

**STUDI DOCKING SENYAWA-SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN CHARANTOSIDE PADA
RESEPTOR SULFONYLUREA SEL BETA PANKREAS**

SKRIPSI

Oleh:

**ROHADATUL 'AISY KHANSA RAMADHAN
NIM. 14630018**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**STUDI DOCKING SENYAWA-SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN CHARANTOSIDE PADA
RESEPTOR SULFONYLUREA SEL BETA PANKREAS**

SKRIPSI

**Oleh:
ROHADATUL 'AISY KHANSA RAMADHAN
NIM. 14630018**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang Untuk
Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**STUDI DOCKING SENYAWA-SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN CHARANTOSIDE PADA
RESEPTOR SULFONYLUREA SEL BETA PANKREAS**

SKRIPSI

Oleh:

**ROHADATUL 'AISY KHANSA RAMADHAN
NIM. 14630018**

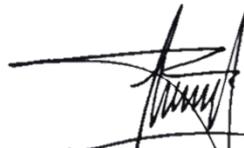
**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal 25 Juni 2021**

Pembimbing I



**Himmatul Barroroh, M.Si
NIP. 19750730 200312 2 001**

Pembimbing II



**Mujahidin Ahmad, M.Sc
NIP. 19860512 201903 1 002**

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



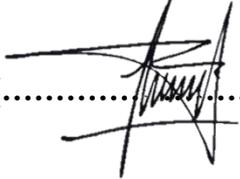
**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**STUDI DOCKING SENYAWA-SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN CHARANTOSIDE PADA
RESEPTOR SULFONYLUREA SEL BETA PANKREAS**

SKRIPSI

**Oleh:
ROHADATUL 'AISY KHANSA RAMADHAN
NIM. 14630018**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 26 Juni 2021**

Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	 (.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si NIP. 19880711 20160801 2 067	 (.....)
Sekretaris Penguji	: Himmatul Barroroh, M.Si NIP. 19750730 200312 2 001	 (.....)
Anggota Penguji	: Mujahidin Ahmad, M.Sc NIP. 19860512 201903 1 002	 (.....)

**Mengesahkan,
Ketua Program Studi**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rohadatul 'Aisy Khansa Ramadhan
NIM : 14630018
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Studi Docking Senyawa-Senyawa Aktif Buah Pare
(*Momordica charantia* L.) Golongan Charantoside pada
Reseptor Sulfonylurea Sel Beta Pankreas

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila ini di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 26 Juni 2021
Yang membuat pernyataan



Rohadatul 'Aisy Khansa Ramadhan
NIM. 14630018

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Dengan rasa hormat, terima kasih, dan penghargaan setinggi-tingginya
kupersembahkan karya tulis ini kepada:

Bapak Yasin, Ibu Endang Atmiatun, Mbak

Nisa, Adik Silma, dan Adik Nasyiith

Terimakasih atas semua doa, support, serta semua pengorbanan yang tiada henti-
hentinya mengalir untuk mengantarkanku menjadi orang yang berpendidikan dan
mengerti arti perjuangan dalam kehidupan

..

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat, Taufiq, dan Hidayah-Nya tiada henti dan tiada batas kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Sholawat dan salam semoga senantiasa mengalun indah dan tulus terucap kepada Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabatnya dan para umat serta pengikutnya.

Skripsi ini dibuat untuk memenuhi salah satu kriteria kelulusan yang ada di jurusan kimia. Skripsi ini dapat disusun karena dukungan, motivasi, serta bimbingan dari berbagai pihak. Tiada kata yang patut terucap untuk menguntai sedikit makna kebahagiaan ini. Oleh karena itu, izinkanlah penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H.Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Kajor Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Himmatul Barroroh, M.Si. selaku pembimbing utama yang dengan sabar memberikan ilmu, pengarahan, bimbingan, nasehat, waktu, tenaga, dan petunjuk selama penyusunan skripsi.
5. Ibu Dewi Yuliani M.Si. selaku konsultan yang membantu penulis dalam menyempurnakan skripsi.

6. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku dosen penguji yang senantiasa memberikan evaluasi dan saran dalam penulisan skripsi.
7. Bapak Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku dosen agama yang telah banyak memberikan evaluasi dan saran dalam penyusunan skripsi ini khususnya di bidang keislaman.
8. Seluruh Dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
9. Seluruh laboran dan staff administrasi Jurusan Kimia UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
10. Kedua orang tua tercinta, Bapak Yasin dan Ibu Endang Atmiatun yang telah menjadi orangtua terhebat dan selalu memberikan curahan kasih sayang, doa, ridho, nasehat, dukungan moral maupun materil. Tidak ada apapun di dunia ini yang dapat membalas semua yang telah kalian berikan, semoga Allah selalu memberikan perlindungan dan cinta kasih kepada Bapak dan Ibu.
11. Saudara-saudaraku tersayang Mbak Nisa, Silma dan Nasyiith yang telah memberikan doa dan semangat.
12. Kakak yang juga teman curhat Mbak Citra Firunika Amali yang selalu membantu dan memberikan masukan dari awal pembuatan skripsi ini.
13. Teman se-fandomku Rani dan Ghina yang selalu memberikan semangat selalu agar cepat menyelesaikan skripsi ini.
14. My dearest friend Vika, Aray, Fitri, Sofi, Lecong, Pail, Ika, Windy, Nico yang juga turut serta memberi semangat dan membantu untuk menyelesaikan skripsi ini.

15. *Team* Penelitian Komputasi anak didik bu Himma. Kamal, Vyna dan Alfian yang telah membantu dan memberi petunjuk dalam penelitian.
16. Teman Kimia angkatan 2014 khususnya Kimia-A yang selalu kompak dalam suka maupun duka serta selalu memberikan ilmu dan bertukar pikiran dengan penulis.
17. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah membantu penulis selama ini.

Penyusun menyadari atas terbatasnya ilmu yang penyusun miliki. Penyusun skripsi ini tentu masih jauh dari sempurna. Untuk itu penyusun dengan senang hati mengharapkan kritik dan saran untuk perbaikan dalam penyusunan selanjutnya. Akhir kata, semoga segala bantuan dan doa dibalik penulisan ini menjadi berkah serta mendapat ganjaran oleh Allah SWT.

Malang, 30 April 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR PERSAMAAN.....	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK.....	xv
ABSTRACT	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1. 1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Hipotesis	6
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Diabetes Melitus.....	7
2.2 Antidiabetes Oral Golongan Sulfonilurea	8
2.3 Sulfonilurea Receptor (SUR)	9
2.4 Senyawa-senyawa Aktif Tanaman Pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	13
2.5 Penambatan Molekul (<i>Molekular Docking</i>)	16
2.6 Interaksi Protein-Ligan	18
2.6.1 Ikatan Van der Waals.....	18
2.6.2 Interaksi Dipol-Dipol.....	18
2.6.3 Ikatan Ion	19
2.6.4 Ikatan Hidrogen.....	19
2.7 Fungsi Scoring	19
2.8 Genetic Algorithm.....	22
2.9 Autodock.....	23
BAB III. METODE PENELITIAN	25
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	25

3.2 Alat dan Bahan.....	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan	25
3.2.2.1 Struktur Tiga Dimensi SUR (Sulfonylurea Receptor).....	25
3.2.2.2 Struktur Tiga Dimensi Ligan.....	26
3.3 Cara Kerja.....	26
3.3.1 Redocking (Penembatan Ulang).....	26
3.3.2 Docking.....	27
3.3.2.1 Preparasi Struktur Molekul SUR (Sulfonylurea Receptor).....	27
3.3.2.2 Preparasi Struktur Ligan	28
3.3.2.3 Penambatan Molekul dengan Autodock4	29
3.3.2.3.1 Pembentukan File GLG.....	29
3.3.2.3.2 Pembentukan File DPF	29
3.3.2.3.3 Pembentukan File DLG.....	30
3.3.3 Analisis dan Visualisasi Hasing Docking	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Preparasi Struktur SUR (Sulfonylurea Receptor)	32
4.2 Preparasi Struktur Ligan.....	34
4.3 Penambatan Molekul dengan Autodock4.....	36
4.3.1 Pembentukan File GLG	36
4.3.2 Pembentukan File DPF	37
4.3.3 Pembentukan File DLG	37
4.4 Analisis dan Visualisasi Hasil Docking	39
BAB V PENUTUP	56
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur senyawa glibenklamid	8
Gambar 2.2	Struktur 3D kanal K_{ATP}	10
Gambar 2.3	Visualisasi kompleks Kir6.2 dan SUR1.....	11
Gambar 2.4	Visualisasi binding site glibenklamid	12
Gambar 2.5	Struktur senyawa charantoside A, B dan C	13
Gambar 2.6	Struktur senyawa charantoside I-VII	14
Gambar 2.7	Skema <i>docking</i> molekul	16
Gambar 3.1	Pengaturan <i>gridbox</i> glibenklamid.....	28
Gambar 4.1	Visualisasi interaksi glibenklamid <i>redocking</i>	42
Gambar 4.2	Visualisasi 3D interaksi glibenklamid <i>redocking</i>	44
Gambar 4.3	Perbandingan posisi antara glibenklamid alam dan <i>redocking</i>	46
Gambar 4.4	Visualisasi posisi charantoside A, B, C dan I-VII	49
Gambar 4.5	Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan charantoside	50

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 2.1	Perhitungan nilai ΔG	20
Persamaan 2.2	Penjabaran rumusan evaluasi (V)	21
Persamaan 2.3	Entropi torsional	21

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Daftar ligan yang ditambahkan pada makromolekul (Pubchem)	34
Tabel 4.2	Data torsi aktif ligan <i>docking</i>	35
Tabel 4.3	Nilai ΔG_{bind} dan residu protein	40
Tabel 4.4	Data residu SUR1 yang berinteraksi dengan glibenklamid	43
Tabel 4.5	Definisi warna pada hasil visualisasi autodocktools dan pymol	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Struktur 3D Makromolekul K _{ATP}	62
Lampiran 2	Struktur 3D SUR.....	63
Lampiran 3	Tahapan Penelitian.....	64
Lampiran 4	Diagram Alir.....	65
Lampiran 5	Data Hasil <i>Docking</i> Autodock4.2.....	68
Lampiran 6	Visualisasi Interaksi Ligan Charantoside.....	75

ABSTRAK

Ramadhan, R.A.K 2021. **Studi Docking Senyawa-Senyawa Aktif Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Golongan Charantosides Pada Reseptor Sulfonilurea Sel Beta Pankreas.** Pembimbing I: Himmatul Barroroh, M.Si; pembimbing II: Mujahidin Ahmad, M.Sc; Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si.

Kata Kunci : diabetes, *Momordica charantia* L., SUR1, penambatan molekul, Autodock4

Diabetes mellitus (DM) yang tergolong dalam penyakit kronis muncul ketika pankreas dalam kondisi tidak mampu memproduksi insulin dan menggunakannya secara efektif. Pare (*Momordica charantia* L.) umum digunakan masyarakat sebagai pengobatan herbal untuk penyakit diabetes karena diketahui mengandung senyawa-senyawa aktif yang dapat menurunkan gula darah dalam tubuh. Senyawa-senyawa aktif tersebut yaitu *charantin*, *momordicines*, *charantosides* yang dapat berperan sebagai antidiabetik. Salah satu reseptor yang menjadi target pengobatan diabetes yaitu *Sulfonilurea Receptor* (SUR) yang bertanggung jawab untuk mensekresi insulin dari sel beta pankreas.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penambatan molekul (*molecular docking*) yang menginteraksikan senyawa-senyawa aktif buah pare golongan *Charantosides* sebagai ligan dengan SUR sebagai reseptor target. Interaksi ini diamati menggunakan perangkat lunak Autodock4.2 yang merupakan salah satu program yang dapat menambatkan ligan pada protein target. Hasil *docking* divisualisasikan menggunakan AutodockTools, Discovery Studio, dan Pymol.

Penelitian ini menggunakan glibenklamid, ligan yang sudah terikat pada SUR sebagai referensi hasil *docking* senyawa *charantosides*. Hasil menunjukkan *redocking* glibenklamid nilai energi ikatan glibenklamid sebesar -9,44 kkal/mol. Sedangkan senyawa *charantosides* memiliki nilai energi ikatan dengan rentang antara -8,25 kkal/mol hingga -10,19 kkal/mol. Ketika dibandingkan dengan glibenklamid, senyawa *charantoside C* memiliki nilai energi ikatan yang mendekati glibenklamid. Residu-residu SUR yang berinteraksi dengan *charantoside C* diketahui memiliki interaksi yang sama dengan glibenklamid. Namun berdasarkan seluruh data nilai energi ikatan, senyawa-senyawa *charantosides* memiliki nilai yang cukup baik dan mendekati nilai energi ikatan glibenklamid. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa *charantosides* berpotensi sebagai senyawa antidiabetes.

ABSTRACT

Ramadhan, R.A.K 2021. **Docking Study of Active Compounds of Pare (*Momordica charantia* L.) Charantosides Group on Sulfonylurea Receptor Pancreatic Beta Cells.** Supervisor I: Himmatul Barroroh, M.Si; Supervisor II: Mujahidin Ahmad , M.Sc; Consultant: Dewi Yuliani, M.Si.

Key Words : diabetes, *Momordica charantia* L., SUR1, docking molecular, Autodock4

Diabetes mellitus which is classified as a chronic disease, occurs when the pancreas is unable to produce insulin and can not use it effectively. Pare (*Momordica charantia* L.) is commonly used by the public as an herbal treatment for diabetes because it is known to contain active compounds that can lower blood sugar body. The active compounds are charantin, momordicines, charantosides which can act as antidiabetic. One of the receptors targeted for diabetes treatment is the Sulfonylurea Receptor (SUR) which is responsible for secreting insulin from pancreatic beta cells.

The method used in this research is molecular docking which interacts the active compounds of the Charantosides group of bitter melon fruit as ligands with SUR as the target receptor. This interaction was observed using Autodock4.2 software, which is a program that can bind ligands to the target protein. Docking results are visualized using AutodockTools, Discovery Studio, and Pymol.

This study used glibenclamide, a ligand that has been bound to SUR as a reference for the docking results of charantosides compounds. The results showed that the glibenclamide redocking binding affinity energy was -9,44 kcal/mol. Meanwhile, charantosides compounds have binding affinity energy ranging from -8,25 kcal/mol to -10.19 kcal/mol. When compared with glibenclamide, the compound charantoside C has a bond energy value close to glibenclamide. SUR residues that interact with charantoside C are known to have the same interactions with glibenclamide. However, based on all data on binding affinity energy, the charantosides compounds have good value and in the range of intermolecular interaction. This shows that charantosides compounds have the potential to be antidiates

مستخلص البحث

رمضان ، ر. أ. ك. (2021). دراسة الإرساء المركبات النشطة لفاكهة الحنظل (*Momordica charantia L.*) مجموعة *Charantosides* على مستقبلات السلفونيل يوريا في خلايا بيتا البنكرياس. المشرفة الأولى: همة البرارة الماجستير ؛ المشرف الثاني: مجاهدين أحمد الماجستير ؛ المستشار: ديوي يولياني الماجستير.

الكلمات المفتاحية: السكري ، فاكهة الحنظل (*Momordica charantia L.*) ، *SUR1* ، الالتحام الجزيئي ، *Autodock4.2* ،

يحدث مرض السكري (*Diabetes mellitus*) ، المصنف على أنه مرض مزمن ، عندما يكون البنكرياس غير قادر على إنتاج الأنسولين و استخدامه بشكل فعال. تستخدم فاكهة الحنظل (*Momordica charantia L.*) بشكل شائع من قبل الجمهور كعلاج عشبي لمرض السكري لأنه من المعروف أنه يحتوي على مركبات نشطة يمكنها خفض نسبة السكر في الدم في الجسم. المركبات النشطة هي الشارانتين (*charantin*) ، مومورديسين (*momordicines*) ، شارانتوسيدات (*charantosides*) التي يمكن أن تعمل كمضادات لمرض السكر. أحد المستقبلات المستهدفة لعلاج مرض السكري هو مستقبلات السلفونيل يوريا (*Sulfonylurea Receptor/SUR1*) المسؤولة عن إفراز الأنسولين من خلايا بيتا في البنكرياس. الطريقة المستخدمة في هذا البحث هي الالتحام الجزيئي الذي يتفاعل مع المركبات النشطة لمجموعة *Charantosides* من ثمار البطيخ المر على شكل روابط مع مستقبلات السلفونيل يوريا (*Sulfonylurea Receptor/SUR*) كمستقبل مستهدف. لوحظ هذا التفاعل باستخدام برنامج *Autodock4.2* ، و هو برنامج يمكنه ربط الروابط بالبروتين المستهدف. يتم عرض نتائج الإرساء باستخدام *AutodockTools* و *Discovery Studio* و *Pymol*.

