

Studi In Silico Senyawa Bioaktif pada Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*), Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.), Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Sebagai Antidiabetes Mekanisme Kerja Inhibitor SGLT-2

Andri Prasetyo^{1*}, Esti Mumpuni¹, Sekar Harsti Rahmadhani¹, Saeful Amin²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Jl. Lenteng Agung Raya No.56, RT.1/RW.3, Srengseng Sawah, Jagakarsa, South Jakarta, Jakarta, Indonesia.

²Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Jl. Letjen Mashudi No. 20 Tasikmalaya Jawa Barat, Indonesia

Corresponding author: andriprasetyo@univpancasila.ac.id

Received: 15 June 2024, Accepted: 20 August 2024

Abstract: Diabetes mellitus is a metabolic disease characterized by hyperglycemia in which the pancreas does not produce enough insulin or the body cannot use insulin effectively. Yacon leaves, secang wood and salam leaves have anti-diabetic potential, but it is not yet known which specific compounds are involved in the mechanism of SGLT-2 inhibitors. This study aims to analyze the potential of bioactive compounds in yacon leaves, secang wood, and salam leaves to inhibit the SGLT-2 enzyme in silico. Data on active compounds were obtained from the PubChem page. Crystals of human SGLT2-MAP17 complex structures bound with empagliflozin in the occluded conformation were obtained from Protein Data Bank with codes 7VSI. Molecular docking using Molegro Virtual Docker and molecular dynamic simulation using YASARA Dynamics. The molecular docking results obtained eight compounds with a rerank score value that is more negative than the comparison compound (empagliflozin and canagliflozin). Visualization results show that the amino acid residues that play an important role are PHE 98 and VAL 157. The results of molecular dynamics show that the ligand complex has the best bond stability and is more stable than other test ligands. A stable compound, namely 3,4-Dicaffeoyquinic acid, was produced.

Keywords: Diabetes Mellitus, SGLT-2 inhibitor, Molecular docking, molecular dynamic

Abstrak: Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia dimana pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin secara efektif. Daun yakon, kayu secang dan daun salam memiliki potensi sebagai antidiabetes, namun belum diketahui senyawa spesifik mana yang terlibat dalam mekanisme sebagai penghambat SGLT-2. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun yakon, kayu secang dan daun salam dalam menghambat enzim SGLT-2 secara *in silico*. Data senyawa aktif didapatkan dari laman PubChem. Kristal struktur dari *Structure of human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin* didapatkan dari *Protein Data Bank* dengan PDB ID: 7VSI. *Molecular docking* menggunakan *Molegro Virtual Docker* dan simulasi *molecular dynamic* menggunakan *YASARA Dynamics*. Hasil *molecular docking* didapatkan 3 senyawa memiliki nilai *rerank score* lebih *negative* dari senyawa pembanding (empagliflozin). Hasil visualisasi menunjukkan residu asam amino yang berperan penting ialah PHE 98 dan VAL 157. Hasil *molecular dynamics* menunjukkan kompleks ligan 3,4-Dicaffeoyquinic acid memiliki kestabilan ikatan paling baik dan stabil dari ligan uji lainnya. Dihasilkan senyawa yang stabil, yaitu 3,4-Dicaffeoyquinic acid.

Kata kunci: Diabetes Mellitus, Penghambat SGLT-2, *Molecular docking*, *Molecular Dynamic*

DOI: 10.15408/pbsj.v6i2.39508

1. PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan kelainan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah akibat produksi insulin yang tidak mencukupi oleh pankreas atau penggunaan insulin yang tidak efektif

oleh tubuh (Yulianti *et al.*, 2020). Pasien didiagnosis menderita diabetes melitus (DM) jika kadar glukosa darah puasa melebihi 126 mg/dL atau kadar glukosa darah langsung melebihi 200 mg/dL (Soelistijo,

2021). Data terkini *International Diabetes Federation* (IDF) dalam Atlas edisi ke-10 mengungkapkan bahwa sekitar 537 juta orang dewasa berusia antara 20 dan 79 tahun terkena diabetes. Diperkirakan angka ini akan meningkat menjadi 700 juta pada tahun 2045. Angka yang diproyeksikan diperkirakan akan meningkat menjadi 783 juta. Di Asia Tenggara, jumlah orang yang meninggal karena diabetes berjumlah 6,7 juta orang, dengan Indonesia memiliki tingkat kejadian tertinggi sebesar 10,6%. Indonesia menempati posisi kelima di antara sepuluh negara dengan prevalensi individu terdampak tertinggi, yakni berjumlah 19,5 juta orang (Alberti, 1990).

Strategi awal pengobatan DM selalu dimulai dengan intervensi nonfarmakologis, seperti pengaturan pola makan, khususnya berfokus pada pengendalian berat badan pada pasien yang kelebihan berat badan atau obesitas. Terapi farmakologis dengan pemberian obat antidiabetik oral (OAD) dan atau insulin. OAD memiliki beberapa cara kerja, antara lain: 1) Pemacu sekresi insulin, seperti sulfonilurea dan glinid. 2) Peningkat sensitivitas terhadap insulin, contohnya metformin; 3) Penghambat α -glukosidase, contohnya akarbose; 4) Penghambat enzim *Dipeptidyl Peptidase-4*, contoh salah satu obatnya ialah sitagliptin; dan 5) Penghambat enzim ko-transporter 2 Natrium Glukosa (SGLT2), salah satu contoh obatnya yaitu empagliflozin. Pemberian regimen terapi OAD diberikan sesuai dengan kadar HbA1C penderita. Semakin tinggi kadar HbA1C penderita, maka semakin banyak kombinasi OAD yang dikonsumsi serta insulin yang digunakan (Soelistijo, 2021).

SGLT-2 adalah obat baru yang digunakan untuk mengurangi kadar glukosa darah pada individu dengan diabetes melitus tipe 2. Penghambat SGLT2 mengurangi reabsorpsi glukosa di tubulus sehingga meningkatkan ekskresi glukosa oleh ginjal dan akibatnya menurunkan kadar glukosa darah. Selain perannya sebagai obat antidiabetik oral (OAD), obat

golongan SGLT-2 juga diakui kemanjurannya dalam mendorong penurunan berat badan dan menurunkan tekanan darah pada penderita diabetes melitus, hal tersebut dapat mengurangi potensi obesitas pada penderita. OAD golongan penghambat SGLT-2 ini tidak menyebabkan hipoglikemik, dimana efek samping tersebut yang biasanya dihindari pada penderita DM, contoh OAD yang menimbulkan risiko hipoglikemia, diantaranya golongan sulfonilurea, glinid, dan terapi insulin (Nazli et al., 2018). Namun dari beberapa manfaat atau kelebihan yang telah kita ketahui dari mengkonsumsi OAD golongan SGLT2, terdapat beberapa kekurangan atau kerugian yang mungkin terjadi, seperti poliuria, peningkatan LDL dan hipotensi (Feingold, 2000).

