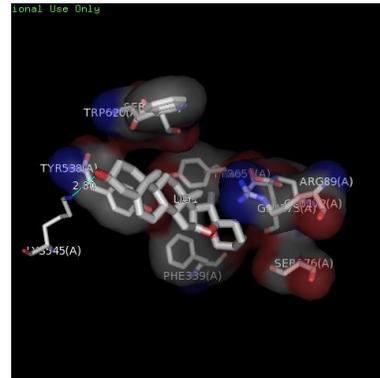
Biocatal Use Only



(a)



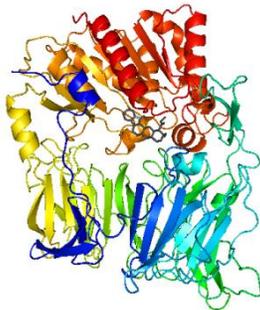
(b)



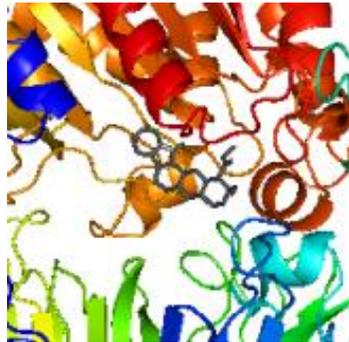
(c)

### Interaksi yohimbine dengan DPP4

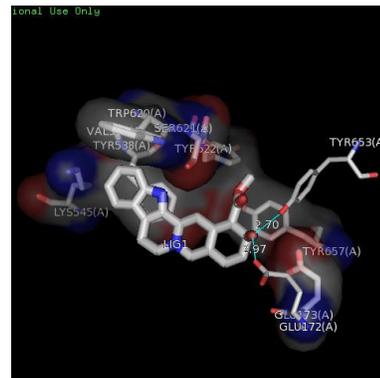
Biocatal Use Only



(a)



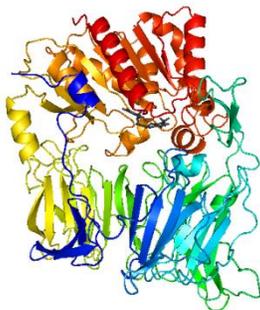
(b)



(c)

### Interaksi sitagliptin dengan DPP4

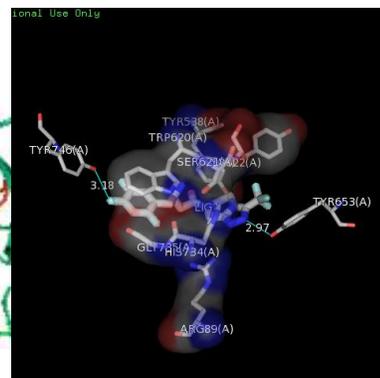
Biocatal Use Only



(a)



(b)



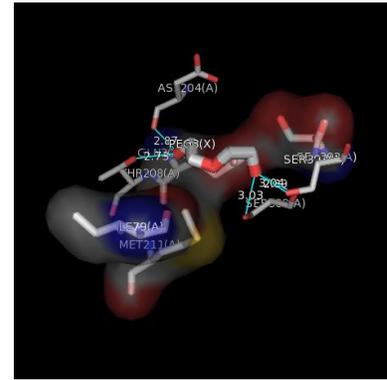
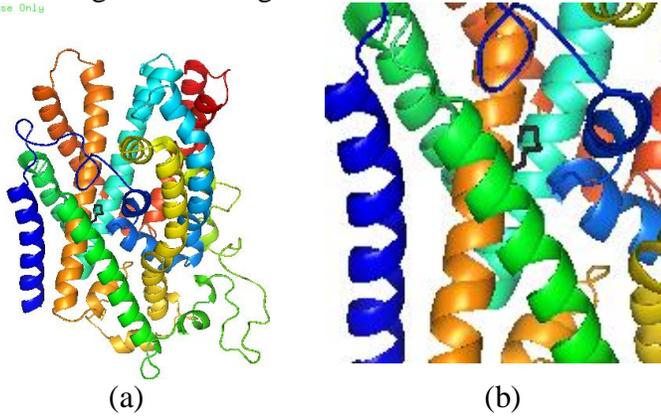
(c)

Ket : Keseluruhan kompleks makromolekul protein dan ligan (a), perbesaran pada situs interaksi protein dan ligan (b), situs interaksi ligan dan protein (c).