استخدمت هذه الدراسة مادة جليبينكلاميد (*glibenklamid*) ، وهو يجند مرتبط بمستقبلات السلفونيل يوريا (*Sulfonylurea Receptor/SUR*) كمرجع مرجعي لمركبات شارانتوسيدات (*charantosides*). أظهرت النتائج أن قيمة الطاقة المختزلة للجليبينكلاميد لرابطة جليبينكلاميد كانت -9,44 كيلو كالوري/مول. وفي الوقت نفسه ، تحتوي مركبات شارانتوسيدات على قيم طاقة رابطة تتراوح من -8,25 كيلو كالوري/مول إلى -10,19 كيلو كالوري/مول. عند مقارنته مع جليبينكلاميد ، فإن مركب الكارانتوسيد س (*charantocide C*) له قيمة طاقة رابطة قريبة من قيمة جليبينكلاميد. من المعروف أن مخلفات مستقبلات السلفونيل يوريا (*Sulfonylurea Receptor/SUR*) التي تتفاعل مع مركب الكارانتوسيد س (*charantocide C*) لها نفس التفاعلات مع جليبينكلاميد (*glibenklamid*). و مع ذلك ، استنادًا إلى جميع البيانات الخاصة بقيم طاقة الرابطة ، فإن مركبات الكارانتوسيدات لها قيمة جيدة إلى حد ما و قريبة من قيمة الطاقة لرابطة جليبينكلاميد ، و هذا يوضح أن مركبات شارانتوسيدات لديها القدرة على أن تكون مضادات.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolisme yang disebabkan karena adanya gangguan sekresi insulin pada pankreas. Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak mampu memproduksi insulin atau merespon insulin yang disekresikan. Penyakit ini ditandai dengan kadar gula darah yang tinggi (hiperglikemia).dan abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Sharma dan Kumar, 2011; Schwinghammer, 2009).

Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan secara medis dengan suntikan insulin dan obat antidiabetik oral. Salah satu obat oral yang umum digunakan adalah golongan sulfonilurea (Lee *et al.*, 2012). Pengobatan secara medis ini membutuhkan biaya yang cukup tinggi dan memiliki efek samping yang serius bagi penggunaanya seperti hipoglikemia, toksisitas hati, peningkatan berat badan, *physconia* (pembesaran perut), dan asidosis laktat (Fikry, 2014). Oleh karena itu, permasalahan tersebut dapat diatasi dengan menggunakan obat-obat herbal dari tumbuhan yang memiliki lebih sedikit efek samping dan tidak membutuhkan biaya yang tinggi.

Tanda-tanda kebesaran dan kekuasaan Allah SWT ditunjukkan dengan diciptakannya berbagai macam tumbuhan-tumbuhan. Keanekaragaman tumbuhan ini banyak sekali nilai manfaat yang dapat diperoleh manusia. Namun masih banyak tumbuhan-tumbuhan yang belum diketahui manfaatnya. Berkah dan nikmat Allah SWT yang berupa berbagai macam tumbuhan yang diberikan

kepada seluruh makhluknya. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.S Al-Syu'ara (26) ayat 7.

أَو لَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Dalam *Tafsir Al-Misbah* (2002) kata (زَوْج) atau *zauj* diartikan sebagai sesuatu yang berpasangan. Maksud dari kata berpasangan dalam ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan. Sedangkan kata (كَرِيمٍ) atau *kariim* menunjukkan arti yang mulia/baik dalam segi bentuk, zat, dampak dan nilainya. Ayat tersebut menjelaskan kebesaran Allah SWT dengan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang banyak sekali manfaat serta memiliki banyak jenis warna dan rasa dengan tidak sia-sia. Salah satu manfaat yang dimaksudkan dalam tafsir tersebut merupakan manusia dapat mengolah tumbuhan-tumbuhan tersebut menjadi obat dengan mengetahui kandungan/ zat aktif di dalam tumbuhan tersebut.

Salah satu jenis tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat herbal adalah tanaman pare (*Momordica charantia* L.). Tanaman ini digunakan sebagai tanaman pangan dan bahan obat tradisional yang harganya relatif murah (Sayoeti, 2015). Wicaksono, dkk (2013) menyatakan bahwa kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dosis 250 mg/kgBB dan metformin 90 mg/kgBB lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan. Ananta, dkk (2016) melaporkan bahwa partisi etil asetat buah pare berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus*

novergicus) diabetes pada dosis 50 mg/kg berat. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat diketahui bahwa tanaman pare memiliki beberapa senyawa yang dapat menurunkan kadar gula dalam darah.

Pare mengandung senyawa-senyawa golongan triterpenoid *cucurbitane-type* yang diduga memiliki efek antidiabetik, antiinflamasi dan sitotoksik yaitu *charantin*, *vicine*, *charantosides*, dan *momordicosides* (Nagarani, dkk, 2014). Francis dkk (2002) menyebutkan bahwa kelompok *charantosides* yang ditemukan pada buah pare merupakan senyawa triterpenoid yang berpotensi memiliki aktivitas antidiabetik. Kelompok *charantosides* tersebut adalah *charantoside* I-VII dan *charantoside* A, B, C. Nhiem dkk (2010) melaporkan aktivitas *charantoside* A sebagai inhibitor alfa-glukosidase yang menghalangi terpecahnya karbohidrat menjadi glukosa. Berdasarkan hasil tersebut dikatakan *charantoside* A memiliki aktivitas antidiabetes. Namun, belum ada penelitian yang mengatakan bahwa kelompok *charantosides* selain *charantoside* A memiliki aktivitas sebagai antidiabetes sehingga diperlukan penentuan aktivitas kelompok senyawa tersebut.

Pengujian awal antidiabetes dari kelompok *charantosides* dapat dilakukan secara komputasi. Target pegujian merupakan reseptor *sulfonylurea* (SUR) pada sel beta pankreas. SUR merupakan reseptor yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap obat golongan sulfonilurea. SUR disebutkan memiliki densitas tinggi yang berada pada permukaan membran plasma sel beta pankreas. SUR bekerja dengan mengikat obat golongan sulfonilurea sehingga terjadi sekresi insulin dari sel beta pankreas (Oh *et al.*, 2012). Uji awal ditargetkan pada SUR karena diketahui bekerja spesifik terhadap obat oral golongan sulfonilurea.

Mekanisme interaksi antara SUR dan senyawa kelompok *charantosides* ini dapat diteliti dengan metode penambatan molekul (*molecular docking*) yang merupakan sistem komputasi pada skrining biologi. Kelebihan penggunaan metode penambatan molekul umum digunakan karena waktu penelitian yang lebih efisien, lebih cepat dan biaya yang relatif murah dibandingkan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Metode ini akan mencari nilai, peringkat, atau menyaring seperangkat struktur data secara komputasi (Leach *et al.*, 2006). Saputri, dkk (2016) melakukan docking molekul senyawa turunan zerumbon sebagai inhibitor aldose reduktase yang memiliki aktivitas potensi antidiabetes menggunakan Autodock. Sementara itu Fikry (2014) menambatkan senyawa-senyawa flavonoid buah mengkudu pada *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* (PPAR γ) menggunakan aplikasi yang sama. Hasil dari penelitian-penelitian tersebut adalah nilai ΔG (*binding affinity energy*) yang merupakan kemampuan ligan/obat untuk berikatan dengan reseptor. Ketika nilai ΔG yang dihasilkan semakin minus dapat dipastikan ikatan antara reseptor dan ligan dipastikan dapat terjadi (Saputri, dkk, 2016).

Pada penelitian ini akan dilakukan penambatan molekul senyawa – senyawa aktif dari tanaman pare yaitu *charantocide* (I, II, III, IV, V, VI, dan VII) dan *charantocide* A, B, C sebagai ligan untuk reseptor sulfonilurea. Penambatan molekul pada penelitian ini menggunakan perangkat lunak Autodock4.2 sebagai perangkat visualisasi.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana interaksi intermolekuler senyawa-senyawa aktif buah pare (*Momordica charantia* L.) yang ditambatkan pada reseptor sulfonilurea sel beta pankreas?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membuktikan bahwa senyawa – senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia*) memiliki interaksi yang baik terhadap reseptor *sulfonylurea*.
2. Mendapatkan model interaksi penambatan molekul ligan senyawa–senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia*) pada *sulfonylurea*.

1.4 Batasan Masalah

1. Senyawa-senyawa aktif buah pare yang dianalisis yaitu *Charantoside* (I, II, III, IV, V, VI dan VII) dan *Charantoside* A, B, C
2. Perangkat lunak yang digunakan untuk docking molekular yaitu Autodock4.2, AutodockTools, Pymol, Open Babel, Chimera 1.11.2
3. Parameter uji hasil penambatan molekul yaitu nilai RMSD, nilai ΔG_{bind} , dan interaksi ligan dengan molekul protein

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah membantu para peneliti dalam merancang obat antidiabetes baru.

1.6 Hipotesis

Senyawa – senyawa aktif dari buah pare (*Momordica charantia*) yaitu *Charantoside* (I, II, III, IV, V, VI dan VII) dan *Charantoside* A, B, C memiliki interaksi yang baik jika ditambahkan pada reseptor *sulfonylurea*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia atau kelebihan gula dalam darah yang terjadi karena pankreas tidak mampu memproduksi hormon insulin. Hormon ini merupakan hormon yang mengatur jumlah gula dalam darah. (ADA, 2010). Gangguan sekresi insulin dapat menyebabkan komplikasi kronik mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropatik (Schwinghammer, 2009). Berdasarkan penyebabnya, Diabetes Melitus dibagi menjadi 4 klasifikasi utama, yaitu (ADA, 2010):

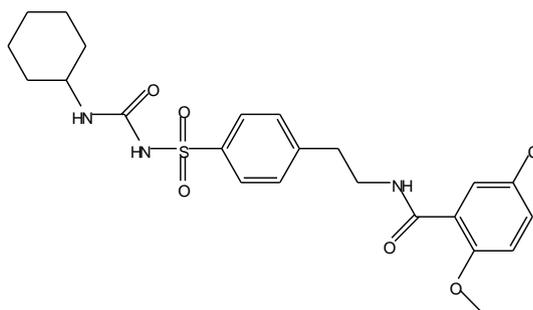
- a. Tipe I: *Insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM). DM ini tergantung pada insulin. Diabetes tipe ini terjadi karena adanya destruksi sel beta pankreas. Organ pankreas kehilangan kemampuannya untuk menghasilkan insulin sehingga individu yang mengidap penyakit ini harus mendapat insulin pengganti.
- b. Tipe II: *Non insulin dependent mellitus* (NIDDM). DM ini tidak tergantung pada insulin. Pada penderita DM tipe ini mengalami resistensi insulin. Terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin terhadap glukosa darah sehingga sel beta pankreas mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa.
- c. Tipe III: Diabetes melitus tipe lain. DM ini terjadi karena etiologi lain, misalnya pada defek genetik fungsi sel beta pankreas, defek genetik kerja insulin, penyakit

eksokrin pankreas, penyakit metabolik endokrin lain, iatrogenik, infeksi virus, penyakit autoimun dan kelainan genetic.

- d. Tipe IV: *Gestational diabetes mellitus* (GDM). DM ini terjadi selama masa kehamilan. Penderita DM gestasional memiliki risiko lebih besar untuk menderita DM yang menetap dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan.

2.2 Antidiabetes Oral Golongan Sulfonilurea

Sulfonilurea (*SUs*) adalah zat yang dapat merangsang sekresi insulin endogen dengan menghalangi saluran potassium adenosin triposfat-sensitif (K_{ATP}) pada sel beta pankreas. Sulfonilurea mengikat unit SUR (*Sulfonylurea receptor*) pada sel beta pankreas yang menyebabkan penutupan saluran K_{ATP} dan menghambat masuknya ion K^+ , akibatnya terjadi depolarisasi membran dan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel (Kalra dan Ghupta, 2015).



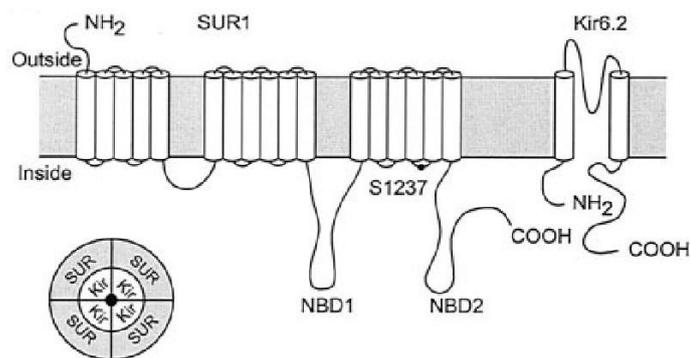
Gambar 2.1 Struktur senyawa glibenklamid

Salah satu obat oral golongan sulfonilurea yang umum digunakan yaitu glibenklamid (Gambar 2.1) yang memiliki efek antidiabetes cukup kuat. Namun glibenklamid memiliki efek samping hipoglikemik yang sangat parah jika dikonsumsi berlebihan. Oleh karena itu dianjurkan untuk mengonsumsi glibenklamid sehari sekali. Efektivitas glibenklamid dapat berkurang jika dikonsumsi pada waktu yang lama (Husyanti, 2016; Nugroho, 2006; Putra, dkk, 2017).

2.3 Sulfonylurea Receptor (SUR)

Target utama obat oral golongan sulfonilurea merupakan kanal kalium yang memiliki peran utama dalam mengendalikan potensi membran sel beta pankreas. Ketika obat oral sulfonilurea dikonsumsi, akan terjadi penutupan K_{ATP} yang menyebabkan depolarisasi membran sel beta pankreas. Proses depolarisasi membran ini akan membuka kanal kalsium (Ca^{2+}) sehingga ion-ion kalsium ekstraseluler akan masuk meningkatkan konsentrasi ion kalsium di dalam sel. Peristiwa ini menstimulasi pembentukan granul-granul berisi insulin yang kemudian dikeluarkan ke darah. (Proks *et al.*, 2002).

K_{ATP} merupakan suatu kompleks hetero-oktamerik yang terdiri dari dua jenis subunit protein yaitu Kir6.x dan reseptor sulfonilurea (SUR) yang ditunjukkan pada Gambar 2.2. Kir6.x tergabung dalam golongan kanal kalium (K^+) yang kuat secara internal dan mirip dengan tetramer yang dapat membentuk suatu lubang kanal. Kir6.x memiliki dua macam isoform yaitu Kir6.1 dan Kir6.2. Isoform Kir6.x yang berikatan dengan SUR yaitu Kir6.2 yang bekerja sebagai perantara efek penghambatan ATP pada aktivitas kanal (Mikhailov *et al.*, 2001).



Gambar 2.3 Visualisasi kompleks Kir6.2 dan SUR1; Kir6.2: kanal kalium; SUR1: reseptor sulfonilurea; S1237: residu serin; NBD1 dan NBD2: domain *nucleotide-binding* (Proks *et al.*, 2002)

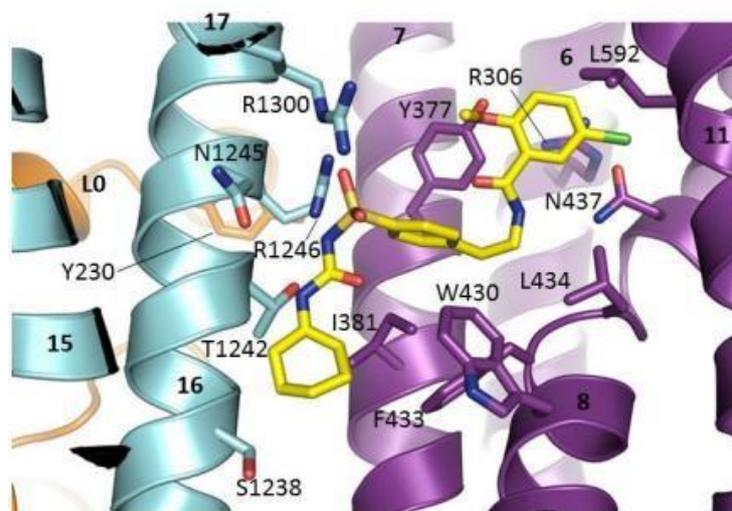
Obat golongan sulfonilurea ketika berinteraksi dengan SUR akan terikat dengan afinitas yang sangat tinggi sehingga dapat menyebabkan penutupan kanal K^+ . Menurut penelitian sebelumnya, obat golongan sulfonilurea juga berinteraksi dengan Kir6.2 namun dengan afinitas ikatan yang lemah. Semua obat yang dapat merangsang penutupan kanal K^+ dapat menstimulasi sekresi insulin namun yang dapat digunakan dalam terapi pengobatan diabetes merupakan yang berinteraksi dengan SUR (Gribble *et al.*, 1998).