Penelitian sebelumnya dilakukan terhadap beberapa ekstrak uji secara *in-vitro* ataupun *in-vivo* diketahui bahwa beberapa tanaman telah ditemukan efektif menurunkan kadar glukosa lebih dari 60% dalam penelitian laboratorium. Misalnya saja, ekstrak etanol daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) menurunkan kadar glukosa darah sebesar 63,39% dan meningkatkan insulin sebesar 49,30%. Studi tersebut menemukan penurunan kadar glukosa pada tikus dari 400 mg/dL menjadi 100 mg/dL, serta peningkatan kadar insulin pada tikus diabetes dari 25 pmol/L menjadi 30 pmol/L. Hal ini dicapai melalui aksi enzim α -glukosidase, menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $1,30 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ (Elawati & Yuanita, 2021); sedangkan pada penelitian sebelumnya dilakukan uji *in-vivo* terhadap ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sapan L.*) Berbeda dengan penelitian sebelumnya, peneliti melakukan percobaan *in vivo* pada ekstrak etanol kayu secang (*Caesalpinia sapan L.*) (Dwi, 2020).

Pada penelitian isolasi daun salam (*Syzygium polyanthum*), senyawa polar pada fraksi air daun salam dipisahkan dari ekstrak etanol 96% daun salam

menggunakan kromatografi, kemudian senyawa hasil isolasi tersebut diuji kemampuannya dalam menghambat enzim α -glukosidase. Penelitian menunjukkan bahwa molekul kimia stigmasterol yang terdapat pada isolat fraksi air daun salam menunjukkan efek penghambatan terhadap enzim α -glukosidase, dengan nilai IC₅₀ sebesar 21,54 ppm (Galicia-Garcia et al., 2020). Ketiga tanaman tersebut telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antidiabetes dengan mekanisme kerja penghambat α -glukosidase, tetapi belum diketahui apakah ketiga tanaman tersebut dapat berpotensi sebagai antidiabetes dengan mekanisme kerja penghambat SGLT-2. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk mencari lebih luas mengenai senyawa kimia yang berpotensi dalam menghambat SGLT-2 secara *in-silico* dan mendapatkan OAD golongan penghambat enzim SGLT-2 dengan harga yang relatif murah melalui aktivitas senyawa aktif dari ketiga bahan alam tersebut. Salah satu metode yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi/menseleksi potensi senyawa baru sebagai calon obat secara komputerisasi yaitu metode *in-silico* melalui *virtual screening* dengan *molecular docking* menggunakan *software Molegro Virtual Docker*.

Penggunaan metode *in silico* ini cenderung lebih murah dan mudah karena tidak menggunakan peralatan laboratorium dan hewan coba. Prinsip penelitian ini adalah dengan memprediksi apakah suatu senyawa baru sebagai calon obat dapat berikatan secara selektif dengan reseptor dengan penambatan molekul menggunakan program *Molegro Virtual Docker* dan *Molecular Dynamic* dalam mendesain obat, dimana ligan atau obat yang akan berikatan dengan protein target (Ferreira et al., 2015). Protein yang digunakan adalah reseptor enzim yang disebut *sodium glucose co-transporter 2* (SGLT-2), yang berfungsi menghambat reabsorpsi glukosa di ginjal.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 BAHAN

Reseptor target diunduh dari Protein Data Bank (PDB), yaitu *Structure of human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin* (PDB ID: 7VSI dengan resolusi 2.95Å). Bahan dari ligan uji dan ligan pembanding didapatkan dari mengunduh senyawa dalam bentuk mol2 di website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Diperoleh 64 senyawa uji yang didapat dari hasil penelusuran pustaka dan 2 senyawa pembanding, yaitu empagliflozin dan canagliflozin.

2.2 ALAT

Peralatan computer yang digunakan pada studi ini antara lain Microsoft Windows 10 Pro 64-bit operation system dengan prosesor Intel® Core™ i5 9400 CPU @ 2.90GHz 2.90 GHz, memori 16 GB DDR3, grafis NVIDIA GTX 1660 dan Acer Swift 3 Windows 11 Home Single Language 64-bit. Intel® Core™ i5-1240P prosesor Dodeca-core 1.70 GHz. Intel® Iris® Xe Graphics memori berbagi 35.6cm (14") QHD (2560 x 1440) 16:9 60Hz 16GB, LPDDR4X, 512GB SSD. Software Molegro Virtual Docker 6.0, ChemDraw, YASARA Dynamics dan website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), pkCSM (<https://bioswissig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

2.3 METODE

a. Pemilihan Protein Target

Penelitian ini dilakukan dengan melakukan *docking* antara suatu protein dengan ligan, dengan struktur protein yang diperoleh dari *website Protein Data Bank*. Melalui *website* PDB, informasi mengenai struktur protein didapatkan berdasarkan jurnal yang tertera dengan pencarian kode PDB enzim sebagai reseptor SGLT-2 untuk *docking* pada penelitian. Pemilihan protein dengan kriteria resolusi <3Å, tidak

terjadi mutasi dari asam amino penyusun reseptor tersebut, sehingga tidak terjadi gangguan ikatan ketika proses *molecular docking* dengan senyawa uji. Selain itu protein yang digunakan memiliki *native ligand* yang sama dengan senyawa pembanding atau obat antidiabetes mekanisme SGLT-2 yang sudah ada yaitu empagliflozin (Prasetyo et al., 2022).

b. Preparasi Senyawa Uji dan Senyawa Pembanding

Canonical SMILES dari senyawa uji dan pembanding disalin dari website PubChem, lalu ditempelkan ke dalam ChemDraw. Dilakukan minimisasi dengan menjalankan command “*Minimize energy*” hal ini dilakukan untuk mendapatkan isomer geometri senyawa dengan energi paling minimum, kemudian file setiap senyawa disimpan dalam format SYBYL2 (mol2).

c. Validasi Internal

Validasi metode docking dilakukan dengan melakukan docking kembali struktur kristal dari *Structure of human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin* (PDB ID: 7VSI). Validasi internal dilakukan menggunakan software Molegro Virtual Docker. *Pose* maksimal dalam proses validasi internal adalah 5 dengan 10 kali replikasi dan dijalankan dengan 12 kombinasi dari 4 *scoring function* dan 3 algoritma. Tujuan dilakukan validasi internal adalah untuk mencari *protokol docking* yang sesuai. Validasi internal dikatakan berhasil jika nilai RMSD dibawah 2 Å (Siswanto et al., 2019).