## Lampiran 5. Visualisasi 3D interaksi ligan 16 SBTEI-AD dengan SGLT2

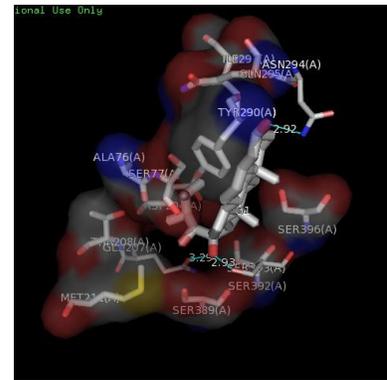
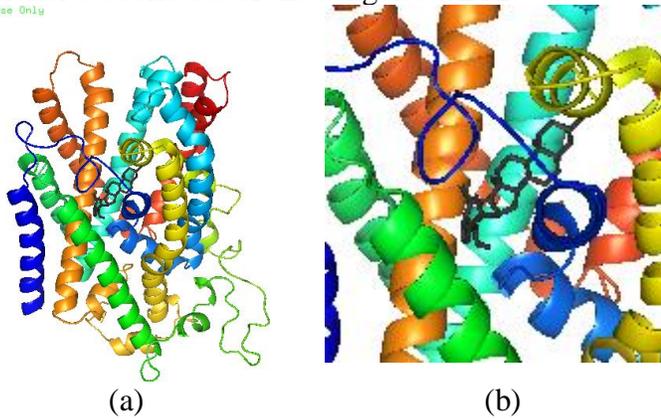
### Interaksi ligan natif dengan SGLT2

Iconal Use Only



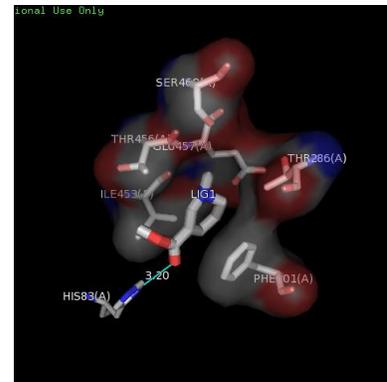
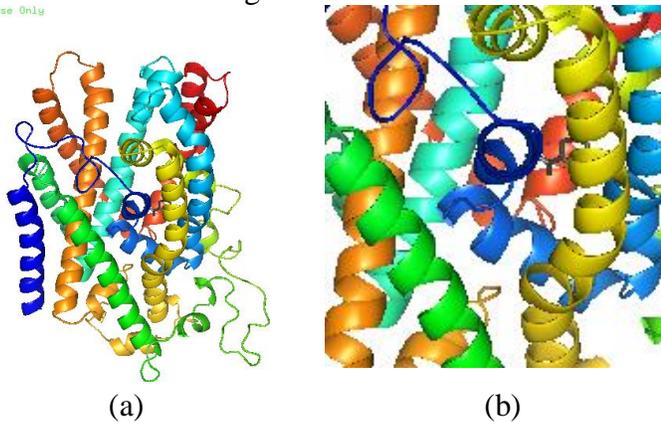
### Interaksi 6-deoxoteasterone dengan SGLT2