Proks *et al* (2002) menyimpulkan bahwa residu Serin1237 yang berada pada lubang sitoplasma antara transmembran (TM) 15 dan 16 diketahui berkontribusi besar sebagai situs pengikatan obat sulfonilurea pada SUR1. Hal ini dibuktikan dengan penurunan kekuatan blokir glibenklamid pada Kir6.2/SUR1 ketika S1237 digantikan menjadi serin termutasi S1237Y. Oleh karena itu, residu ini dikatakan sangat penting untuk interaksi afinitas tinggi glibenklamid dengan SUR.

Martin *et al* (2017) melakukan penelitian lanjut untuk mengetahui *binding site* dari glibenklamid dan melaporkan beberapa asam amino pada SUR1 yang berinteraksi secara langsung dengan melakukan mutasi pada enam residu SUR1

dari hasil penelitian sebelumnya yaitu R306A, Y377A, N437A, T1242A, R1246A dan R1300A dan diketahui lima dari mutasi tersebut yaitu R306A, Y377A, N437A, T1242A, dan R1246A menunjukkan pengurangan sensitivitas secara signifikan terhadap glibenklamid.

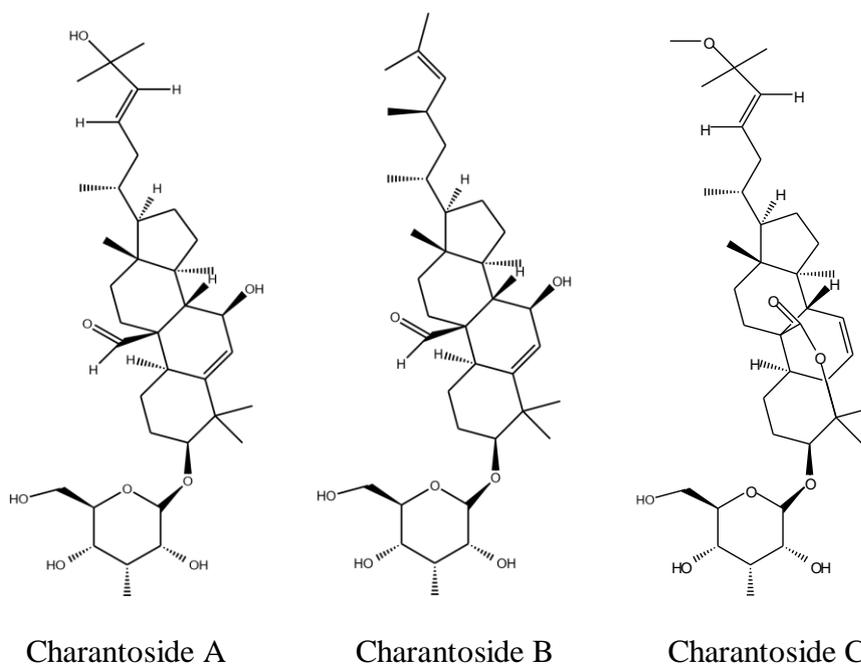
Visualisasi dilakukan terhadap asam-asam amino tersebut dan diketahui bahwa residu arginin (R1246 dan R1300) pada TM (transmembran) 16 dan TM17 mengkoordinasi setiap oksigen dari grup sulfonil pada glibenklamid. Residu treonin (T1242) dan asparagin (N1245) pada TM16 mengkoordinasi nitrogen pada bagian urea glibenklamid. Gugus amino asparagin (N437) pada TM7 diketahui membentuk ikatan hidrogen dengan gugus klorin sedangkan residu tirosin (Y377) pada TM8 membentuk ikatan hidrogen dengan gugus metoksi pada glibenklamid dan diketahui pula berkontribusi dalam interaksi tumpang tindih π - π dengan cincin benzena milik glibenklamid (Martin *et al.*, 2017)



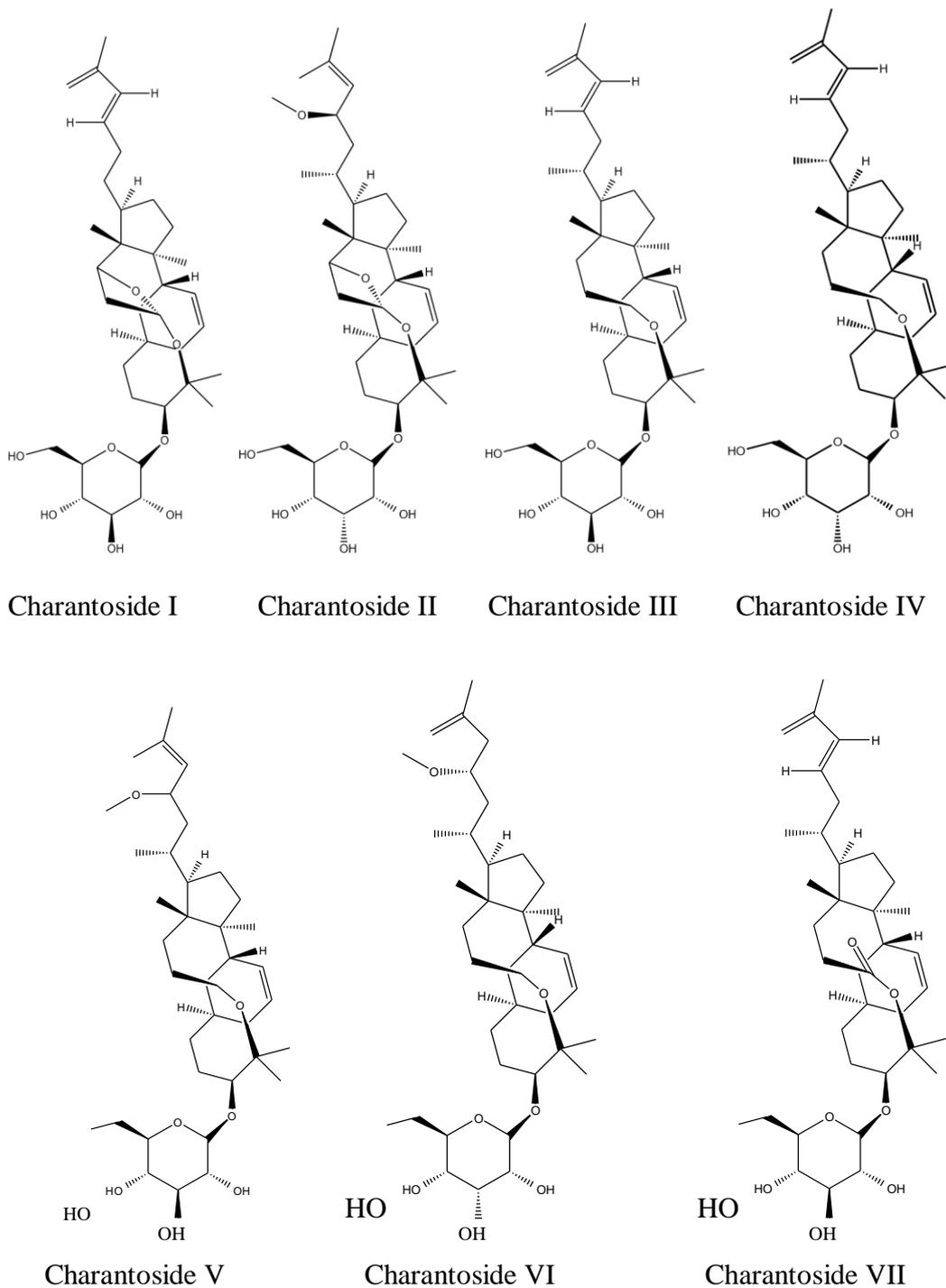
Gambar 2.4 Visualisasi asam-asam amino pada SUR1 yang berinteraksi dengan glibenklamid (Martin, dkk, 2017)

2.4 Senyawa-senyawa Aktif Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.)

Buah pare merupakan bagian utama tanaman pare yang memiliki nilai ekonomi cukup tinggi. Buah pare diketahui memiliki senyawa bioaktif yang beragam seperti asam fenolik, flavonoid, karotenoid, triterpenoid, dan fitosterol (Horax *et al.*, 2010). Senyawa terpenoid yang terkandung dalam buah pare merupakan triterpenoid jenis *cucurbitane* diantaranya yaitu *charantin*, *kuguacins* A-S, *momordicine* (I, II, dan III), *charantosides* I-VIII, *charantosides* (A, B dan C), *momordicosides* (U, V dan W) dan lainnya (Joseph, 2013). Senyawa triterpenoid jenis *cucurbitane* yang terkandung di dalam buah pare Senyawa-senyawa tersebut menunjukkan aktivitas biologi yang kuat seperti antidiabetik, sitotoksik, anti-inflamasi, dan kardiovaskular (Nagarani *et al.*, 2014). Struktur dari senyawa *charantoside* A,B,C dan *charantoside* I-VII ditunjukkan pada Gambar 2.5 dan 2.6



Gambar 2.5 Struktur senyawa charantoside A, B, dan C (Ahamad *et al.*, 2017)



Gambar 2.6 Struktur senyawa charantoside I-VII (Ahamad et al., 2017)

Senyawa *charantosides* (I-VII) termasuk dalam senyawa saponin utama yang diidentifikasi di buah pare. Senyawa-senyawa ini dilaporkan dapat bertindak

sebagai antioksidan, antidiabetes, dan bertindak sebagai agen antijamur serta antivirus. Senyawa *charantoside* A, B, C ditemukan melalui ekstraksi metanol buah pare. Hasil dari ekstrak senyawa *charantoside* A tersebut diuji dan diketahui memiliki aktivitas sebagai inhibitor alfa-glukosidase yang menghalangi terpecahnya karbohidrat menjadi glukosa (Nhiem *et al.*, 2010).

Keberadaan zat-zat aktif dalam buah Pare menunjukkan mahakuasa Allah SWT atas segala penciptaannya yang dijelaskan pada QS. Asy-Syuara ayat 7. Allah SWT telah menciptakan berbagai tanaman yang bermanfaat di bumi untuk makhluk-Nya yang beriman yang dijelaskan dalam QS. Asy-Syuara ayat 8

إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً وَمَا كَانَ أَكْثَرُهُمْ مُّؤْمِنِينَ ۝ ۸

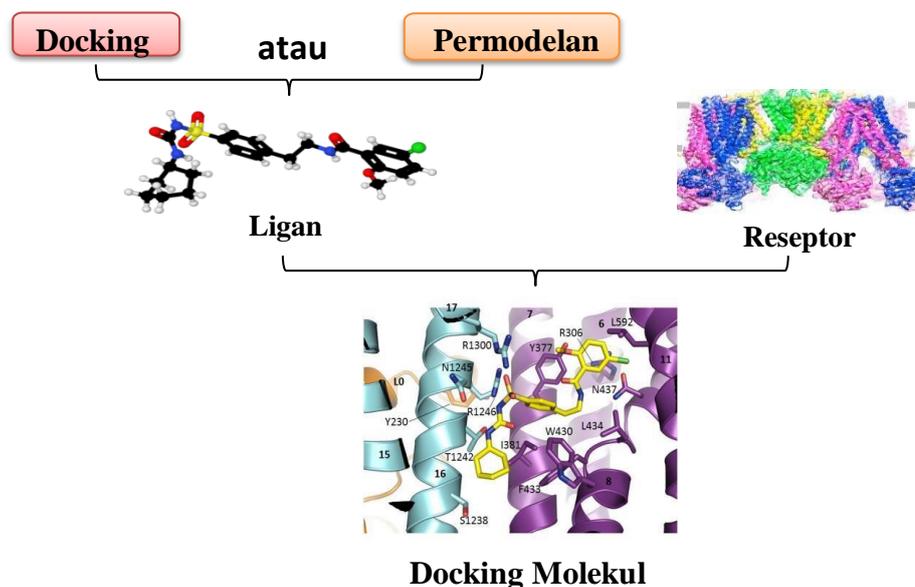
Artinya: “*Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman*”

Dalam *Tafsir Al-Misbah* (2002) kata (كَانَ) atau *kaana* dijelaskan sebagai kata yang telah terjadi pada masa lampau. Kata *kaana* tersebut juga dijelaskan yang menunjukkan kesinambungan sesuatu dari sejak dulu hingga masa sekarang. Berdasarkan tafsir tersebut, dalam ayat tersebut mengukuhkan bahwasannya Allah SWT telah menunjukkan kebesaran-Nya sejak dulu dengan diciptakannya tumbuhan-tumbuhan yang bermanfaat tersebut. Sedangkan kata (أَكْثَرُهُمْ مُّؤْمِنِينَ) atau *aktsaruhum mu'miniin* tersebut menekankan pada orang-orang yang tidak mempercayai dengan segala kebesaran Allah SWT yang tergolong dalam orang-orang yang tidak beriman. Berdasarkan ayat tersebut dengan ditunjukkannya ciptaan Allah SWT berupa tumbuhan-tumbuhan yang memiliki kandungan zat

yang beragam tersebut, sebagai umat muslim yang beriman wajib untuk meyakini segala sesuatu ciptaan-Nya sebagai bentuk iman kepada Allah SWT.

2.5 Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Metode perancangan obat saat ini telah dilakukan secara komputasi. Metode tersebut dilakukan dengan memodelkan sampel secara molekuler. Studi yang digunakan yaitu *structure-based drug design* yang memodelkan interaksi molekul kecil dengan suatu makromolekul (protein) pada tingkat atom yang secara struktural yang datanya diperoleh dari eksperimental. Dalam studi tersebut metode yang umum digunakan yaitu *docking* (penambatan) (Siswandono, 2016).



Gambar 2.7 Skema *docking* molekul (Chaudhary dan Mishra, 2016; Li et al., 2017)

Docking merupakan metode untuk memprediksi konformasi ligan dalam situs pengikatan protein yang tepat dengan tingkat akurasi tinggi. Prediksi konformasi ini dapat digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan ligan

untuk membentuk kompleks yang stabil dengan protein, dengan menemukan orientasi paling baik dari nilai energi bebas ikat minimum. Konsep docking dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Ferreira *et al.*, 2015).

Tujuan utama *docking* yaitu untuk membentuk konformasi antara ligan dan protein yang dioptimasi sehingga energi bebas keseluruhan sistem diminimalkan. Proses komputasi ini akan mencari ligan yang bekerja baik di situs aktif suatu protein target baik secara energi maupun orientasinya. *Docking* sering diterapkan untuk memprediksi orientasi kandidat obat baru pada target protein untuk memprediksikan afinitas dan aktivitas obat. Oleh karena itu *docking* memerankan peran penting dalam desain dan penemuan obat karena lebih fleksibel, sinergis dan efektif (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Syarat melakukan *docking*, struktur protein maupun ligan dibutuhkan dalam bentuk 3 dimensi yang digunakan sebagai *input*. Untuk protein, struktur 3D diperoleh dari data eksperimen seperti sintesis kimia, kristalografi sinar-X, dan spektroskopi NMR. Program docking ini terdiri dari dua bagian yaitu algoritma pencarian dan fungsi scoring (Misra *et al.*, 2017). Algoritma yang ideal harus mampu mereproduksi mode pengikatan eksperimental dan fungsi scoring yang ideal harus memberi peringkat tertinggi diantara semua konformasi yang dihasilkan (Meng *et al.*, 2011).