d. Molecular Docking

Molecular docking dilakukan terhadap 64 ligan uji daun yakon, kayu secang dan daun salam, ligan pembanding (empagliflozin) dan *native ligand* menggunakan *software Molegro Virtual Docker* (PDB ID: 7VSI, resolusi 2.95Å) dengan protocol docking yang valid. *Binding site* aktif didapatkan dari hasil validasi internal dengan nilai axis X: 41.88Å, Y: -

59.53Å, Z: 52.59Å. Algoritma yang digunakan untuk melakukan *molecular docking*, yaitu *Moldock Optimizer* dan *PLANTS Score* digunakan sebagai *scoring function*. Pada tahap ini, hasil *docking* dapat dievaluasi dengan memeriksa nilai *rerank score* antara ligan uji dan ligan pembanding. *Rerank score* adalah ukuran kuantitatif yang mewakili jumlah energi ikatan yang dibutuhkan untuk membangun koneksi dengan reseptor. Oleh karena itu, nilai *rerank score* dapat digunakan untuk meramalkan aktivitas suatu molekul. Nilai *rerank score* negatif yang lebih besar dibandingkan dengan nilai *native ligand* dan molekul referensi menunjukkan adanya hubungan yang lebih kuat dan stabil antara ligan dan reseptor. Artinya afinitas ikatan ligan uji lebih baik dan diartikan senyawa bersifat aktif karena mudah berikatan dengan hanya membutuhkan sedikit energi untuk berikatan dengan reseptor. (Prasetyo et al., 2023).

e. Prediksi ADMET

Dilakukan prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa terbaik. *Canonical SMILES* dari setiap senyawa disalin dari webpubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) kemudian dianalisis menggunakan web pkCSM (<https://bioswissig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), dan ProTox II (<https://tox.charite.de/protox3/>).

f. Simulasi Molecular Dynamic

Simulasi dinamika molekular dilakukan menggunakan perangkat lunak YASARA Dynamics. Langkah yang dilewati antara lain persiapan dan produksi. Pemilihan perangkat lunak Yasara dynamics dengan alasan perangkat tersebut mudah digunakan karena dapat berbasis window (Ozvolalik et al., 2023). *Script default* dimodifikasi dengan menyesuaikan beberapa variabel, yaitu suhu sebesar 310 K, pH fisiologis sebesar 7.4. Diatur juga konsentrasi ion sebagai fraksi

masa, yaitu NaCl 0.9%. Kemudian diatur durasi simulasi molecular dynamic, yaitu 5000 ps (5 ns). Simulasi molecular dynamic ini menggunakan forcefield AMBER14 dan penyimpanan snapshot setiap 100 ps. Running protein yang akan diMD

dengan menjalankan perintah “*Play macro*”. Analisis RMSD dapat dilakukan dengan menjalankan perintah *md_analyze.mcr*. Analisis RMSF dapat dilakukan dengan *md_analyzeres.mcr*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Validasi Internal

Validasi internal dilakukan dengan melakukan redocking native ligand terhadap protein target terpilih, yaitu struktur human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin (PDB ID: 7VSI) menggunakan 12 kombinasi dari algoritma dan scoring function. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) menjadi parameter paling umum untuk mengukur kemiripan *superimpose* koordinat secara atomik (Kufareiva & Abagyan, 2012). Keberhasilan *redocking* dilihat dari nilai RMSD. Nilai RMSD yang baik adalah dibawah 2Å dibandingkan dengan struktur kristalografi. Nilai RMSD dari native ligand (PDB ID: 7VSI) menunjukkan dibawah 2Å untuk 12 kombinasi *scoring function* dan algoritma. Hal itu menunjukkan bahwa 12 *protocol docking* tersebut bisa memposisikan 7R3 *inhibitor* pada 7R3 binding site. Kombinasi algoritma MolDock Optimizer dan PLANTS Score menghasilkan nilai RMSD yang paling negatif, maka dengan itu kombinasi algoritma MolDock Optimizer dan scoring function PLANTS Score dipilih sebagai *protocol docking* (Tabel 1).

b. Molecular Docking

Molecular docking dilakukan terhadap 64 senyawa senyawa uji dalam daun yakon, kayu secang, dan daun salam beserta empagliflozin (ligan standar) menggunakan kombinasi algoritma MolDock Optimizer dan *scoring function* PLANT Score. Berdasarkan hasil *molecular docking*, didapatkan Dicafeoylquinic acid, 1,3-O-Dicafeoylquinic acid dan 1-Kestose memiliki nilai *rerank score* paling negatif dibandingkan dengan *rerank score*. *Rerank score* merupakan nilai yang dilihat untuk mengestimasi pengikatan ligan, dimana semakin negatif nilainya maka affinitasnya semakin tinggi dan diprediksi memiliki potensi aktivitas yang lebih baik (Prasetyo et al, 2022). Berdasarkan *rerank score*, diprediksi tiga senyawa tersebut lebih aktif dibandingkan empagliflozin sebagai pembanding (Tabel 2). Interaksi ikatan kompleks residu asam amino protein-ligan setelah proses *molecular docking*, ditunjukkan pada Gambar 1. Interaksi yang terjadi pada setiap ligan melibatkan residu asam amino pada area *binding site* yang kemudian akan mempengaruhi konformasi protein.

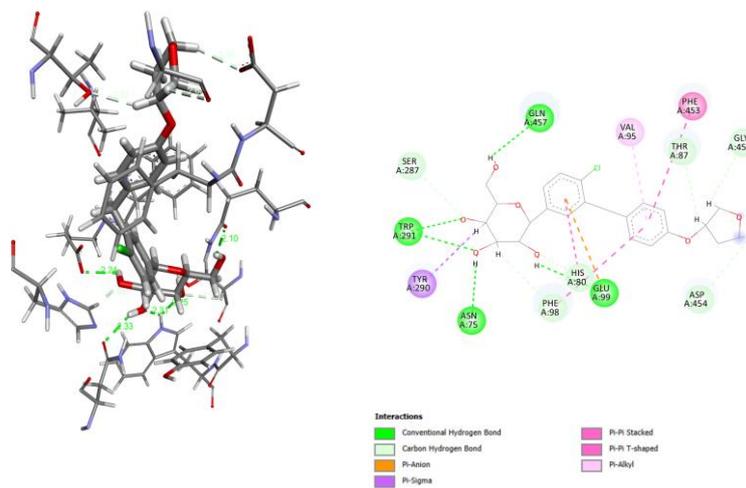
Tabel 1: *Root-Mean-Square Deviation* dari Protein Data Bank Kode 7VSI