Iconal Use Only

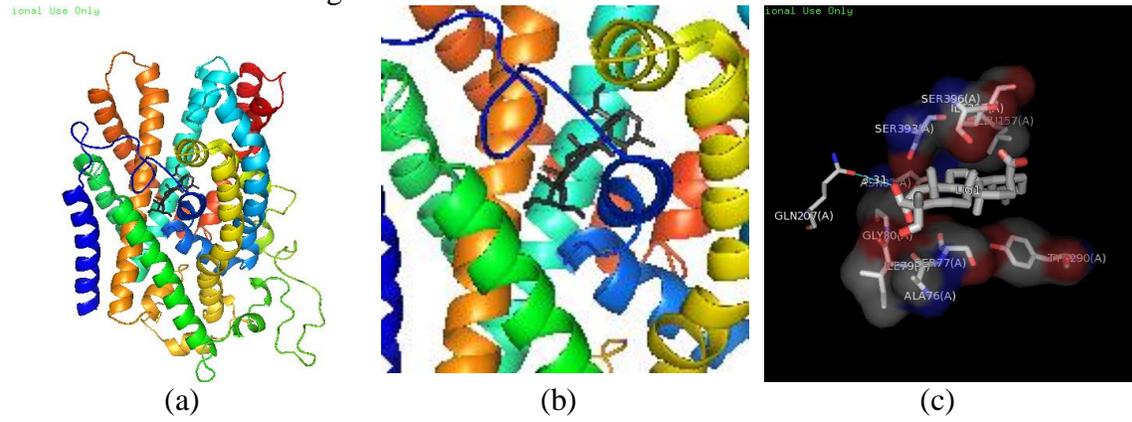


### Interaksi arecoline dengan SGLT2

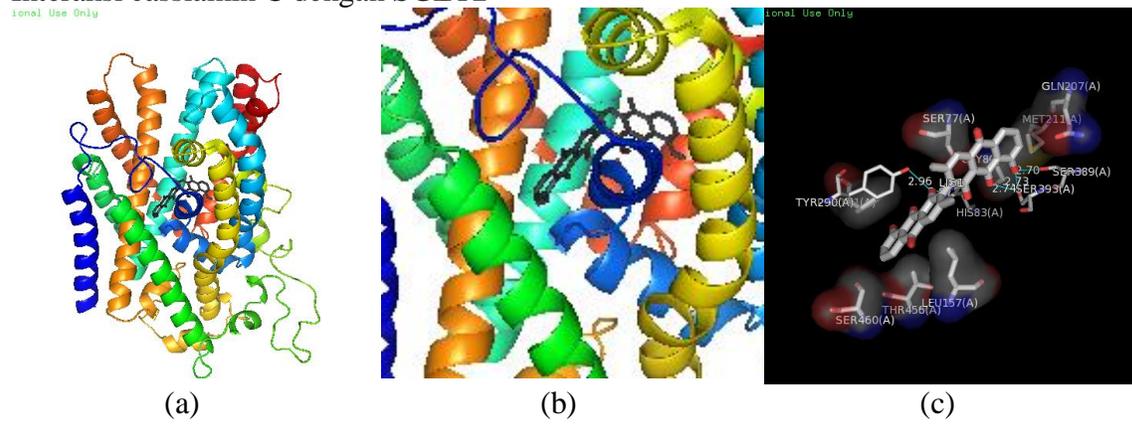
Iconal Use Only



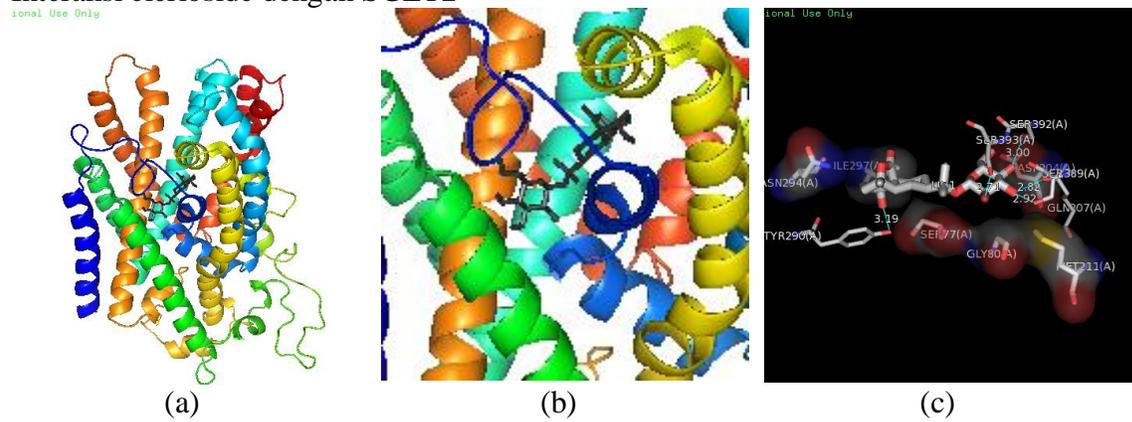
### Interaksi asiatic acid dengan SGLT2



### Interaksi cassiamin C dengan SGLT2

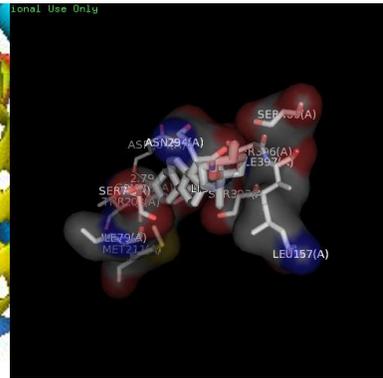