Langkah-langkah yang dilakukan saat *docking* yaitu: (1) persiapan struktur 3D protein, (2) persiapan ligan, (3) estimasi energi pengikatan kompleks protein-ligan, dan (4) analisa hasil. Sedangkan jenis *docking* jika dikelompokkan berdasarkan interaksinya yaitu:

docking protein-protein, *docking* protein-ligan dan *docking* protein-nukleotida (Misra *et al*, 2017).

2.6 Interaksi Protein-Ligan

Interaksi tersebut terjadi ketika suatu obat sebagai ligan berinteraksi dengan molekul/protein targetnya. Reseptor merupakan salah satu contoh protein target bagi molekul obat yang bekerja secara reversibel dan dapat memberikan respon biologis spesifik. Interaksi obat dengan reseptor dapat berlangsung karena adanya kekuatan ikatan kimia. Ada beberapa macam ikatan kimia yang terlibat dalam interaksi obat dengan reseptor yaitu ikatan Van der Waals, ikatan hidrogen, ikatan dipol-dipol, ikatan ion (elektrostatik), dan ikatan kovalen (Siswando, 2016).

2.6.1 Ikatan Van der Waals

Ikatan Van der Waals merupakan tarik menarik yang terjadi antar molekul atau atom yang tidak bermuatan. Pada interaksi ligan dan reseptor ikatan Van der Waals terlibat dalam interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan reseptor (Siswandono, 2016).

2.6.2 Interaksi Dipol-Dipol

Interaksi dipol-dipol terjadi antara molekul-molekul yang memiliki kepolaran yang sama ataupun berbeda. Molekul polar yang memiliki pusat muatan positif akan dekat dengan pusat muatan negatif molekul polar yang lain begitu pula sebaliknya menyebabkan gaya tarik yang disebut dipol-dipol. Gugus fungsi

yang memiliki fungsi dipolar yaitu gugus karbonil, ester, amida, eter dan nitril (Siswandono, 2016).

2.6.3 Ikatan Ion

Ikatan ion adalah ikatan yang terbentuk karena adanya gaya tarik menarik elektrostatik antara atom yang memiliki ion-ion dan muatannya berlawanan. Gugus kation protein berupa asam amino lisin, glutamin, asparagin, argini, glisin dan histidin. Gugus anion protein berupa gugus karboksilat seperti asam aspartat dan glutamat. Obat yang memiliki gugus kation potensial seperti R_3NH^+ , R_4N^+ , dan $R_2C=NH_2^+$, maupun gugus anion potensial seperti $RCOO^-$, RSO_3^- dan $RCOS^-$ dapat membentuk ikatan ionik dengan gugus-gugus reseptor yang bermuatan berlawanan (Siswandono, 2016).

2.6.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan gaya antarmolekul yang paling kuat dibandingkan gaya antarmolekul yang lainnya. Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen terikat oleh dua atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi yaitu atom N, O dan F. Ikatan hidrogen yang terjadi antara 2 molekul atau lebih disebut dengan ikatan hidrogen molekul antarmolekul. Ikatan hidrogen memiliki kekuatan yang lebih lemah dibandingkan ikatan ionik (Siswandono, 2016).

2.7 Fungsi *Scoring*

Fungsi *scoring* menjadi komponen yang paling penting dalam molekul docking karena digunakan untuk menghitung energi ikatan dalam pembuatan obat

berbasis struktur. Fungsi *scoring* merupakan perhitungan komputasi untuk mengetahui kekuatan ikatan yang dihasilkan dari interaksi gugus-gugus fungsi ligan dengan residu-residu asam amino protein reseptor. Fungsi *scoring* memiliki tiga aplikasi utama yaitu menentukan mode binding dan lokasi ligan pada protein target, memprediksi afinitas ikatan antara ligan-protein target dan mengidentifikasi potensi suatu ligan pada protein target (skrining virtual database). Idealnya fungsi *scoring* yang baik mampu memberikan peringkat pada orientasi yang terbentuk dari hasil eksperimen pada saat menentukan mode binding dan saat skrining virtual database. Selain itu, fungsi *scoring* yang akurat dapat meningkatkan efisiensi optimisasi saat proses penambatan dilakukan (Huang *et al.*, 2010).

Macam-macam fungsi *scoring* ada 3 yaitu: *force-field based*, *empirical* dan *knowing-based*. Fungsi *scoring* yang khusus digunakan Autodock yaitu *force field-based*. Fungsi *scoring force field-based* klasik menilai energi ikatan dengan menghitung jumlah interaksi non-ikatan seperti Van der Waals dan elektrostatik. Interaksi Van der Waals dijelaskan oleh fungsi potensial *Lennard-Jones* yang mengadopsi set parameter yang berbeda dapat mengontrol jarak antara protein dan ligan. Interaksi elektrostatik dihitung menggunakan rumusan *Coulombic* (Meng *et al.*, 2011). *Force field* meliputi evaluasi (V) pada enam pasangan atom dan perkiraan entropi konformasi yang hilang saat pengikatan (ΔS_{conf}) (Huey *et al.*, 2007). Persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai ΔG pembentukan kompleks ligan-protein target dapat dilihat pada Persamaan 2.1

$$\Delta G = (V_{bound}^{L-L} - V_{unbound}^{L-L}) + (V_{bound}^{P-P} - V_{unbound}^{P-P}) + (V_{bound}^{P-L} - V_{unbound}^{P-L} + \Delta S_{conf}) \quad \dots\dots\dots(2.1)$$

Setiap evaluasi pasangan atom meliputi evaluasi untuk Van der Waals, ikatan hidrogen, elektrostatik dan desolvasi (Huey *et al.*, 2007). Fungsi scoring yang digunakan Autodock4 yaitu *semiempirical free energy force-field* yang menggabungkan mekanika molekuler *force-field* tradisional dengan bobot empirik dan bentuk fungsional empirik. Penjabaran rumusan evaluasi (V) dapat dilihat pada Persamaan 2.2

$$V = W_{vdw} \sum_{i,j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + W_{hbond} \sum_{i,j} E(t) \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + W_{elec} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{e(r_{ij}) r_{ij}} + W_{sol} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{(-r_{ij}^2 / 2\sigma^2)} \quad \dots(2.2)$$

Dimana, V merupakan Fungsi scoring; vdw: Van der Waals; W: Faktor bobot; hbond: ikatan hidrogen; *i,j*: Atom; elec: elektrostatik; sol: desolvasi.

Rumusan untuk entropi torsional (ΔS_{conf}) yang ditunjukkan pada Persamaan 2.3 saat pengikatan berbanding lurus dengan jumlah ikatan yang dapat diputar dalam molekul (N_{tors}) yang meliputi keseluruhan derajat kebebasan torsi.

$$\Delta S_{conf} = W_{conf} N_{tors} \quad \dots\dots\dots(2.3)$$

Peningkatan kinerja *force-field* baru ini meliputi perombakan model termodinamika pada proses pengikatan, adanya model desovasi penuh serta penggabungan model pada evaluasi ikatan hidrogen (Huey *et al.*, 2007).

2.8 Algoritma Genetika

Algoritma genetika merupakan konsep matematika yang dirancang untuk mensimulasikan kondisi yang mempengaruhi evolusi biologis. Algoritma genetika dapat mencari ruang konformasi dengan cara mutasi ligan untuk menemukan konformasi ligan pada energi terendah ketika berikatan dengan suatu protein. Algoritma genetika memiliki banyak macam seperti *simulated annealing* (SA), *genetic algorithm* (GA), dan *lamarckian genetic algorithm* (LGA) (Jones *et al.*, 1997).

Model algoritma genetika yang digunakan pada aplikasi Autodock yaitu GA karena sudah banyak digunakan untuk penambatan ligan-protein. Pada GA klasik diterapkan mendefinisikan ligan sebagai gen. Gen-gen tersebut membentuk kromosom yang sebenarnya merupakan pose dari ligan. Algoritma genetika memiliki dua operator genetika yaitu mutasi yang membuat perubahan acak pada gen dan *crossover* mengubah gen antara dua kromosom. Ketika gen terpengaruh oleh operator genetika, maka akan dihasilkan struktur ligan baru atau disebut dengan konformasi—konformasi ligan. Penilaian energi konformasi ligan yang terbentuk dilakukan menggunakan fungsi *scoring* (Meng *et al.*, 2011).

GA telah dimodifikasi yang dinamakan *Lamarckian genetic algorithm* (LGA). Algoritma ini memungkinkan untuk mengontrol nilai besar dari derajat kebebasan (*degree of freedom*). LGA ini menerapkan metode pencarian lokal *Solis* dan *Wets* yang merupakan parameter ruang berkelanjutan dengan tujuan utama yaitu optimasi fungsi lokal yang tidak memberikan informasi gradien. Pada dasarnya optimasi tersebut dimulai dengan mencari secara acak di ruang pencarian dan bergerak secara acak selama fungsi obyektif meningkat. Konformasi yang

cocok akan dinilai dengan persentasi sebesar 50% teratas yang dibolehkan membentuk turunan untuk mengisi genetika. Pemilihan konformasi didasarkan pada urutan yang terbentuk. Kemudian konformasi dipilih secara acak, yang tidak sesuai dengan optimasi lokal akan dioptimasi menggunakan metode *Solis* dan *Wets* (Fuhrmann *et al.*, 2010).

2.9 Autodock

Autodock merupakan program penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. Autodock terdiri dari dua program utama, yaitu Autodock dan Autogrid. Autodock untuk melakukan penambatan molekuler ligan dan protein target dengan set grid yang telah terdeskripsi. (Morris *et al.*, 2009).

Autogrid merupakan program yang digunakan sebagai perhitungan awal energi interaksi yang terbentuk dari peta grid untuk berbagai jenis atom, seperti karbon alifatik, karbon aromatik, oksigen ikatan hidrogen dengan makromolekul seperti protein, DNA atau RNA. Peta grid ini digunakan untuk menentukan total energi interaksi untuk ligan dengan makromolekul. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, autodock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat (Morris *et al.*, 2009).

Versi terbaru dari program autodock yaitu Autodock4.2. Program ini menerapkan kombinasi dari fungsi scoring *force-field based* dengan *empirical* sehingga membentuk fungsi scoring *semiempirical free energy force-field*. Peningkatan kerja fungsi scoring yang digunakan oleh Autodock4.2 meliputi

perombakan model termodinamika pada proses pengikatan, adanya model desolvasi penuh serta penggabungan model pada evaluasi ikatan hidrogen (Huey, *et al*, 2007).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang di Laboratorium Komputasi selama bulan Januari hingga Mei 2020.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat *Notebook* HP (Pavilion *g series*) dengan spesifikasi AMD A4-3305M APU with Radeon™ HD Graphics (1.90 GHz). Selanjutnya, program aplikasi yang digunakan yaitu Sistem Operasi Windows 7 32-bit, Paket Autodock Tools (ADT) yang terdiri dari Python 2.5.2 dan MGLTools 1.5.6 (*Scripps Research Institute*), UCSF Chimera 1.11.2, Autodock4.2, Open Babel, Pymol, Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>), dan PubChem (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>).

3.2.2 Bahan

3.2.2.1 Struktur Tiga Dimensi SUR (*Sulfonylurea Receptor*)

Struktur tiga dimensi SUR diunduh dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Makromolekul protein yang dipilih adalah SUR yang berikatan dengan glibenklamid hasil dari eksperimen dengan XRD dengan PDB ID yaitu 6baa dengan resolusi 3,36 Å.

3.2.2.2 Struktur Tiga Dimensi Ligan

Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah glibenklamid dan senyawa-senyawa aktif tanaman pare (*Momordica charantia* L.) yaitu *charantoside* (I, II, III, IV, V, VI dan VII) dan *charantoside* (A, B, dan C).

3.3 Cara Kerja

3.3.1 Redocking (Penambatan Ulang)

Redocking dilakukan dengan menambatkan ulang glibenklamid pada binding sitenya dan data hasil redocking digunakan sebagai acuan pada senyawa-senyawa Charantosides pada penelitian ini.

Proses awal dilakukan dengan preparasi glibenklamid menggunakan AutodockTools (ADT) yang meliputi penambahan muatan, penambahan atom hidrogen serta pengaturan torsi yang kemudian disimpan dalam bentuk file *pdbqt*. Selanjutnya dipreparasi makromolekul target yang merupakan reseptor sulfonilurea (SUR1) meliputi pemisahan dari ligan dan residu lain menggunakan program Chimera 1.11.2 yang kemudian dipreparasi menggunakan ADT meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan serta pengaturan *gridbox*. Untuk *gridbox* pada glibenklamid dipilih *center of ligand* untuk mengetahui posisi awal glibenklamid. setelah pengaturan *gridbox* disimpan SUR dalam bentuk file *pdbqt*.

Kemudian dilakukan *docking* menggunakan ADT meliputi proses pembuatan peta map oleh Autogrid yang dijalankan menggunakan *command prompt* dan *docking* hingga diperoleh file DLG (*docking log file*) yang berisi data-data hasil docking seperti nilai nilai ΔG_{bind} semua konformasi yang terbentuk yang dapat divisualisasikan untuk mengetahui bagaimana glibenklamid terikat pada SUR.

Hasil akhir redocking ini diambil data konformasi yang memiliki nilai ΔG_{bind} yang terendah dengan nilai RMSD $< 2\text{\AA}$ terhadap konformasi molekul acuan yaitu kompleks SUR-Glibenklamid data kristalografi. Data ini digunakan sebagai acuan untuk penambatan senyawa-senyawa aktif buah pare golongan *charantoside*. Selain itu, dilakukan analisis pose atau kesesuaian ruang pada kompleks yang terbentuk antara SUR dan glibenklamid. Untuk proses lengkap langkah-langkah *docking* dapat dilihat pada poin **3.3.2**.

3.3.2 Docking

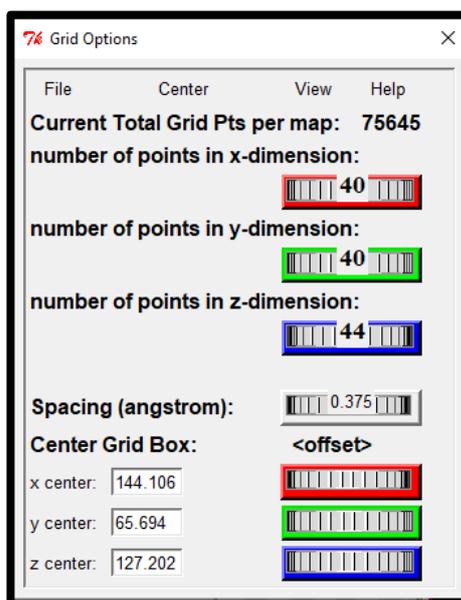
3.3.2.1 Preparasi Struktur SUR (*Sulfonylurea Receptor*)

Pengunduhan makromolekul SUR dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Data makromolekul diunduh dalam format .pdb. Makromolekul protein dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu non standar. Pemisahan makromolekul dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan dengan menggunakan program UCSF Chimera 1.11.2. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan untuk penambatan. Selanjutnya, dilakukan penambahan atom hidrogen pada molekul SUR. Kemudian, hasil preparasi molekul SUR disimpan dalam format .pdb untuk proses penambatan molekul.

Molekul SUR yang telah dipisahkan dari residu dipreparasi menggunakan AutodockTools (ADT). Preparasi tersebut meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan dan pengaturan *grid box parameter*. Hasil disimpan dalam format .pdbqt.

Molekul SUR yang telah dipreparasi, akan ditentukan *grid docking* untuk pembatasan area untuk ligan berikatan pada sisi aktif SUR. Pada penentuan *grid*

docking ini diperoleh file *gpf* untuk menyatakan lokasi SUR, ukuran dan jenis atom dalam menghitung peta grid. Autogrid yang terdapat dalam ADT mengambil parameter dari file *gpf* dan menghasilkan peta grid untuk digunakan Autodock. Pengaturan *grid box parameter* disesuaikan dengan tempat/situs aktif dari ikatan ligan sebelumnya (*glibenklamid*) seperti gambar dibawah ini



Gambar 3.1 Nilai *gridbox* *glibenklamid*

3.3.2.2 Preparasi Struktur Ligan

Ligan yang digunakan adalah *glibenklamid* sebagai pembanding dan senyawa-senyawa aktif buah pare yaitu *Charantoside* I, II, III, IV, V, VI, dan VII serta *Charantoside* A, B, C yang diunduh dari situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format *.sdf*. format ligan diubah menjadi *.pdb* dengan menggunakan Open Babel.