<i>Algorithm</i>	MolDock <i>Optimizer</i> (Å)	MolDock SE (Å)	<i>Iterated Simplex</i> (Å)
<i>Scoring Function</i>			
MolDock <i>Score</i>	1.10886	1.06717	1.20246
MolDock <i>Score</i> (GRID)	1.24845	0.9767	1.12646
PLANTS <i>Score</i>	0.446412*	0.923043	0.825914
PLANTS <i>Score</i> (GRID)	0.663754	0.762987	0.780602

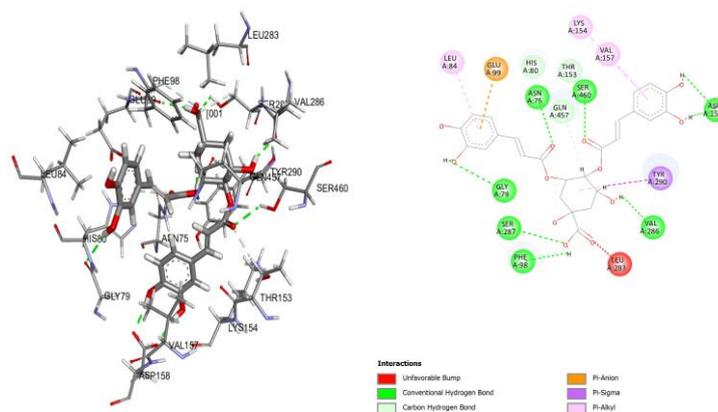
Keterangan: * *Protokol docking* terpilih

Tabel 2. Residu asam amino kompleks-ligan

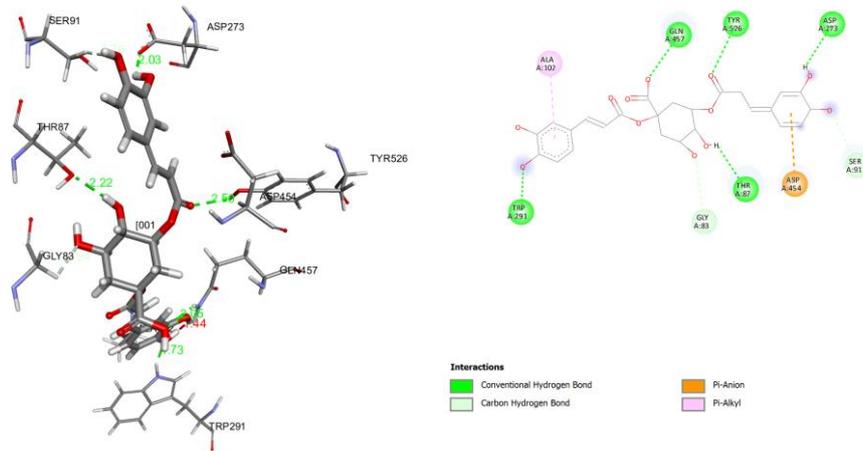
No.	Senyawa	Rerank score (Kcal/mol)	Residu asam amino
1.	Empagliflozin	-139.194	SER 287 (3,04 Å), PHE 98 (2,53 Å), GLN 457 (2,10 Å), TRP 291 (2,25 Å), ASN 75 (2,33 Å)
2.	3,5-Dicaffeoylquinic acid	-147.778	SER 287 (2,52 Å), PHE 98 (2,74 Å), GLN 457 (2,06 Å), ASN 75 (1,99 Å), GLY 79 (2,17 Å), ASP 158 (1,90 Å)
3.	1,3-O-Dicaffeoylquinic acid	-143.659	GLN 457 (2,05 Å), TRP 291 (1,73 Å), ASP 273 (2,03 Å), TYR 526 (2,50 Å)
4.	1-Kestose	-142.585	SER 287 (2,70 Å), PHE 98 (1,42 Å), GLN 457 (2,04 Å), TRP 291 (1,95 Å), THR 153 (2,06 Å), GLY 79 (2,17 Å)
5.	3,4-Dicaffeoylquinic acid	-138.057	SER 287 (2,07 Å), GLN 457 (2,73 Å), TRP 291 (2,35 Å), ASN 75 (1,93 Å), GLU 99 (1,88 Å), GLY 79 (3,05 Å),



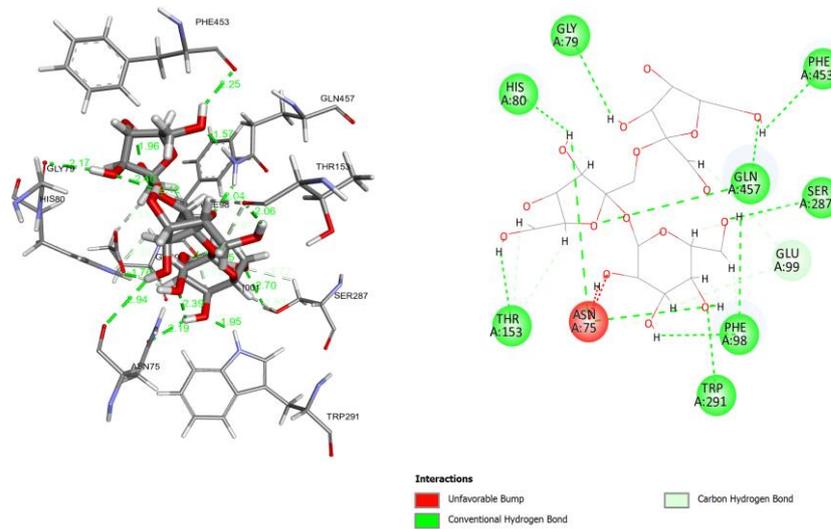
Gambar 1. Interaksi Ikatan Residu asam amino 7VSI Empagliflozin