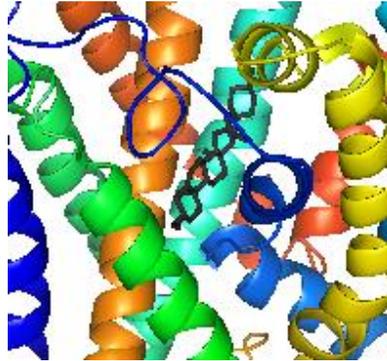
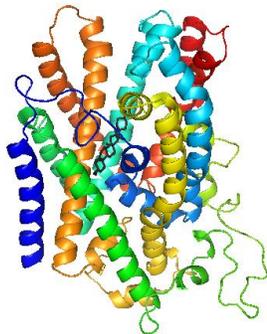


### Interaksi elerioside dengan SGLT2



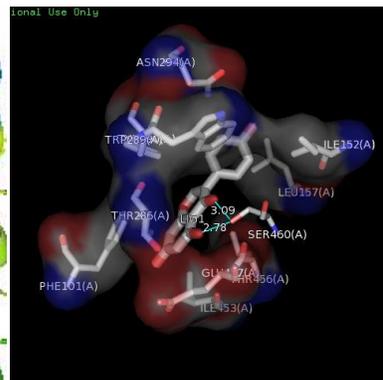
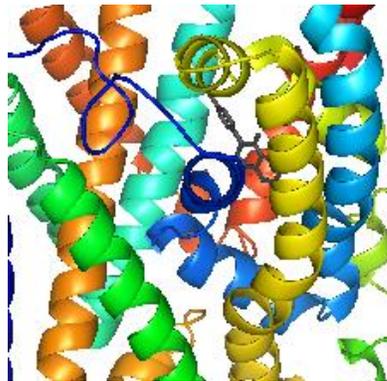
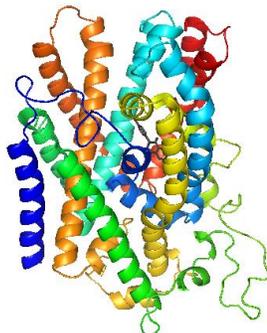
### Interaksi diosgenin dengan SGLT2