Struktur ligan yang telah dibuat dipreparasi dengan AADT yang meliputi penambahan muatan, penambahan atom hidrogen dan pengaturan torsi.

Pengaturan torsi bebas dipilih pada daerah ligan yang memiliki ruang gerak bebas pada kompleks reseptor-ligan yang diacu pada geometri kompleks SUR dan glibenklamid. Hasil preparasi tersebut disimpan dalam format .pdbqt. untuk proses penambatan molekul.

3.3.2.3 Penambatan Molekul dengan Autodock4

3.3.2.3.1 Pembentukan File GLG

Ligan dan protein yang telah tersimpan dalam format .pdbqt dicopy ke dalam satu folder. Begitu juga gpf file, dan juga file dari ADT yaitu Autogrid4.exe. Setelah itu dijalankan Autogrid4 melalui command prompt (cmd) dengan perintah sebagai berikut:

Autogrid4.exe -p rec.gpf -l rec.glg

Pada running ini terbentuk file .glg (file log grid) yang berisi ringkasan dari running Autogrid4.

3.3.2.3.2 Pembentukan File DPF

File ini dibuat untuk menjalankan docking karena berisi parameter-parameter yang digunakan untuk docking molekul. Dipilih SUR sebagai makromolekul target dan senyawa *charantosides* sebagai ligan. Pembentukan file dpf ini dilakukan pemilihan *genetic algorithm* sebagai algoritma docking. Output yang dihasilkan yaitu file dpf.

3.3.2.3.3 Pembentukan File DLG

Pembentukan file dlg dilakukan dengan menempatkan file dpf, ligan.pdbqt, SUR.pdbqt, dan Autodock4.exe dalam satu folder. Pengoperasian docking antara SUR dan senyawa *charantosides* dapat dilakukan ketika sudah terbentuk file glg. *Running* dilakukan melalui command prompt (cmd) dengan perintah sebagai berikut:

Autodock4.exe -p lig.dpf -l lig.dlg

Dari *running* Autodock4 diperoleh file dlg yang berisi hasil energi dari setiap konformasi yang terbentuk beserta informasi tentang nilai RMSD atas konformasi-konformasi yang terbentuk, nilai ΔG_{bind} serta peringkat dari konformasi yang terbentuk.

3.3.3 Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul

Hasil kalkulasi docking dapat dilihat pada *output* dalam format file dlg. Penentuan konformasi ligan hasil docking dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki kesamaan interaksi dengan referensi ligan seperti ikatan hidrogen, Van der Waals dan ionik. Kemudian dilihat bentuk 3D ligan tambat untuk mengetahui kesesuaian ruang dan pose ligan di dalam makromolekul protein. Tahap terakhir dilihat nilai energi yang terendah.

Analisis nilai energi terendah dilakukan pada tahap akhir dikarenakan nilai energi ikatan menjadi tidak bermakna jika ligan tambat tidak memiliki aktivitas biologis yang sama dengan ligan referensi karena yang diharapkan adalah ligan tambat memiliki interaksi yang sama dengan ligan referensi saat di dalam makromolekul protein.

Posisi dan orientasi ligan pada makromolekul SUR juga residu asam – asam amino yang berinteraksi dengan ligan divisualisasikan menggunakan perangkat lunak AutodockTools (ADT), Discovery Studio (DS) dan Pymol untuk melihat kecocokan bentuk dan volume antara ligan dan situs tambatnya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Struktur SUR (*Sulfonylurea Receptor*)

Tahap awal penambatan molekul dalam penelitian ini adalah preparasi struktur makromolekul protein. Fungsi preparasi struktur yaitu untuk memisahkan makromolekul yang diinginkan dari residu-residu yang lain. Preparasi struktur tersebut dimulai dengan mengunduh struktur pdb makromolekul dari situs web Protein Data Bank dengan alamat situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Makromolekul protein yang akan diunduh adalah protein K_{ATP} yang terdiri dari Kir6.x dan SUR (*Sulfonylurea Receptor*) dengan PDB ID yaitu 6baa. Makromolekul tersebut terikat dengan glibenklamid (GBC) dan ATP yang diperoleh dari metode *Cryo-EM* dengan resolusi 3,6Å.

Preparasi selanjutnya yaitu memisahkan protein sub unit SUR dari protein K_{ATP} dan ligan yang terikat menggunakan aplikasi UCSF Chimera 1.11.2. Proses pemisahan ini dilakukan untuk memisahkan salah satu unit SUR beserta dengan ligan glibenklamid dari Kir6.x yang akan digunakan sebagai makromolekul target untuk docking. Ligan glibenklamid yang masih terikat dengan SUR dipisahkan untuk mendapatkan molekul ligan utuh yang digunakan sebagai bahan *redocking* atau penambatan molekul kembali. Struktur hasil pemisahan disimpan dalam bentuk file pdb.

Makromolekul SUR yang telah dipisahkan dipreparasi menggunakan *AutodockTools* meliputi penghapusan molekul air. Preparasi ini dilakukan karena molekul air dapat mempengaruhi proses penambatan dikarenakan struktur

makromolekul protein yang menjadi semakin kompleks. Semakin kompleks suatu makromolekul protein maka semakin banyak perhitungan variabel docking yang perlu diselesaikan. Hal ini menyebabkan durasi proses penambatan akan berjalan semakin lama (Wong & Lightstone, 2011).

Makromolekul tersebut kemudian dioptimasi menggunakan Autodock Tools yang meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan dan pengaturan *grid*. Penambahan atom hidrogen bertujuan untuk menyesuaikan kondisi makromolekul protein saat *docking* layaknya di dalam sel. Proses ini dilakukan karena struktur makromolekul protein hasil eksperimen seperti sinar X dan mikroskop elektron berada dalam kondisi kehilangan atom hidrogen. Sehingga dengan adanya penambahan atom hidrogen dapat memaksimalkan proses penambatan molekul.

Tahap preparasi makromolekul terakhir yang dilakukan yaitu pengaturan *gridbox*. Pengaturan ini meliputi penentuan lokasi penambatan ligan yang akan ditambatkan pada makromolekul protein. Lokasi penambatan ligan merujuk pada hasil *redocking* atau penambatan ulang ligan yang sudah terikat pada makromolekul protein yaitu glibenklamid. Pengaturan grid box meliputi *x-center*, *y-center*, *z-center* untuk mengatur posisi box parameter pada makromolekul protein, kemudian *x-dimension*, *y-dimension*, *z-dimension* dan *spacing* (Angstrom) digunakan untuk menentukan ukuran *grid box* parameter serta jarak antara kotak-kotak grid untuk penambatan molekul. Hasil pengaturan yang diperoleh dari hasil *redocking* yaitu *x-center* = 144.106, *y-center* = 65.694, *z-center* = 127.202, *x-dimension* = 40, *y-dimension* = 40, *z-dimension* = 44 dan *spacing* (Angstrom) = 0.375.

Makromolekul yang telah dioptimasi menggunakan AutodockTools (ADT) disimpan dalam bentuk file .pdbqt. Format file ini menandakan bahwa masing-masing atom telah ditambahkan muatan gasteiger oleh ADT secara otomatis untuk menyesuaikan lingkungan *docking* sehingga dapat dilakukan kalkulasi variabel docking secara tepat (Huey, dkk, 2012).

4.2 Preparasi Struktur Ligan

Struktur 3D ligan yang digunakan dalam proses penambatan molekul ini diunduh dari situs web <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam format .sdf. Ligan-ligan yang didownload dari situs PubChem merupakan senyawa aktif buah pare golongan *Charantosides* yaitu A, B, C dan (I, II, III, IV, V, VI, VII) serta glibenklamid sebagai senyawa pembanding hasil penambatan molekul senyawa *Charantosides*. Tahap selanjutnya format-format ligan diubah dari .sdf menjadi .pdb menggunakan aplikasi Open Babel sehingga dapat dibaca oleh AutodockTools (ADT) dan dapat dilakukan optimasi sebelum penambatan pada makromolekul protein.

Tabel 4.1 Daftar ligan yang ditambatkan pada makromolekul (Pubchem)

Ligan	Compound ID
Glibenklamid	3488
A	46210163
B	46210303
C	71717666
I	23626009
II	23626168
III	23626169
IV	23626170
V	23626171
VI	23626323
VII	23626324

Proses penyiapan ligan selanjutnya adalah optimasi ligan yang dilakukan menggunakan AutodockTools. Pengoptimasian meliputi penambahan muatan *gasteiger*, penambahan atom hidrogen dan pengaturan torsi. Proses penambahan muatan *gasteiger* ini akan terjadi secara otomatis ketika ligan dibuka menggunakan Autodock. Penambahan muatan *gasteiger* secara otomatis terjadi karena *scoring function* yang digunakan Autodock4 menyesuaikan dengan muatan yang ditambahkan pada ligan dan makromolekul (Morris et al., 2012). Sama halnya dengan penambahan atom hidrogen saat penyiapan makromolekul, penambahan ini berfungsi untuk menyesuaikan ligan di dalam makromolekul saat proses *docking*.

Optimasi selanjutnya yaitu pengaturan torsi yang merupakan penentuan torsi aktif ligan. Pengaturan ini dilakukan untuk menentukan ikatan-ikatan aktif ligan yang dapat diputar saat proses *docking* berlangsung. Pada aplikasi Autodock hanya ikatan-ikatan tunggal / sigma yang tidak dalam siklus saja yang dapat diputar atau memiliki torsi aktif (Huey et al., 2012).

Tabel 4.2 Data torsi aktif ligan *docking*

Ligan	Torsi Aktif
Glibenklamid	8
A	14
B	14
C	7
I	12
II	13
Charantoside	III
IV	11
V	11
VI	12
VII	13
	11

Pada penelitian ini penentuan torsi aktif dilakukan mengikuti perhitungan yang dilakukan Autodock Tools yang memiliki range 8-14 yang merupakan angka standar yang biasa digunakan dalam pengaturan torsi aktif sedangkan limit maksimum pengaturan torsi yaitu 32. Data torsi aktif dari senyawa golongan *Charantosides* dan glibenklamid dapat dilihat pada tabel 4.2. Ligan yang telah dioptimasi kemudian disimpan dalam format file pdbqt.

4.3 Penambatan Molekul dengan Autodock4

4.3.1 Pembentukan File GLG

File glg akan terbentuk setelah dilakukan running file gpf yang diperoleh saat pengaturan *grid* pada makromolekul protein. Sebelum dilakukan pembentukan file ini, file-file pdbqt sampel, file gpf dan file aplikasi dari ADT yaitu Autogrid4.exe dimasukkan dalam folder menjadi satu. File ini dijalankan melalui cmd atau aplikasi *command prompt* pada Windows dengan perintah sebagai berikut.

Autogri4.exe -p lig.gpf -l lig.glg

Running perintah ini berjalan cukup cepat yang berlangsung sekitar 3-5 menit. File glg yang terbentuk berisi persamaan *scoring function* untuk tipe-tipe atom yang ada di ligan dan *gridbox* yang dibuat. Persamaan *scoring function* tersebut akan digunakan untuk menghitung energi saat proses *docking* (pembentukan file dlj). Selain file tersebut, *Autogrid* membuat 2 file dengan ekstensi fld dan xyz. File fld atau *field file* berisi ringkasan dari peta *grid* yang sesuai dengan Autodock. Sedangkan file xyz merupakan file yang berisi batasan maksimal dan minimal *grid box* di masing-masing dimensi x, y dan z. (Morris *et al*, 2012).

4.3.2 Pembentukan File DPF

File dpf (*docking parameter file*) merupakan file yang berisi parameter-parameter yang digunakan untuk perhitungan di Autodock yang meliputi file map/peta untuk *docking*, koordinat ligan dan beberapa parameter pencarian untuk konformasi-konformasi ligan. Tahapan pembentukan file dpf ini meliputi pemilihan makromolekul yang dikondisikan *rigid*/tetap sehingga ligan yang ditambahkan dapat bergerak secara fleksibel pada sisi aktif makromolekul yang sudah ditentukan.

Tahapan selanjutnya yaitu pemilihan algoritma docking. Algoritma yang digunakan merupakan *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) merupakan salah satu algoritma docking yang digunakan Autodock. LGA memiliki kode perintah '*set_pswl*' yang menginstruksikan Autodock untuk menggunakan pencarian lokal pseudo-Solis and Wets. Metode ini menggunakan variasi seragam untuk perubahan orientasi, torsi dan translansi. Pada file ini terdapat pula kode perintah '*analysis*' yang akan melakukan analisis pada kluster dari hasil *docking* dan menuliskan hasil pada file log *docking* (Huey, dkk, 2012; Morris, dkk, 2012).

4.3.3 Pembentukan File DLG

Tahap pembentukan file dlq merupakan tahap *docking* menggunakan Autodock4.2. tahapan pertama yang dilakukan yaitu memasukkan file ligan dan makromolekul protein yang berformat pdbqt, file glg, serta file dpf kedalam satu folder docking. Proses *docking* dengan Autodock4 dapat dijalankan melalui perintah *command prompt* yang masuk ke dalam folder *docking* dan kemudian dijalankan dengan perintah sebagai berikut.

Autodock4.exe -p lig.dpf -l lig.dlg

Proses docking berlangsung selama 1-2 jam pada sekali *running* file *docking*. Durasi yang digunakan selama proses *docking* ini dipengaruhi oleh jumlah konformasi ligan docking yang diinginkan saat pemilihan parameter *docking*, yaitu pada penelitian ini 100 buah konformasi ligan docking yang terbentuk. Permintaan 100 buah konformasi ligan ini dilakukan untuk mendapatkan hasil *docking* yang lebih spesifik sehingga dapat memilih hasil penambatan terbaik dengan nilai ikatan terendah. Selain jumlah konformasi ligan, spesifikasi komputer/laptop juga dapat mempengaruhi lamanya proses *docking* berjalan. Semakin tinggi spesifikasi suatu komputer maka semakin cepat keberlangsungan proses *docking*.

Hasil yang terbentuk setelah proses *docking* selesai yaitu file 'dlg' atau '*docking log file*' yang merupakan rangkuman data struktur konformasi ligan hasil docking, hasil perhitungan nilai-nilai afinitas ikatan antara ligan dan makromolekul protein serta nilai *Root Mean Square Derivation* (RMSD) dari masing-masing konformasi yang terbentuk. File dlg ini dapat dibuka menggunakan AutodockTools (ADT), Pymol dan Discovery Studio untuk melihat posisi dan kesesuaian bentuk ligan di dalam makromolekul serta macam-macam residu / asam amino makromolekul yang berinteraksi dengan ligan.

4.4 Analisis dan Visualisasi Hasil *Docking*

Analisis dan visualisasi hasil dari proses penambatan yang dilakukan pada penelitian ini meliputi nilai ΔG_{bind} , data RMSD masing-masing konformasi ligan, analisis posisi dan orientasi ligan di dalam makromolekul protein serta residu makromolekul protein yang berinteraksi dengan ligan tambat.

Data konformasi masing-masing ligan *docking* diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} dari nilai terendah hingga tertinggi. Data hasil docking tersebut menunjukkan kestabilan konformasi yang terbentuk ketika ligan berikatan dengan makromolekul. Konformasi dengan nilai ΔG_{bind} rendah menunjukkan bahwa konformasi tersebut stabil saat berikatan dengan sisi aktif makromolekul sedangkan ΔG_{bind} dengan nilai tinggi menunjukkan konformasi tersebut yang kurang stabil saat berikatan dengan makromolekul. Data nilai ΔG_{bind} dari masing-masing ligan dan residu-residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan dapat dilihat pada **Tabel 4.3**

Data hasil docking menunjukkan nilai ΔG_{bind} senyawa aktif pare golongan charantosides memiliki rentang -8,25 kkal/mol hingga -10,19 kkal/mol. Berdasarkan data tersebut Charantoside III memiliki nilai energi ikatan terbaik dibandingkan dengan nilai energi ikatan Charantoside yang lainnya. Bila dibandingkan dengan hasil glibenklamid redocking yang memiliki nilai energi ikatan -9.44 kkal/mol, senyawa-senyawa aktif Charantosides ini memiliki nilai-nilai energi ikatan yang mendekati nilai energi tersebut. Data-data tersebut mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa aktif Charantoside ini memiliki potensi sebagai obat antidiabetes.