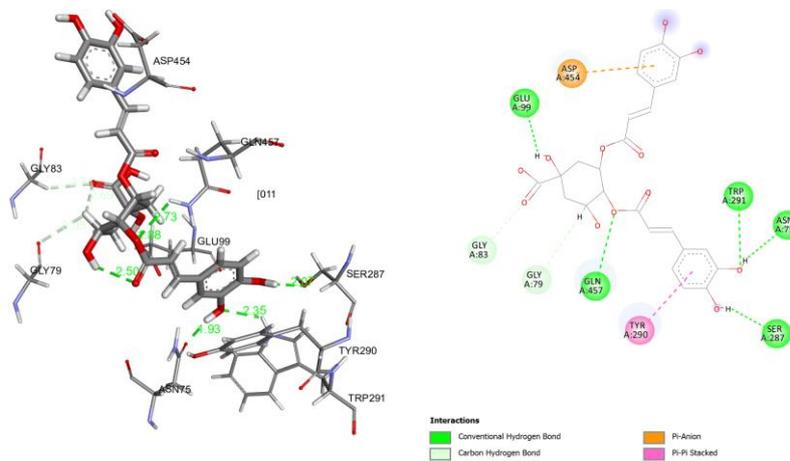
Gambar 2. Interaksi Ikatan Residu asam amino 7VSI dan 4,5-DCQA



Gambar 3. Interaksi Ikatan Residu 7VSI dan 1,3-O-DCQA



Gambar 4. Interaksi Ikatan Residu 7VSI dan 1-Kestose



Gambar 5. Interaksi Ikatan Residu 7VSI dan 3,4-DCQA

c. Prediksi ADMET

Profil farmakokinetik seperti absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas dari senyawa terbaik dapat diprediksi menggunakan *webserver* pkCSM, SwissADME, dan ProTOx-II dengan memasukkan *canonical SMILES* dari senyawa uji. Mengetahui profil farmakokinetika serta toksisitas senyawa uji berguna untuk memprediksi sifat farmakologis dan toksikologi kandidat obat, terutama pada tahap praklinis. Profil absorpsi senyawa diprediksi dari nilai kelarutan senyawa dalam air, lipofilisitas (kelarutan senyawa dalam lemak) dan persentase human intestinal absorption (HIA) (Tabel 3).

Kelarutan senyawa dalam air diprediksi menggunakan *web* SwissADME. Jika nilai kelarutan senyawa obat dalam air rendah, maka kelarutan di dalam cairan luar sel juga akan berkurang, sedangkan kelarutan senyawa dalam cairan luar sel berhubungan dengan proses transpor obat ke reseptor. Hal ini akan menyebabkan aktivitas biologis menurun (Echeverría et al., 2017). Dalam skala SwissADME, senyawa dengan nilai kurang dari -6 maka kelarutannya airnya adalah buruk. Nilai kelarutan dalam air untuk 4 senyawa uji diperkirakan, yaitu -1.111 hingga 2.962. Sehingga ketiga senyawa tersebut memiliki kelarutan dalam air yang baik.

Lipofilisitas atau kelarutan zat dalam lemak merupakan sifat fisik yang mempengaruhi penyerapan obat ke dalam membran biologis. Absorpsi obat ke dalam membran biologis berbanding lurus dengan kelarutan dalam lemak, artinya semakin tinggi kelarutan dalam lemak maka derajat penyerapannya semakin besar. Jika absorpsi makin tinggi maka akan menyebabkan aktivitas biologis yang lebih tinggi. Panduan umum untuk bioavailabilitas oral yang baik maka permeabilitas

dan kelarutan yang baik adalah memiliki log P sedang ($0 < \log P < 3$). Nilai log P senyawa 1,3-O-DCQA, 3,4-DCQA dan 3,5-DCQA diprediksi antara 0.58-0.78, sehingga ketiga senyawa tersebut diprediksi memiliki kelarutan dalam lemak yang baik. Untuk nilai log P senyawa 1 kestose diprediksi memiliki nilai -4.72, sehingga diprediksi memiliki kelarutan dalam lemak yang buruk.

Hasil prediksi % HIA pada senyawa uji 1,3-O-DCQA dan 3,5-DCQA memiliki nilai 30.305 dan 44.225 % sedangkan 1-Kestose dan 3,4-DCQA memiliki nilai 0 dan 29.037 %. Panduan umum % HIA < 30% maka absorpsi senyawa dalam usus manusia yang kurang baik. Atas dasar hal tersebut 1-Kestose dan 3,4-DCQA memiliki absorpsi dalam usus yang kurang baik.

Profil distribusi dapat diamati dengan memeriksa VDss *Volume Distribution at steady state* (VDss), permeabilitas *Blood Brain Barrier* (BBB), dan pengukuran fraksi tak terikat (Table 4). Volume Distribusi adalah volume konseptual yang mencirikan keseluruhan jumlah suatu obat yang tersebar secara merata untuk mencapai konsentrasi setara seperti dalam plasma darah. Ketika nilai VD meningkat, distribusi obat lebih besar di jaringan dibandingkan dengan plasma. VDss tergolong rendah jika kurang dari 0,6 L/kg, sedang jika antara 0,6 dan 5 L/kg, tinggi jika berkisar antara 5 hingga 100 L/kg, dan sangat tinggi jika melebihi 100 L/kg. Kehadiran kategori nilai dapat diamati pada tabel 4 untuk banyak zat. Senyawa 1,3-O-DCQA, 3,4 DCQA, 1Kestose dan 3,5 DCQA menunjukkan nilai VDss yang berkisar antara - 0,248 hingga 6-5 L/Kg. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut termasuk dalam kelompok sedang ditinjau dari nilai Vdssnya.

Tabel 4. Profil Distribusi Senyawa Uji

No.	Senyawa Uji	VD _{ss} (log mol L/kg)	Fraction unbound	BBB permeability
1.	1,3-O-DCQA	1.849	0.274	-1.983
2.	1-Kestose	-0.248	0.538	-1.469
3.	3,4-DCQA	1.633	0.294	-2.08
4.	3,5-DCQA	1.7	0.28	-2.069

Kemampuan obat untuk melewati sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) merupakan faktor penting yang harus diperhitungkan untuk mengurangi efek samping dan toksisitas, atau untuk meningkatkan efektivitas obat yang memberikan efek farmakologisnya di otak. Permeabilitas sawar otak-darah diukur pada model hewan hidup menggunakan logBB, yang mewakili hubungan logaritmik antara konsentrasi di otak dan konsentrasi di plasma. Suatu molekul dianggap memiliki permeabilitas tinggi melintasi sawar darah-otak (tanpa menimbulkan efek samping) jika nilai log BB > 0,3. Sebaliknya, suatu senyawa dianggap memiliki distribusi yang buruk melintasi sawar darah otak jika nilai log BB < -1. Berdasarkan tabel, 4 senyawa memiliki nilai -1.469 sampai -2.08, yang berarti senyawa tersebut tidak dapat melintasi sawar darah. Sitokrom P450 adalah enzim hati yang penting dalam tubuh. Enzim sitokrom P450 mengkatalisis oksidasi xenobiotik, yang menyebabkan konversi molekul farmakologis menjadi bentuk yang tidak aktif secara biologis. Mengevaluasi kapasitas senyawa untuk menghambat sitokrom P450 sangatlah penting. Keempat senyawa uji yaitu 4,5-DCQA, 1,3-