ional Use Only



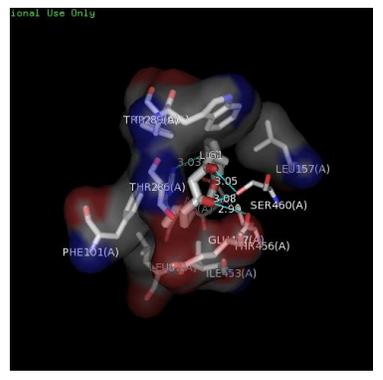
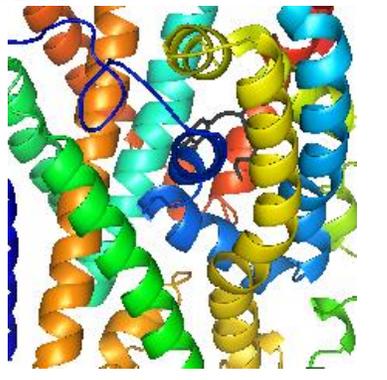
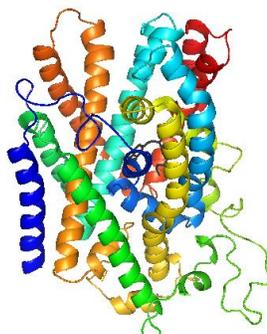
### Interaksi genistein dengan SGLT2