Tabel 4.3 Data nilai ΔG_{bind} dan residu protein SUR1 yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan pada discovery studio (DS)

Nama Ligan	ΔG_{bind} (kcal/mol)	Residu			
		Hydrogen Bond	Van der Waals	Non-covalent interactions	Unfavorable Donor-Donor
Glibenklamid Redocking	-9,44	Arg306, Tyr377, Asn437, Thr1242, Asn1245 Arg1246	Ile381, Met441 Trp430, Leu434 Thr588, Phe433 Leu1241, Ser1238 Arg1300	Met441 Leu592	-
Charantosome A	-8,75	Try377, Asn437, Ser1238, Thr1242, Arg1300	Arg306, Ile385 Ile381, Met429 Trp430, Leu434 Thr588, Thr592 Leu1239, Asn1245 Arg1246, Trp1297 Trp430, Leu434 Thr588, Leu592	Phe433 Leu1241	-
Charantosome B	-9,74	Tyr377, Ser1238 Arg1246	Leu1241, Asn1245 Glu1249, Asn1293 Asn1296, Arg1300 Ala380, Ile381 Trp430, Leu434, Pro436,	Ile381, Ile385 Met429, Phe433	Thr1242 Trp1297
Charantosome C	-9,34	Arg306 Phe433, Thr1242, Arg1300	Asn426, Met429, Leu592, Ser1238, Asn1245, Arg1246 Ile381, Asn426 Met429, Phe433 Thr588, Phe591 Leu592, Gln1190 Ser1238, Leu1241 Thr1242, Asn1245 Arg1246 Leu434, Asn437	Tyr377 Leu1241	-
Charantosome I	-9,03	Tyr377 Arg1300	Trp430, Leu588, Leu592, Ser1238 Asn1245, Arg1246 Trp1297, Arg1300	Trp430	-
Charantosome II	-8,25	Arg306, Tyr377 Phe433	Trp430, Leu588, Leu592, Ser1238 Leu1241, Thr1242 Asn1245, Arg1246 Trp1297, Arg1300	Ile381 Ile385 Met429	-
Charantosome III	-10,19	Arg1246, Thr1242 Glu1249, Arg1300	Ile381, Gln374, Asn426, Phe433, Gln1190, Leu1241 Thr1242, Asn1296	Tyr377 Trp430	Trp1297
Charantosome IV	-10,09	Arg1246, Glu1246 Arg1300	Ile381, Gln374, Asn426 Asp1193, Leu1241 Thr1242, Asn1245	Tyr377 Trp430	Trp1297
Charantosome VI	-9,61	Arg1246, Glu1249 Arg1300	Ile381, Gln374, Asn426, Phe433, Gln1190, Asp1193 Ser1238, Thr1242, Asn1245 Leu1241, Asn1296	Tyr377 Trp430	Trp1297
Charantosome VII	-9,54	Arg1246, Glu1249 Arg1300	Ile381, Gln374 Phe433, Gln1190 Leu1241, Thr1242 Asn1245, Asn1296	Tyr377 Trp430	Trp1297

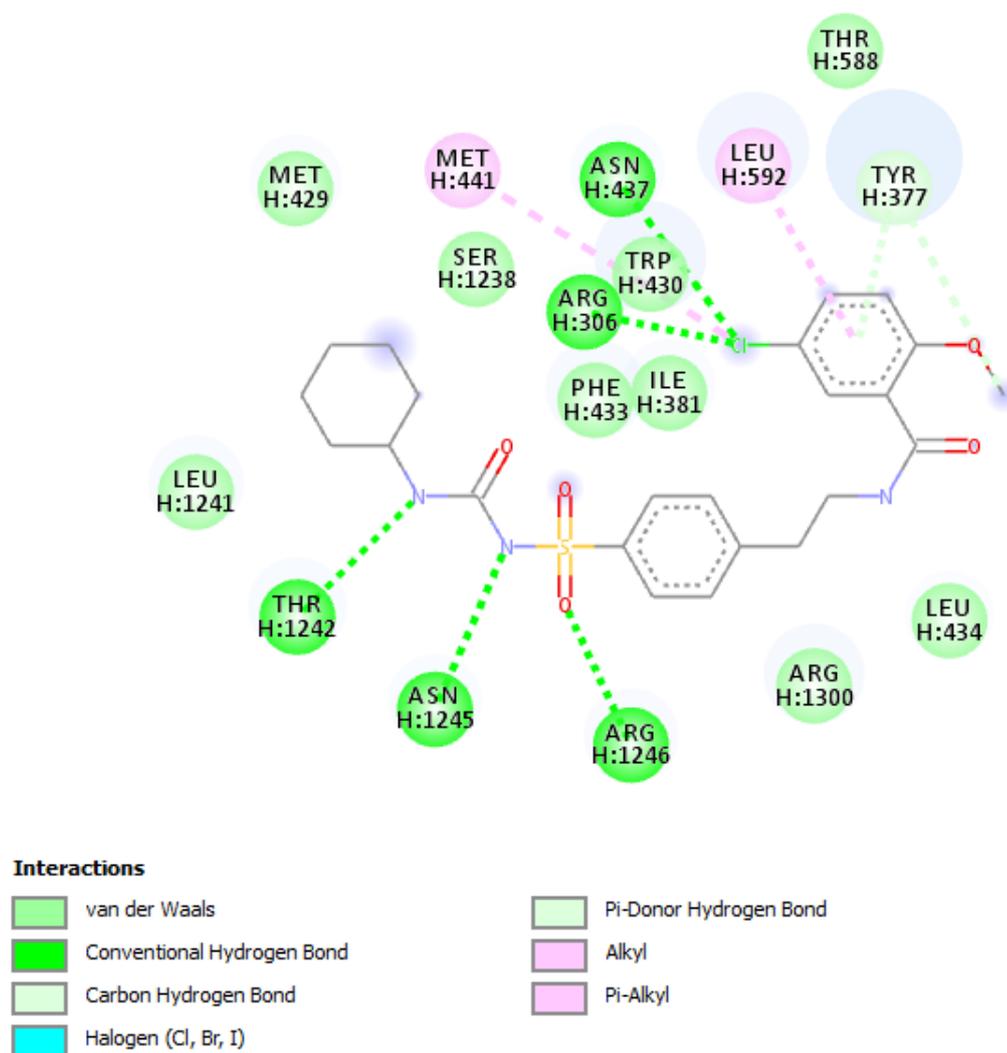
Ligan-ligan yang ditambahkan yaitu glibenklamid dan 10 senyawa aktif buah pare masing-masing akan menghasilkan 100 konformasi yang terbagi menjadi beberapa cluster yang diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} terendah dengan nilai RMSD yang terkecil.

RMSD (*Root Mean Square Derivation*) merupakan suatu nilai yang digunakan untuk mengetahui keberhasilan prediksi ikatan antara ligan dengan protein target. Nilai RMSD dikatakan baik jika memiliki nilai $\leq 2 \text{ \AA}$. Jika suatu ligan memiliki hasil *docking* dengan nilai RMSD lebih dari 2 \AA maka semakin besar pula kesalahan prediksi interaksi antara ligan tersebut dengan protein targetnya (Brooijmans, 2009).

Nilai RMSD dari hasil *redocking* glibenklamid digunakan untuk mengetahui keberhasilan glibenklamid *redocking* menempati posisi sebagaimana keadaan terikat di awal dengan reseptor sulfonilurea. Nilai RMSD *redocking* diperoleh sebesar $1,47 \text{ \AA}$. Nilai tersebut menyatakan bahwa glibenklamid *redocking* berhasil terikat kembali pada sisi aktif reseptor sulfonilurea. Sedangkan untuk nilai RMSD dari senyawa-senyawa aktif Pare memiliki nilai antara $193,00 \text{ \AA}$ hingga $199,00 \text{ \AA}$. Nilai tersebut terlampaui jauh dari 2 \AA karena posisi awal ligan senyawa aktif pare sangat jauh dari sisi aktif protein SUR. Hal tersebut terjadi karena tidak dilakukan pengaturan *setting RMS reference* saat pengaturan *docking* yang mengacu pada glibenklamid yang sudah tertambat pada SUR.

Parameter lain dalam analisis visualisasi hasil docking merupakan interaksi ligan dengan makromolekul protein dan posisi ligan. Visualisasi ini menggunakan program Discovery Studio untuk melihat interaksi-interaksi yang terjadi antara

ligan dengan makromolekul protein sedangkan untuk melihat kecocokan bentuk dan posisi ligan dalam makromolekul protein digunakan program Pymol. Visualisasi interaksi hasil *redocking* glibenklamid dan kecocokan bentuk ligan dapat dilihat pada **Gambar 4.1** sedangkan untuk visualisasi interaksi masing-masing ligan charantosides dapat dilihat pada **Lampiran 4**.



Gambar 4.1 Visualisasi interaksi glibenklamid *redocking*

Gambar 4.1 merupakan visualisasi interaksi dari redocking glibenklamid. Redocking merupakan proses penambatan kembali senyawa ligan atau dalam penelitian ini merupakan glibenklamid yang telah terikat pada sisi aktif protein SUR. Nilai ΔG_{bind} yang diperoleh dari menambatkan kembali glibenklamid pada SUR1 yaitu -9,44 kkal/mol. Visualisasi dilakukan menggunakan program Discovery Studio. Berdasarkan gambar tersebut dan data pada **Tabel 4.3** diketahui glibenklamid redocking berinteraksi dengan asam amino ARG306, TYR377, PHE433, ASN437, SER1238, THR1242, ASN1245, dan ARG1246.

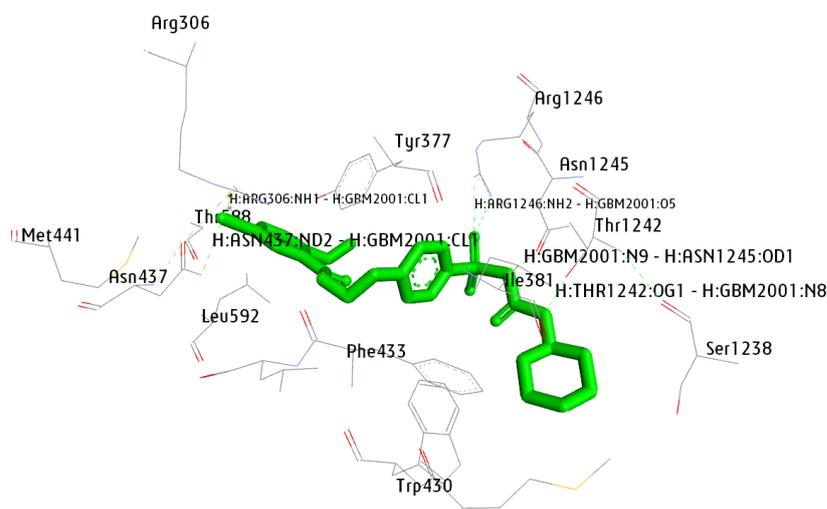
Daftar residu interaksi tersebut dipilih berdasarkan interaksi glibenklamid awal dengan residu SUR1 hasil eksperimen yang dapat dilihat pada **Tabel 4.4**. Residu ARG306, ASN437, THR1242, ASN1245, dan ARG1246 terdeteksi membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan glibenklamid. Residu TYR377 membentuk ikatan hidrogen pi-donor. Residu PHE433, SER1238, dan ARG1300 membentuk interaksi Van der Waals disekitar glibenklamid.

Tabel 4.4 Data residu reseptor sulfonilurea yang berinteraksi dengan glibenklamid (Martin et al., 2017)

Makromolekul	Jenis Residu
SUR1	Arg306
	Tyr377
	Asn437
	Thr1242
	Asn1245
	Arg1246
	Arg1300

Berdasarkan **Gambar 4.1** diketahui gugus samping NH₂ residu ARG306 dan ASN437 membentuk ikatan hidrogen sebagai donor dengan gugus klorin pada

grup benzamido glibenklamid. Gugus samping OG1 residu THR1242 dan gugus samping OD1 residu ASN1245 membentuk ikatan hidrogen dengan nitrogen pada bagian urea glibenklamid. Sedangkan gugus samping NH2 residu ARG1246 membentuk ikatan hidrogen dengan oksigen pada grup sulfonil glibenklamid. Residu TYR377 yang memiliki gugus samping OH membentuk ikatan hidrogen dengan gugus metoksi interaksi pi-donor pada grup benzamido glibenklamid. Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan oleh Martin et al. (2017) bahwa TYR377 berkontribusi dalam interaksi tumpang tindih π - π dengan cincin benzena grup benzamido pada glibenklamid. Penjelasan interaksi yang terjadi antara gugus samping residu reseptor sulfonilurea dengan glibenklamid dapat dilihat pada **Gambar 4.2**



Gambar 4.2 Visualisasi 3D interaksi glibenklamid redocking dengan residu-residu reseptor sulfonilurea

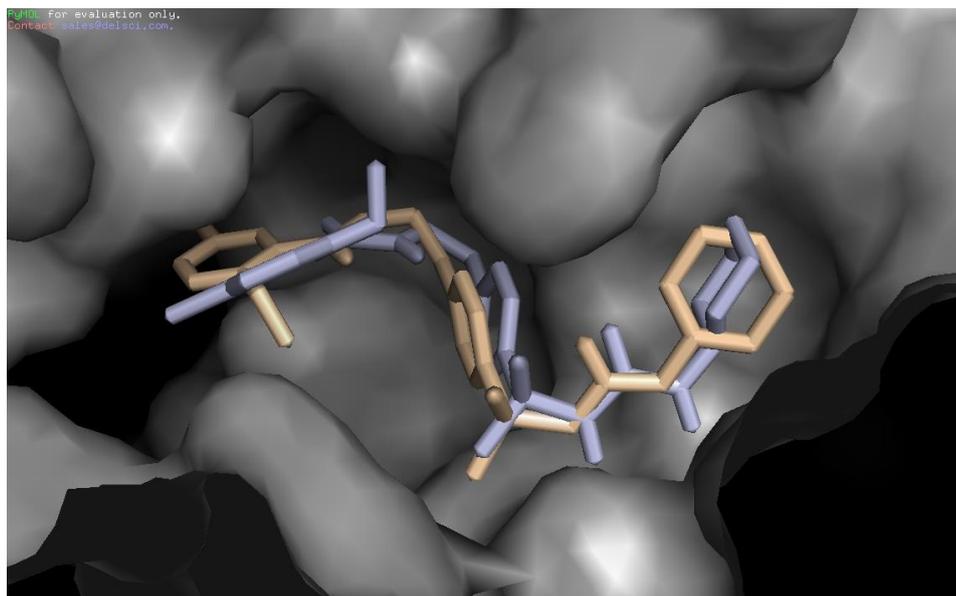
Interaksi ligan kecil-protein yang terjadi di antara senyawa organik dan protein dikoordinasi oleh ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, dan ikatan

kovalen. Ikatan hidrogen dalam kompleks tersebut diketahui sebanyak 66% dari 67% terbentuk antara NH-grup residu protein dengan atom oksigen dari ligan (Chen dan Kurgan, 2009). Dalam penelitian ini ditunjukkan oleh interaksi yang terjadi antara gugus samping NH₂ residu ARG1246 dengan atom oksigen milik glibenklamid.

Residu-residu yang berinteraksi dengan glibenklamid *redocking* bila dilihat berdasarkan urutan asam amino reseptor sulfonilurea dapat diketahui kelompok transmembran dari protein tersebut. Residu ARG1246 termasuk dalam transmembran (TM) 16, residu ARG306 termasuk dalam TM6, residu ASN437 termasuk dalam TM7, residu ASN1245 dan Residu THR1242 termasuk dalam TM16 sedangkan residu PHE433 termasuk dalam TM8. Data yang dihasilkan sesuai dengan teori yang dinyatakan oleh Muller (2000) bahwa glibenklamid diprediksikan akan terikat pada TM 12-17 untuk gugus sulfonilurea sedangkan gugus benzamido diprediksikan terikat pada TM 1-5.