O-DCQA, 1-kestose, dan 3,5-DCQA yang akan menjalani dinamika molekuler tidak berdampak atau menghambat aktivitas sitokrom CYP2D6. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan tersebut kemungkinan besar akan mengalami metabolisme. melalui aksi enzim P450 (Tabel 5)

Proses ekskresi senyawa dapat diprediksi dengan pengukuran total klirens. Total klirens merupakan kombinasi *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance*. Klirens total dapat digunakan untuk memperkirakan ekskresi suatu zat. Total Klirens adalah hasil dari pembersihan hati, yang melibatkan metabolisme zat di hati dan eliminasinya melalui empedu, dan pembersihan ginjal, yang melibatkan eliminasi zat melalui ginjal. Klirens total berhubungan langsung dengan bioavailabilitas obat dan digunakan untuk menentukan dosis tepat yang diperlukan untuk mencapai konsentrasi stabil. Istilah "klirens total" digunakan untuk menggambarkan kecepatan suatu zat dikeluarkan dari tubuh. Dianggap rendah jika <2 mL/min/Kg, sedang jika 2-15 mL/min/Kg, tinggi jika 15-20 mL/min/Kg, dan sangat

Tabel 5. Profil Metabolisme Senyawa Uji

No	Senyawa uji	Substrat CYP2D6	Inhibitor CYP2D6	Substrat CYP3A4	Inhibitor CYP3A4	Inhibitor CYP2C19	Inhibitor CYP2C9
1.	1,3-O-DCQA	No	No	Yes	No	No	No
2.	1-Kestose	No	No	No	No	No	No
3.	3,4-DCQA	No	No	Yes	No	No	No
4.	3,5-DCQA	No	No	Yes	No	No	No

Tabel 6. Profil Ekskresi Senyawa Uji

No.	Senyawa Uji	Klirens total (ml/min/kg)
1.	1,3-O-DCQA	0.8790
2.	1-Kestose	36.4754
3.	3,4-DCQA	0.9078
4.	3,5-DCQA	0.9036

tinggi jika >20 mL/min/Kg. Berdasarkan hasil pada data tabel 6, tiga senyawa 1,3-O-DCQA, 3,4-DCQA, 3,5-DCQA memiliki nilai klirens total 0.8790- 0.9078 mL/min/Kg sehingga senyawa tersebut paling lama dieksresikan dari tubuh, sedangkan 1-kestose memiliki nilai klirens total 36.4754 mL/min/Kg sehingga 1-kestose paling cepat dieksresikan dari tubuh.

Nilai LD50 merupakan pengukuran standar toksisitas akut yang digunakan untuk menilai toksisitas relatif dari suatu senyawa. LD50 adalah jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba (Pires et al., 2015). Berdasarkan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 7 Tahun 2014, nilai LD50 dibagi menjadi 6 kategori yaitu sangat toksik (< 1 mg/kg), toksik (1-50 mg/kg), toksik sedang (50-500 mg/kg), toksik ringan (500-5000 mg/kg), praktis tidak toksik (5-15 g/kg) dan relatif tidak membahayakan (215 g). Dilihat dari tabel 7, semua senyawa uji memiliki LD50 berkisar 1190 - 5000 mg/Kg yang berarti semua senyawa memiliki LD50 tingkat toksik ringan. Hepatotoksik adalah suatu keadaan dimana senyawa dapat menginduksi

kerusakan fungsi hati. Suatu senyawa digolongkan hepatotoksik jika memiliki minimal satu kejadian patologi atau fisiologis berkaitan dengan gangguan fungsi hati. Pada penelitian ini adapun 4 senyawa uji, yaitu 4,5-DCQA, 1,3-O-DCQA, 1-kestose, dan 3,5-DCQA yang akan dilakukan *molecular dynamic* tidak bersifat hepatotoksik. Jika terdapat senyawa yang bersifat hepatotoksik, hal ini dapat diatasi dengan memodifikasi struktur senyawa tersebut. Modifikasi struktur senyawa dapat dilakukan dengan mengganti gugus-gugus tertentu yang bersifat toksik terhadap tubuh. (Tabel 7).

d. *Molecular Dynamic*

Simulasi *molecular dynamics* dilakukan menggunakan program YASARA *dynamics*. *Molecular dynamics* adalah teknik pemodelan komputasi yang melacak pergerakan makromolekul yang berinteraksi dengan mensimulasikan pergerakan dinamis molekul. Tujuan dilakukannya simulasi *molecular dynamics* adalah untuk memastikan kestabilan interaksi protein dengan ligan dalam kondisi yang sangat mirip dengan lingkungan fisiologis tubuh manusia, dalam jangka waktu