ional Use Only

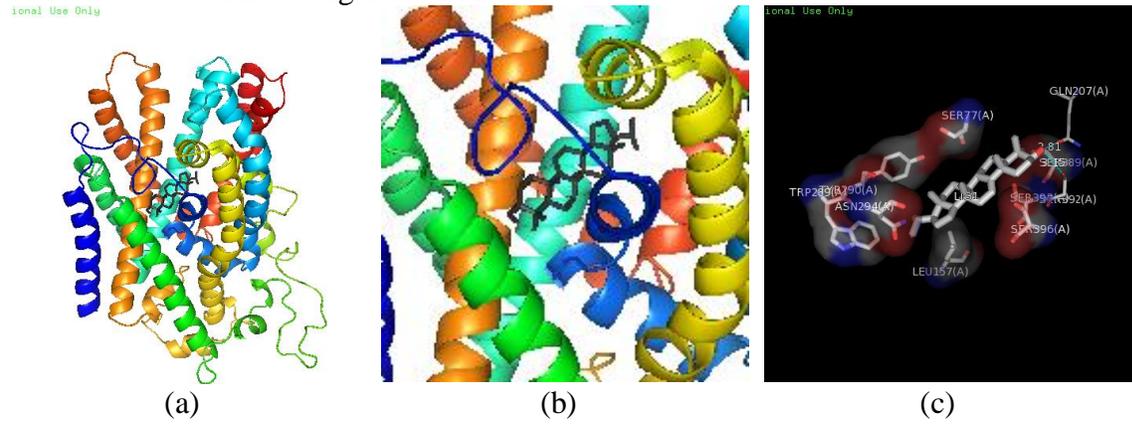


### Interaksi gingerol dengan SGLT2

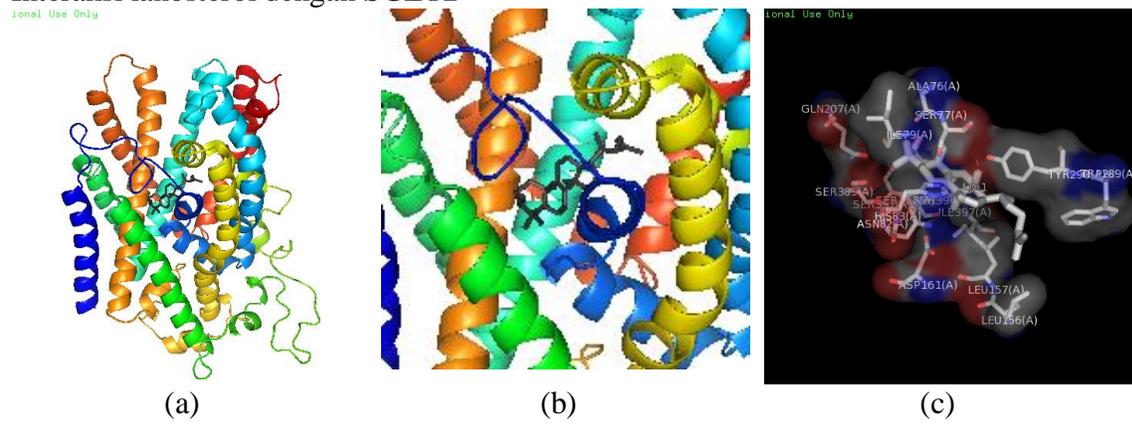
ional Use Only



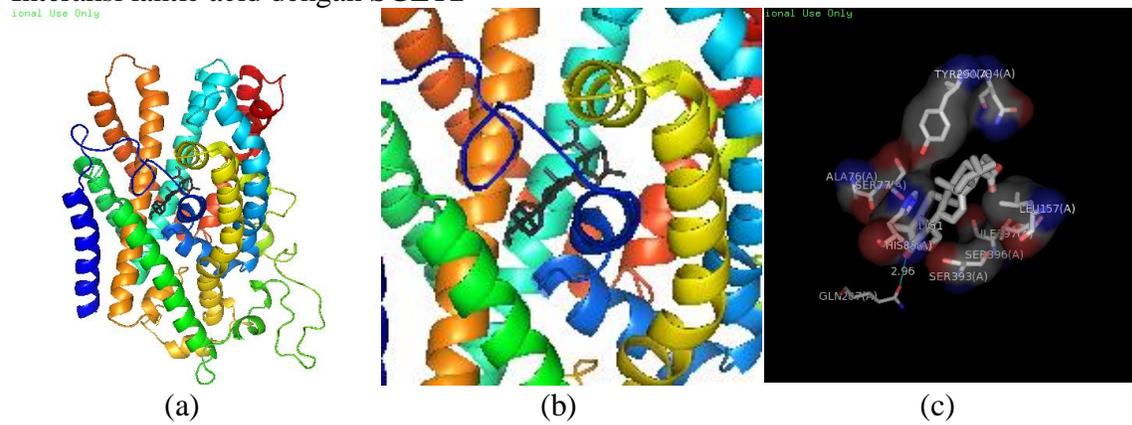
### Interaksi isoarborinol dengan SGLT2



### Interaksi lanosterol dengan SGLT2

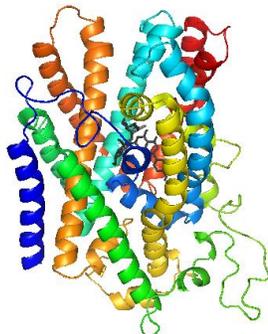


### Interaksi lactic acid dengan SGLT2

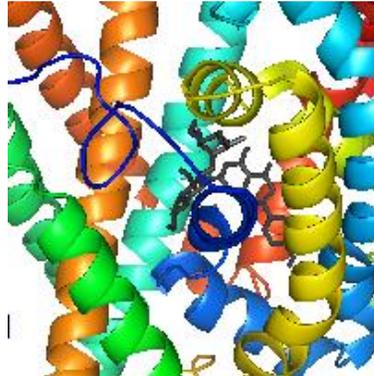


### Interaksi naringin dengan SGLT2

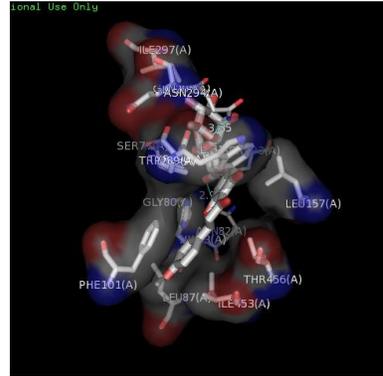
ional Use Only



(a)



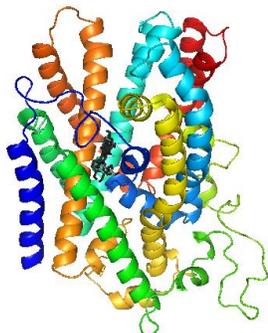
(b)