Martin, dkk (2017) juga menyatakan bahwa glibenklamid diprediksikan akan terikat pada *transmembrane domain* (TMD1) yaitu pada transmembran (TM) 6, 7 dan 8 dan pada TMD2 yaitu pada TM16. Pernyataan tersebut semakin mendukung hasil penelitian bahwa glibenklamid berhasil untuk ditambatkan kembali pada *binding* site glibenklamid. Data yang mendukung keberhasilan penambatan kembali glibenklamid yaitu nilai RMSD *redocking* dengan nilai 1,47Å yang dapat dikatakan *redocking* ini cukup berhasil karena semakin kecil nilai RMSD maka dapat dikatakan semakin kecil penyimpangan posisi ligan tambat berdasarkan ligan pembandingnya.

Analisis visualisasi selanjutnya adalah membandingkan posisi glibenklamid alam dengan glibenklamid hasil *redocking*. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana posisi antara kedua glibenklamid tersebut saat berada dalam reseptor sulfonilurea. Gambar visualisasi perbandingan kedua glibenklamid tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Perbandingan posisi antara glibenklamid alam (putih pucat dan glibenklamid *redocking* (biru)

Berdasarkan **Gambar 4.3** dapat diketahui bahwa hasil glibenklamid *redocking* dengan glibenklamid alam tidak berbeda jauh. Namun seperti yang terlihat pada gambar terdapat perbedaan posisi pada titik-titik tertentu yaitu perbedaan posisi pada sisi grup sulfonilurea glibenklamid antara *redocking* dan alam. Perbedaan ini dapat terjadi karena saat proses *docking* ligan diatur dapat bergerak bebas sesuai torsinya sehingga diperoleh posisi ligan yang bervariasi. Namun dengan adanya perbandingan ini dapat diketahui bahwa glibenklamid berhasil dilakukan penambatan kembali pada SUR1.

Pembahasan selanjutnya yaitu visualisasi dari masing-masing senyawa-senyawa charantoside yang ditambatkan pada situs aktif glibenklamid pada reseptor sulfonilurea (SUR1). Penambatan ini mengacu pada *binding site* glibenklamid yang diharapkan senyawa-senyawa charantosides ini diprediksikan memiliki interaksi yang sama dengan glibenklamid dan dapat bekerja seperti glibenklamid saat berinteraksi dengan SUR1. Visualisasi interaksi masing-masing ligan charantoside dapat dilihat pada **Lampiran 6**.

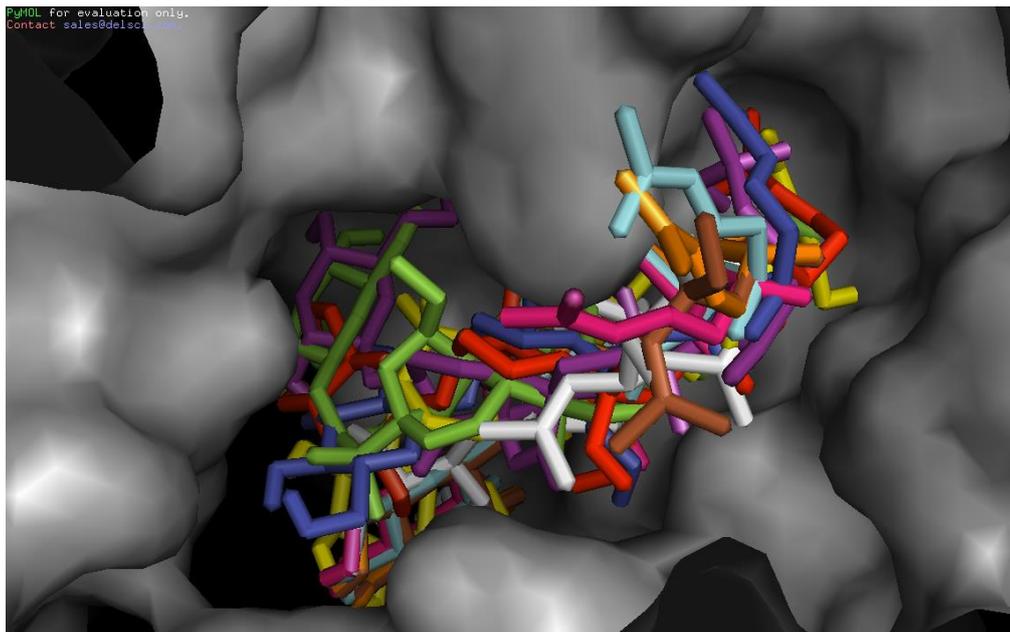
Pembahasan pertama yaitu interaksi residu-residu SUR1 dengan senyawa Charantosides. Data residu-residu pada **Tabel 4.3** menunjukkan residu ARG1246, TYR377, THR1242, dan ARG1300 mendominasi interaksi ikatan dengan seluruh senyawa Charantosides dengan membentuk interaksi ikatan hidrogen, ikatan non-kovalen maupun interaksi van der Waals. Sedangkan senyawa yang memiliki interaksi yang sama seperti glibenklamid redocking ada tiga yaitu Charantoside A yang berinteraksi dengan residu TYR377, ASN437 dan THR1242. Charantoside C berinteraksi dengan residu ARG306, TYR377 dan THR1242. Charantoside III berinteraksi dengan residu TYR377, THR1242 dan ARG1246.

Residu-residu tersebut terdeteksi sebagai interaksi ikatan hidrogen dengan senyawa Charantoside A, C dan III. Residu ARG306 yang memiliki gugus samping NH₂ bertindak sebagai donor ikatan dan atom O senyawa Charantosides bertindak sebagai aseptor ikatan. Residu ASN437 dengan gugus samping OH sebagai aseptor ikatan dan atom O senyawa Charantoside sebagai donor ikatan. Residu TYR377 dengan gugus samping OH sebagai donor ikatan dan atom H dari senyawa Charantoside sebagai aseptor ikatan. Residu THR1242 dengan gugus samping OH sebagai donor dan atom H senyawa Charantoside sebagai aseptor

ikatan. Sedangkan untuk residu ARG1246 dengan gugus samping NH₂ sebagai donor dan atom O dari senyawa Charantoside sebagai aseptor. Pengecualian untuk interaksi dari residu THR1242 dengan Charantoside C bahwa ikatan ini terdeteksi sebagai interaksi ikatan karbon-hidrogen yang merupakan termasuk dalam ikatan kovalen.

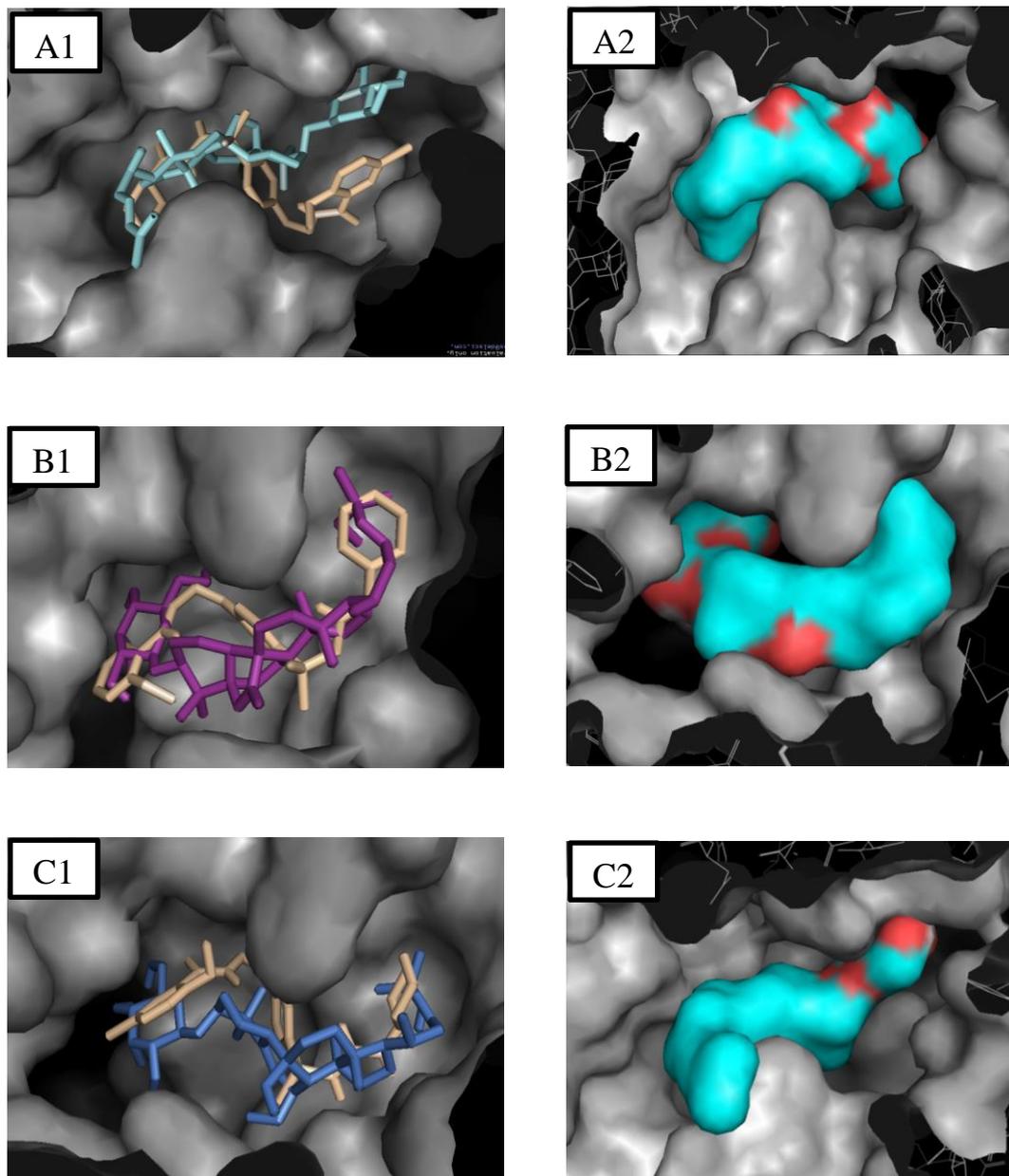
Hasil analisis berdasarkan interaksi ligan dengan residu protein dapat disimpulkan bahwa Charantoside A, Charantoside C dan Charantoside III merupakan senyawa yang dapat dikandidatkan dapat bekerja seperti glibenklamid. Dalam hal ini bukan berarti senyawa-senyawa Charantoside lain tidak dapat menjadi kandidat, karena jika dilihat dari nilai ΔG_{bind} dan residu-residu selain ARG1246, TYR377, THR1242, dan ARG1300 senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi dan dapat tertambat dengan baik dalam binding site glibenklamid sehingga dapat membentuk interaksi-interaksi dengan residu tersebut.

Pembahasan selanjutnya yaitu tentang posisi dan kesesuaian bentuk ligan dalam situs tambat reseptor. **Gambar 4.4** merupakan visualisasi posisi ligan senyawa-senyawa Charantoside pada *binding pocket* glibenklamid dalam makromolekul SUR1. Kunci kesesuaian bentuk dalam docking merupakan permukaan molekul atau permukaan suatu kompleks. Permukaan reseptor dideskripsikan sebagai permukaan pelarut sedangkan permukaan ligan dideskripsikan sebagai pencocok permukaan reseptor tersebut. Kesesuaian antara keduanya sama dengan deskripsi dari kesesuaian bentuk dan volume yang dapat membantu menemukan pose terbaik dari ligan dan protein targetnya (Mukesh & Rakesh, 2011).



Gambar 4.4 Visualisasi posisi charantoside A,B,C dan I-VII (warna berurutan: kuning, ungu, merah, biru, hijau, biru-kehijauan, jingga, putih, coklat, merah muda)

Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang pada SUR1 dilakukan menggunakan program Pymol. Pada analisis posisi dan kesesuaian ruang dilakukan dengan membandingkan senyawa ligan Charantoside yang memiliki interaksi yang dominan sama dengan glibenklamid redocking yaitu Charantoside A, C, dan III yang dapat dilihat pada **Gambar 4.5**.



Gambar 4.5 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan charantoside; (1) perbandingan posisi ligan charantoside dengan glibenklamid redocking; (2) kesesuaian ruang senyawa charantoside; (A) charantoside A; (B) charantoside C; (C) charantoside III

Berdasarkan **Gambar 4.5** dapat dilihat bahwa dari tiga senyawa Charantoside tersebut Charantoside III memiliki posisi yang mirip dengan glibenklamid sedangkan untuk pengamatan kesesuaian ruang, Charantoside C terlihat menyesuaikan permukaannya dengan permukaan SUR1 dengan baik, sehingga

memenuhi ruang binding site yang membuat volume atau kapasitas ruang yang diikat oleh Charantoside C terlihat penuh jika dibandingkan dengan senyawa Charantosides lainnya yang terlihat masih memiliki ruang kosong disekitar daerah tambatnya.

Analisis akhir dari data hasil docking yaitu berdasarkan nilai ikatan (*binding affinity*) antara ligan dan makromolekul. **Tabel 4.3** menunjukkan residu-residu makromolekul protein yang berinteraksi dengan ligan. Pada tabel tersebut diketahui residu ARG atau Arginin merupakan residu protein yang berkontribusi besar dalam interaksi dengan makromolekul SUR1 dalam penelitian ini. Hal ini dikarenakan Arginin termasuk dalam residu jenis ionik yang memberikan kontribusi terbesar dalam penentuan nilai ΔG_{bind} . Selain arginin, residu-residu asam amino yang lain yang dapat berinteraksi dengan membentuk interaksi adalah asam glutamat (GLU), asam aspartat (ASP), lisin (LYS) dan histidin (HIS). Interaksi ionik merupakan interaksi terkuat diantara interaksi intermolekul yang lain (Patrick, 2012).

Berdasarkan teori tersebut diketahui Charantoside III dan Charantoside IV memiliki nilai ΔG_{bind} yang terbaik dibandingkan dengan senyawa-senyawa Charantoside lainnya karena baik Charantoside III dengan nilai ΔG_{bind} -10,19 kkal/mol maupun Charantoside IV dengan nilai ΔG_{bind} -10,09 kkal/mol terdeteksi berinteraksi dengan tiga residu ionik. Sehingga dapat dikatakan residu ionik ini sangat mempengaruhi nilai ΔG_{bind} yang dihasilkan. Namun bila dibandingkan dengan nilai ΔG_{bind} glibenklamid redocking, senyawa Charantoside yang mendekati nilai tersebut yaitu Charantoside C dengan nilai ΔG_{bind} -9,34 kkal/mol dan Charantoside VII dengan nilai ΔG_{bind} -9,54 kkal/mol. Sehingga bila ditinjau

berdasarkan nilai ΔG_{bind} , seluruh senyawa Charantoside dapat dikandidatkan sebagai antidiabetes karena besaran energi interaksi dalam interaksi intermolekuler yaitu diatas -7 kkal/mol hingga -30 kkal/mol.

Warna-warna pada gambar hasil visualisasi mewakili atom-atom tertentu baik pada ligan maupun residu protein. Warna-warna tersebut dapat diatur melalui program Pymol maupun ADT. Definisi warna-warna pada atom-atom tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4.5**.

Tabel 4.5 Definisi warna pada hasil visualisasi autodocktools (ADT) dan pymol

Nama Atom	Warna	
	AutodockTools	Pymol
Karbon	Hijau Tua (Aromatik)	Biru Muda
	Abu-abu (Alifatik)	
Hidrogen	Putih	Putih
Nitrogen	Biru	Biru Tua
Oksigen	Merah	Merah
Sulfur	Kuning	Kuning
Klorin	Hijau Muda	Hijau Muda

Tahapan akhir visualisasi yaitu diidentifikasi apakah masih ada ruang kosong yang belum terisi oleh ligan. Ketika sudah teridentifikasi ruang kosong tersebut, dimungkinkan untuk melakukan modifikasi ligan dengan menambahkan substituen ataupun gugus fungsi yang dapat mengisi ruang kosong tersebut. Adanya penambahan substituen yang cocok dan sesuai dengan ruang kosong tersebut diperkirakan dapat menambah keefektifan ligan sebagai obat. Selain itu

dengan adanya data-data residu yang berinteraksi dengan ligan dapat memberikan gambaran untuk menentukan substituen-substituen yang dapat ditambahkan dengan tepat kepada ligan sehingga menghasilkan interaksi yang lebih baik (Patrick, 2013).