Tabel 7. Profil Toksisitas Senyawa Uji

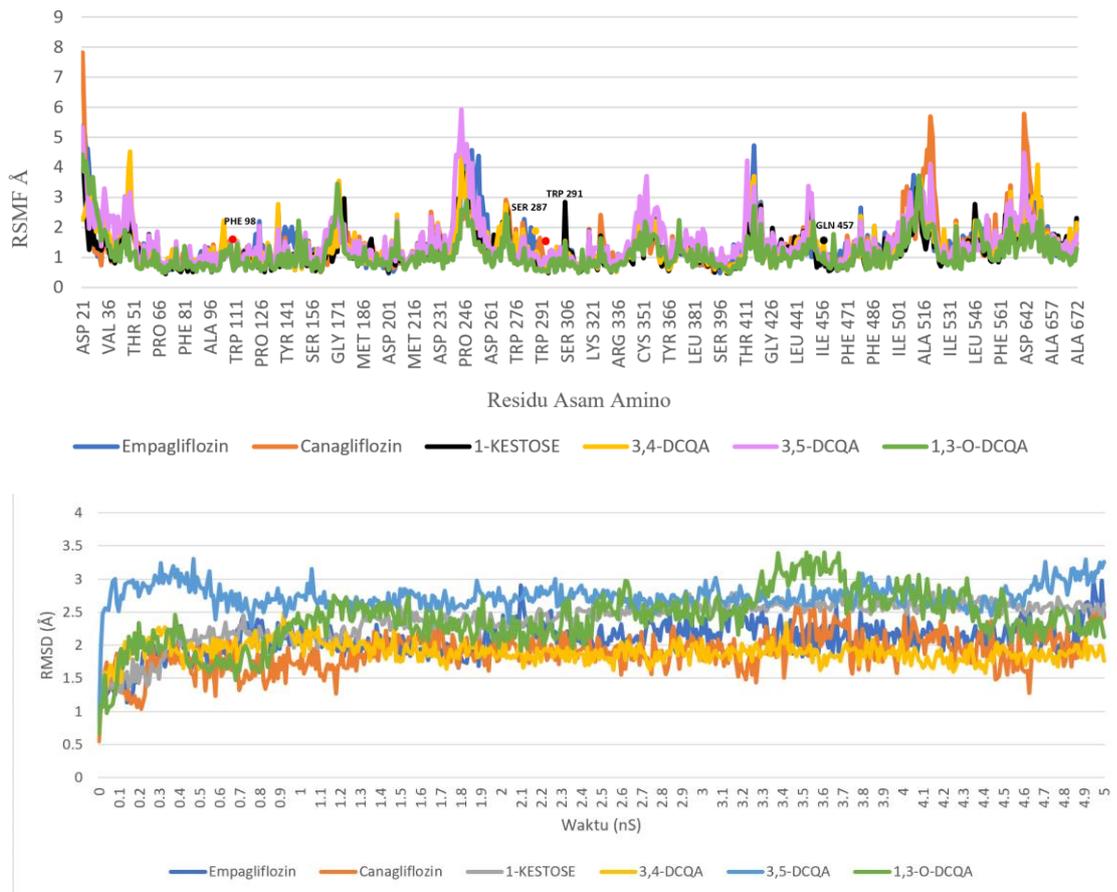
No.	Nama Senyawa Uji	LD50 (mg/kg)	Hepatotoksik
1.	1,3-O-DCQA	5000	No
2.	1-Kestose	3000	No
3.	3,4-DCQA	5000	No
4.	3,5-DCQA	1190	No

tertentu. *Root Mean Square Deviation* atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3 dimensi molekul untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi molekul. Analisis RMSD menggambarkan terjadinya perubahan struktur protein selama simulasi sehingga stabilitas struktur protein dan ligan dapat diketahui. Nilai RMSD yang lebih rendah menunjukkan kompleks yang paling stabil. Nilai RMSD $< 3 \text{ \AA}$ menandakan bahwa protein stabil dan tidak mengalami perubahan konformasi yang signifikan. RMSD dari *ligan move*.

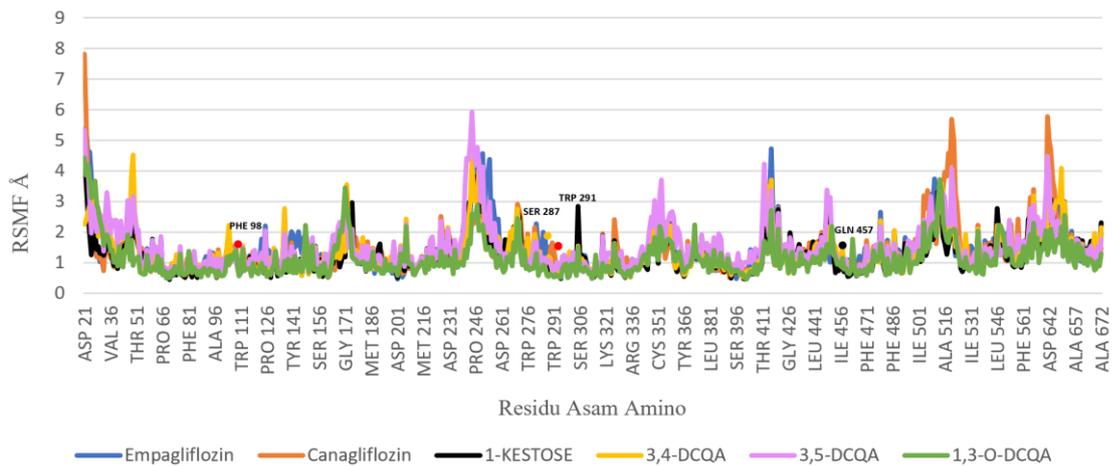
Kompleks ligan 3,4-Dicaffeoylquinic acid dan 1-kestose dikatakan stabil meski di beberapa waktu mengalami kenaikan nilai *threshold*, tetapi tidak pernah melewati nilai *threshold*. Kompleks ligan 1,3-O-Dicaffeoylquinic acid dikatakan stabil meski di beberapa waktu melewati nilai *threshold*, tetapi kembali lagi nilainya di bawah nilai *threshold*. Kompleks ligan 3,5-Dicaffeoylquinic acid dinilai tidak stabil karena nilai RMSD *ligan move*nya terus meningkat hingga akhir waktu simulasi. Hal ini menunjukkan bahwa ligan tersebut mengalami pelepasan ikatan dengan protein (dalam penelitian ini berarti ikatan dengan enzim *Structure of human SGLT2-MAP17 complex bound with empagliflozin*) selama simulasi berlangsung. Kompleks ligan 3,4-Dicaffeoylquinic acid menjadi yang paling stabil dengan rerata nilai RMSD $1,90 \text{ \AA}$, lalu diikuti oleh kompleks ligan 1-kestose. Nilai RMSD yang kecil menandakan tidak terjadinya perubahan konformasi yang cukup besar selama simulasi berlangsung. RMSF atau *Root Mean Square Fluctuations*, mengukur perbedaan antara lokasi atom dan struktur referensi yang ditentukan. RMSF, atau fluktuasi akar rata-rata kuadrat, mengacu pada perubahan konformasi yang terjadi pada setiap residu asam

amino selama simulasi. Nilai fluktuasi akar rata-rata kuadrat (RMSF) dinilai untuk mengukur variasi interaksi antara ligan dan asam amino dalam enzim selama simulasi. Secara umum, nilai RMSF menggambarkan fleksibilitas interaksi ligan dengan residu asam amino. Nilai maksimum residu asam amino adalah 2.5 \AA . Nilai RMSF $< 2.5 \text{ \AA}$ menunjukkan fleksibilitas yang rendah. Fleksibilitas terbatas residu asam amino di area situs aktif berkontribusi terhadap stabilitas interaksi dengan bahan kimia uji. Hal ini karena atom penyusun residu asam amino menunjukkan perubahan posisi minimal selama simulasi dinamika molekul.