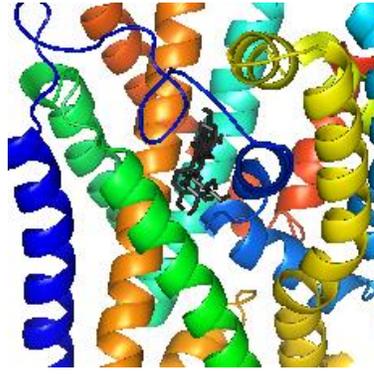
(c)

### Interaksi rutin dengan SGLT2

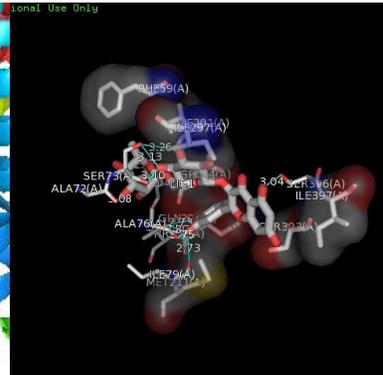
ional Use Only



(a)



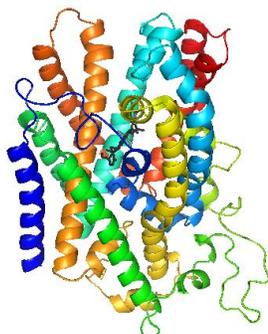
(b)



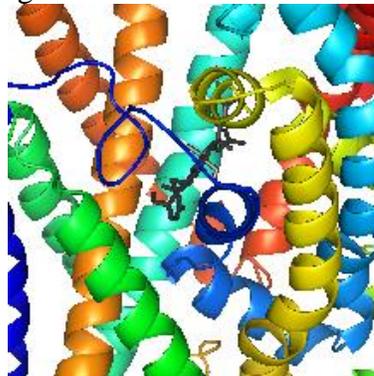
(c)

### Interaksi whitangulatin A dengan SGLT2

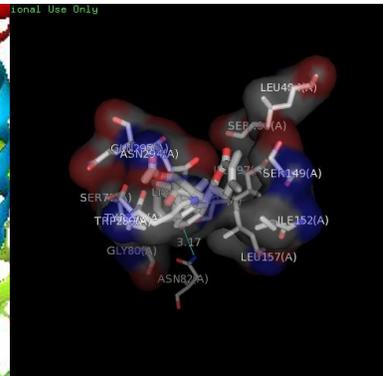
ional Use Only



(a)

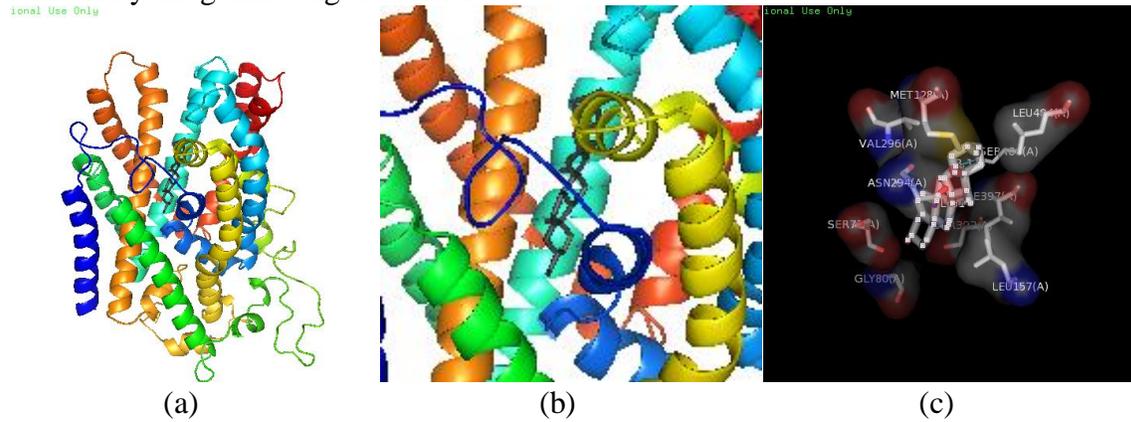


(b)