Pada gambar 3. mengilustrasikan adanya fluktuasi dalam interaksi antara ligan dan residu asam amino dalam enzim. Residu asam amino penting dalam proses perlekatan dengan ligan uji yang berinteraksi pada saat *molecular dynamic* adalah Glu244 memiliki nilai RMSF diatas 4 \AA yang mana nilai RMSF tidak jauh berbeda antara protein kosong (tanpa native ligan), protein dengan *native ligand* maupun senyawa uji hal ini menandakan bahwa memang protein tersebut menunjukkan nilai RMSF yang besar dengan atau tanpa ligan. Nilai fluktuasi akar rata-rata kuadrat (RMSF) yang tinggi menunjukkan tingkat fleksibilitas dan ketidakstabilan yang signifikan, residu mengalami perubahan posisi paling banyak selama simulasi dinamika. Nilai *root mean square fluctuation* (RMSF) residu asam amino Ser 70 untuk ketiga senyawa uji kurang dari $2,5 \text{ \AA}$. Interaksi kompleks protein-ligan dianggap lebih stabil bila nilai RMSF lebih rendah. Artinya, ketiga senyawa stabil saat berinteraksi dengan residu asam amino SER 70. Jika dibandingkan dengan nilai empagliflozin dan canagliflozin, maka yang paling stabil, yaitu senyawa 3,5-Dicaffeoylquinic acid, 3,4-Dicaffeoylquinic acid, 1,3-O-Dicaffeoylquinic acid, dan 1-kestose



Gambar 2. Pergerakan nilai RMSD kompleks 1FK9-Ligan



Gambar 3. Pergerakan nilai RMSF kompleks 1FK9-ligand

4. KESIMPULAN

Berdasarkan analisis komputasi, senyawa 1,3-O-Dicaffeoylquinic acid dan senyawa 3,4-Dicaffeoylquinic acid berpotensi sebagai SLGT-2 inhibitor. Senyawa 1,3-O-Dicaffeoylquinic acid dan

senyawa 3,4-Dicaffeoylquinic acid merupakan senyawa yang stabil berinteraksi dengan enzim *Sodium glucose co-transporter-2* dan tidak menyebabkan hepatotoksik.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, s. S., putra, p. P., antasionasti, i., rundengan, g., suoth, e. J., abdullah, r. P. I., & abdullah, f. (2021). Analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksikologi pada pericarpium pala (*myristica fragrans*) secara artificial intelligence. *Chemistry progress*, *14*(2), 81. <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112>
- Alberti, k. G. M. M. (1990). Diabetes around the world. *Current status of prevention and treatment of diabetic complications: proceedings of the third international symposium on treatment of diabetes mellitus. Ics821*, 116–122.
- Dwi, d. K., sasongkowati, r., & haryanto, e. (2020). Studi in silico sifat farmakokinetik, toksisitas, dan aktivitas imunomodulator brazilein kayu secang terhadap enzim 3-chymotrypsin-like cysteine protease coronavirus. *Journal of indonesian medical laboratory and science (joimedlabs)*, *1*(1), 76–85. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.14>
- Echeverría, j., opazo, j., mendoza, l., urzúa, a., & wilkens, m. (2017). Structure-activity and lipophilicity relationships of selected antibacterial natural flavones and flavanones of chilean flora. *Molecules*, *22*(4). <https://doi.org/10.3390/molecules22040608>
- Elawati, n., & yuania, l. (2021). Review: efek farmakologis dan efek toksik dari daun yakon (*smallanthus sonchifolius*). *Unesa journal of chemistry*, *10*(2), 135–146. <https://doi.org/10.26740/ujc.v10n2.p135-146>
- Feingold, k. R. (2000). Oral and injectable (non-insulin) pharmacological agents for type 2 diabetes. *Endotext*, *july*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25905364>
- Ferreira, l. G., dos santos, r. N., oliva, g., & andricopulo, a. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. In *molecules* (vol. 20, issue 7). <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Galicia-garcia, u., benito-vicente, a., jebari, s., larrea-sebal, a., siddiqi, h., uribe, k. B., ostolaza, h., & martín, c. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International journal of molecular sciences*, *21*(17), 1–34. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Hardjono, s. (2016). Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan n-benzoil-n’-(4-fluorofenil)tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul (prediction of pharmacokinetic properties, toxicity and derivatives as anticancer drugs. *Jurnal ilmu kefarmasian indonesia*, *14*(2), 246–255. <https://cactus.nci>
- Nazli, r., studi, p., informatika, t., teknik, f., islam, u., singingi, k., kuantan, t., studi, p., informatika, t., teknik, f., islam, u., singingi, k., kuantan, t., & darah, k. G. (2018). Keputusan penentuan golongan obat sesuai dengan. *Jurnal teknologi dan open source*, *1*(2), 67–74.
- Paruch, k., biernasiuk, a., berecka-rycerz, a., hordyjewska, a., & popiołek, ł. (2021). Biological activity, lipophilicity and cytotoxicity of novel 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines. *International journal of molecular sciences*, *22*(24), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms222413669>
- Pires, d. E. V., blundell, t. L., & ascher, d. B. (2015). PkcsM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of medicinal chemistry*, *58*(9), 4066–4072. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>
- Prasetyo, a., kumala, s., mumpuni, e., &

- tjandrawinata, r. R. (2022). Validation of structural-based virtual screening protocols with the pdb code 3g0b and prediction of the activity of *tinospora crispera* compounds as inhibitors of dipeptidyl-peptidase-iv. *Research results in pharmacology*, 8(1), 95–102. <https://doi.org/10.3897/rrpharmacology.8.76237>
- Prasetyo, a., kumala, s., mumpuni, e., tjandrawinata, r. R., & sulastris, i. (2023). Uji aktivitas penghambatan dipeptidyl peptidase-4 (dpp-4) senyawa dari lima tanaman indonesia secara in-silico. *Jurnal fitofarmaka indonesia*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.33096/jffi.v10i1.884>
- Siswanto, i., pranowo, h. D., & mudasir. (2019). Docking of new designed compounds derived from 1,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine toward quadruple mutant plasmodium dihydrofolate reductase. *Indonesian journal of chemistry*, 19(3), 777–785. <https://doi.org/10.22146/ijc.39943>
- Soelistijo, s. (2021). Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 dewasa di indonesia 2021. *Global initiative for asthma*, 46. www.ginasthma.org.
- Yulianti, r., simanjuntak, p., & purba, a. V. (2020). Pengembangan sediaan serbuk antidiabetes dari kombinasi ekstrak kulit buah manggis (*garcinia mangostana* L.) Dan ekstrak daun salam (*syzygium polyanthum* (wight) walp.). *Jurnal fitofarmaka indonesia*, 7(1), 22–26. <https://doi.org/10.33096/jffi.v7i1.593>