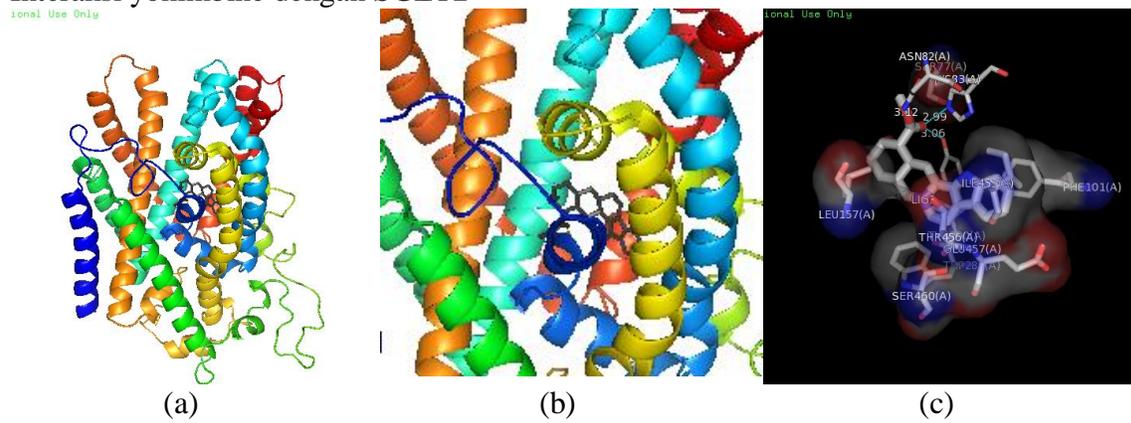


(c)

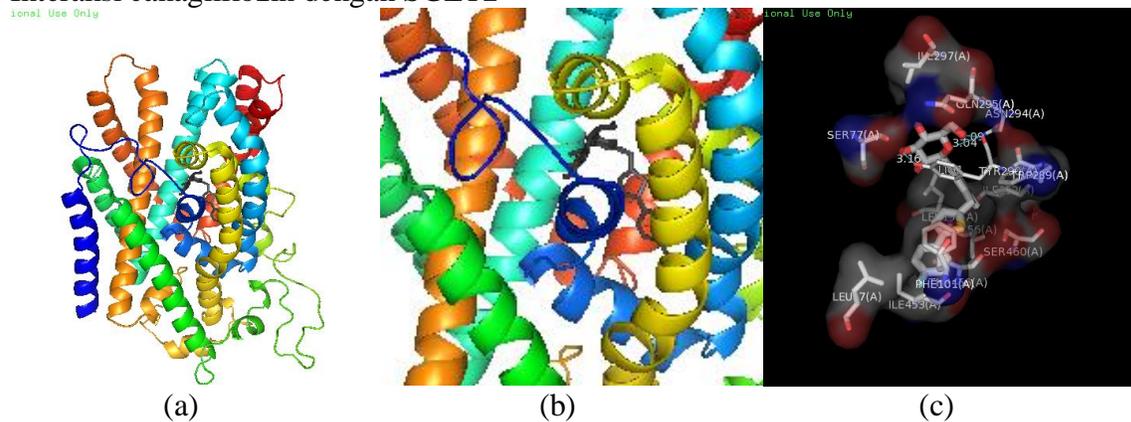
### Interaksi yamogenin dengan SGLT2



### Interaksi yohimbine dengan SGLT2



### Interaksi canagliflozin dengan SGLT2



Keseluruhan kompleks makromolekul protein dan ligan (a), perbesaran pada situs interaksi protein dan ligan (b), situs interaksi ligan dan protein (c).