Modifikasi struktur ligan juga dapat dilakukan dengan mengganti bagian kurang penting ligan dan tetap mempertahankan gugus fungsi (farmakofor) ligan. Modifikasi ini dilakukan di posisi yang jauh dari gugus farmakofor. Bila modifikasi dilakukan pada gugus farmakofor akan menurunkan aktivitas ligan sebagai obat dikarekan ikatan yang terlibat dengan proses interaksi ligan-reseptor hilang (Siswandono, 2016).

Tujuan perancangan obat adalah menemukan kandidat obat baru yang diharapkan memiliki aktivitas yang lebih baik, lebih ekonomis, memiliki efek samping yang minimal, bekerja selektif, dan memiliki masa kerja yang lebih lama. Menemukan suatu senyawa yang memiliki aktifitas seperti obat, belum tentu senyawa tersebut dapat bekerja seperti obat tersebut ataupun dapat diberikan secara oral. Dalam proses penemuan obat yang layak beredar di masyarakat diperlukan proses panjang meliputi skrining, rancangan menggunakan komputer, permodelan molekul, pengembangan senyawa obat, formulasi dan menjadi obat (Klebe, 2013).

Docking atau penambatan molekul digunakan untuk memprediksikan interaksi ligan dengan reseptor target melalui nilai afinitas kompleks ligan-reseptor. Nilai afinitas yang diperoleh dari hasil docking tidak dapat langsung diartikan bahwa senyawa ligan dapat bekerja aktif dalam reseptor. Validasi lanjut perlu dilakukan baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terhadap data-data yang

dipeoleh dari proses docking. Meskipun demikian, docking memiliki peran penting untuk langkah awal poses perancangan obat baru terutama dalam permodelan molekul. Sehingga docking dapat meminimalkan faktor *trial and error*, lebih ekonomis dan lebih menghemat waktu. Dengan adanya metode docking untuk perancangan obat ini mendorong perkembangan teknologi dan ilmu pengetahuan tentang studi interaksi ligan dengan reseptor sehingga peran docking akan semakin meningkat dalam proses penemuan obat baru (Siswandono, 2016).

Ayat Al-Qur'an yang menggambarkan perumpamaan metode *docking* yang digunakan pada penelitian ini yaitu QS. Yasin (36) ayat 36:

سُبْحٰنَ الَّذِيْ خَلَقَ الْاَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُوْنَ ۝۳۶

Artinya: “Maha Suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui”

Berdasarkan ayat tersebut, kata (الْأَزْوَاجُ) atau *al-ajwaj* memiliki arti berpasangan-pasangan yang dalam penelitian ini digambarkan ketika melakukan proses *docking* terjadi proses mencari posisi ataupun letak yang cocok untuk ligan saat berikatan dengan sebuah makromolekul protein. Selanjutnya kata (مِمَّا تُنْبِتُ الْاَرْضُ) atau *mimma tumbitul ardhi* memiliki arti ‘dari apa yang ditumbuhkan di bumi’ yang dalam penelitian ini dicontohkan dengan senyawa-senyawa aktif yang diperoleh dari buah Pare yang diteliti dan diketahui memiliki aktivitas biologi sebagai antidiabetes. Selanjutnya yaitu kata (وَمِنْ اَنْفُسِهِمْ) atau *wamin anfusihim* yang artinya ‘dari diri mereka sendiri’ yang dalam penelitian ini menggambarkan pemilihan reseptor sulfonilurea yang ada di dalam sel beta pankreas dan kata (وَمِمَّا)

(لَا يَعْلَمُونَ) atau *wamimmaa laa ya'lamuun* yang memiliki arti 'dari apa yang mereka tidak ketahui' yang mana proses yang terjadi di dalam sel beta pankreas tidak dapat diketahui secara langsung oleh manusia. Berdasarkan ayat tersebut diketahui betapa besarnya kuasa Allah SWT yang dapat memasang-pasangkan segala sesuatu yang ada di bumi hingga terjadinya proses biologis yang sangat kompleks di dalam tubuh. Sesungguhnya hal-hal tersebut merupakan suatu pembuktian bahwa Allah SWT maha kuasa atas segala penciptaan-Nya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan:

1. Redocking glibenklamid sebagai senyawa referensi menghasilkan nilai ΔG_{bind} sebesar -9,44 kkal/mol. Jenis interaksi intermolekular yang terdeteksi dari hasil redocking glibenklamid yaitu ikatan hidrogen, van der Waals, interaksi non-kovalen dan unfavorable donor-donor.
2. Residu asam amino hasil redocking yang terdeteksi yaitu ARG306, TYR377, PHE433, ASN437, SER1238, THR1242, ASN1245, dan ARG1246.
3. Hasil docking/ penambatan senyawa-senyawa aktif golongan *Charantosides* buah Pare (*Momordica charantia* L.) yaitu Charantoside A, B, C dan Charantoside I-VII pada reseptor Sulfonilurea (SUR1) menghasilkan konformasi terbaik dengan rentang nilai ΔG_{bind} -8,25 kkal/mol sampai -10,19 kkal/mol dengan senyawa Charantoside III yang memiliki nilai ΔG_{bind} terbaik.
4. Senyawa Charantoside C diprediksikan dapat bekerja seperti glibenklamid berdasarkan nilai ΔG_{bind} sebesar -9,34 kkal/mol dan residu-residu yang berinteraksi dengannya. Berdasarkan kesesuaian ruang, Charantoside C merupakan senyawa yang memiliki pose yang mirip dengan glibenklamid.
5. Seluruh senyawa *Charantosides* memiliki potensi menjadi kandidat obat antidiabetes karena memiliki nilai *binding affinity* dalam besaran energi interaksi intermolekuler

5.2 Saran

1. Hasil ini merupakan permodelan molekul yang hanya meramalkan aktivitas secara komputerasi. Perlu dilakukan uji lanjut yaitu uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa tersebut.
2. Perlu dilakukan optimasi pada protein molekul ataupun ligan menggunakan program *Hyperchem* sebelum dilakukannya docking agar diperoleh data ΔG_{bind} dan residu-residu yang berinteraksi agar lebih valid
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan program-program lain seperti *DOCK*, *MOE*, *GOLD*, *Autodock Vina* dan lain-lain untuk membandingkan hasil data diantara program-program tersebut.
4. Dapat dilakukan penelitian menggunakan senyawa-senyawa aktif buah Pare yang lain untuk mengetahui apakah selain senyawa Charantosides dapat dikandidatkan sebagai obat antidiabetes

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamad, J., Amin, S., & Mir, S. R. (2017). *Momordica charantica* Linn. (Cucurbitaceae) : Review on Phytochemistry and Pharmacology. *Reaserch Journal of Pytochemistry*, 11(2), 53-65.
- American Diabetes Association (ADA). (2010). Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 33(Suplement 1), 511-561.
- Ananta, M., G, Suartha, I. N., & Dharmayudha, A. A. G. O. (2016). Pengaruh Partisi Etil Asetat Ekstra Buah Pare (*Momordica Charantia*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Streptozotozin. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 422-429.
- Brooijmans, N., & Kuntz, ID. (2003). Molecular Recognition and Docking Algorithms. *Annu Rev Biophys Biomol Struct.* 32:335-373.
- Chaudhary, K. K., Mishra, N. (2016). A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem*, 4(3), 1029.
- Chen, K., & Kurgan, L. (2009). Investigation of Atomic Level Patterns in Protein-Small Ligand Interactions. *PloS ONE*, 4(2), e4473.
- Effendy. (2017). *Molekul, Struktur dan Sifat-Sifatnya*. Malang: Indonesian Academic Publishing.
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20(7), 13384-13421.
- Fikry, M. A. (2014). Studi Penambatan Molekul Senyawa–senyawa Flavonoid dari Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) pada Peroxisome Proliferator Activated Receptor-Gamma (*Ppar-γ*). Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Fuhrmann, J., Rurainski, A., Lenhof, Hans-Peter., & Neumann, D. (2010). A New Lamarckian Genetic Algorithm for Flexible Ligand-Receptor Docking. *Journal of Computational Chemistry*, 31(9), 1911-1918.
- Gribble, F., Tucker, S. J., Seino, S., & Ashcroft, F. (1998). Tissue Spesificity of Sulphonylureas: Studies On Cloned Cardiac and Beta-Cell KATP Channels. *Diabetes*, 47(9), 1412-1418.
- Horax, R., Hettiarachchy, N., & Chen, P. (2010). Extraction, Quantification, and Antioxidant Activities of Phenolics From Pericarp and Seeds of Bitter melons (*Momordica charantia*) harvested at three maturity stages

- (Immature, Mature, and Ripe). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7), 4428–4433.
- Huang, S. Y., Grinter, S. Z., & Zou, X. (2010). Scoring Functions and Their Evaluation Methods for Protein-Ligand Docking: Recent Advances and Future Directions. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 12(40), 12899-12908.
- Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2007). A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation. *Journal of Computational Chemistry*, 28(6), 1145-1152.
- Husyanti, R. L. (2016). Efektivitas Taurin Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Aloksan. Skripsi. Lampung: Jurusan Biologi Fakultas Mipa Universitas Lampung.
- Inagaki, N., Gono, T., Clement, J. P., Wang, C. Z., Aguilar-Bryan, L., Bryan, J., & Seino, S. (1996). A Family of Sulfonylurea Receptors Determines The Properties of ATP-Sensitive K⁺ Channels. *Neuron*, 16(5), 1011-1017.
- Jones, G., Willet, P., Glen, R. C., Leach, A. R., & Taylor, R. (1997). Development and Validation of A Genetic Algorithm for Flexible Docking. *Journal of Molecular Biology*, 267(3), 727-748.
- Joseph, B., & Jini, D. (2013). Antidiabetic Effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its Medicinal Potency. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(2), 93-102.
- Kalra, S., & Ghupta, Y. (2015). Letter to The Editor: Comment On “The Impact of Chronic Liraglutide Therapy on Glucagon Secretion in Type 2 Diabetes: Insight from The LIBRA Trial” by Kramer, C. K, et al. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(11), 116-117.
- Klebe, G. (2013). *Drug Design: Methodology, Concepts, and Mode-of-Action*. 901(1). SN - 978-3-642-17906-8
- Leach, A. R., Shoichet, B. K., & Peishoff, C. E. (2006). Prediction of Protein-Ligand Interactions. Docking and Scoring: Successes and Gaps. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), 5851-5855.
- Lee, S. Y., Park, S. L., Hwang, J. T., Yi, S. H., Young-DoNam, & Lim, S. I. (2012). Antidiabetic Effect of *Morinda citrifolia* (Noni) Fermented by *Cheonggukjang* in KK-Ay Diabetic Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012(2012), 1-8.
- Li, N., Wu, J-X., Ding, D., Cheng, J., Gao, N., & Chen, L. (2017). Structure of a Pancreatic ATP-Sensitive Potassium Channel. *Cell*, 168(2017), 101-

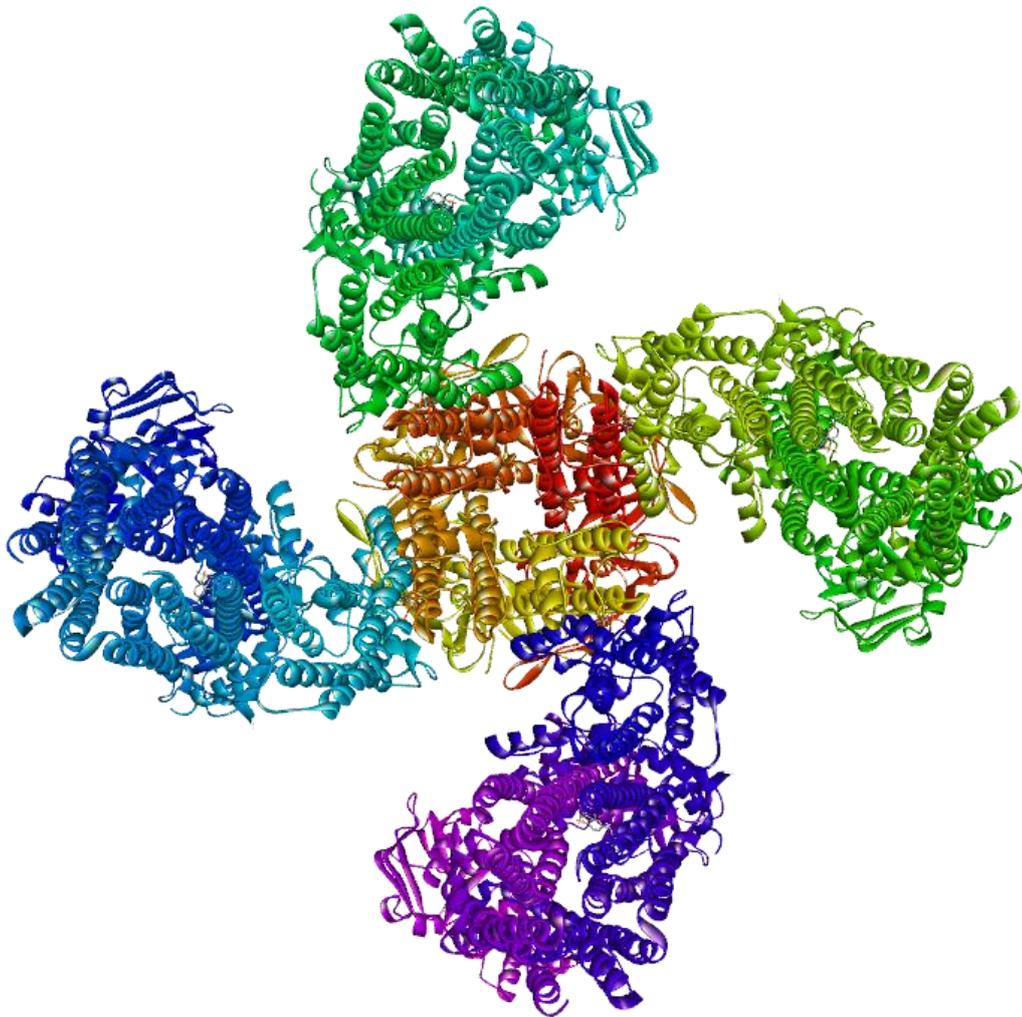
110.

- Martin, G. M., Kandasamy, B., DiMaio, F., Yoshioka, C., & Shyng, S-L. (2017). Title: Anti-Diabetic Drug Binding Site in KATP Channels Revealed by Cryo-EM. *Biophysics and Structural Biology*, (2017). 1-27.
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146-157.
- Misra, K., & Tripathi, A. (2017). Molecular Docking: A Structure-Based Drug Designing Approach. *Journal Science Medical*, 5(2), 1042.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., & Olson, A. J. (2009). *AutoDock Version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors*. La Jolla, California, U.S.A: The Scripps Research Institute.
- Nagarani, G., Abirami, A., Shiddhuraju, P. (2014). Food Prospects and Nutraceutical Attributes of *Momordica* species: A Potential Tropical Bioresources—A Review. *Food Science and Human Wellness*, 3(3-4), 117-126.
- Nhiem, N. X., Kiem, P. V., Minh, C. V., Ban, N. K., & Cuong, N. X. (2010). α -Glucosidase Inhibition Properties of Cucurbitane-type Triterpene Glycosides from The Fruits of *Momordica charantia* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 58(2), 720-724.
- Nugroho, A. E. (2006). Review: Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7(4), 378-382.
- Oh, C-S., Kohanim, S., Kong, F-L., Song, H-C., Huyah, N., Mendez, R., Chanda, M., Kim, E-E., & Yang, D. J. (2012). Sulfonylurea Receptor as A Target for Molecular Imaging of Pncreatic Beta Cells with ^{99m}Tc -DTPA-glipizide. *Annals of Nuclear Medicine*, 26(2012), 253-261.
- Patrick, G. L. 2013. *An Introduction to Medicinal Chemistry.Fifth Edition*. Oxford University Press. UK. 228-229.
- Proks, P., Reimann, F., Green, N., Gribble, F., & Ashcroft, F. (2002). Sulfonylurea Stimulation of Insulin Secretion. *Diabetes*, 51((3), 368-376.
- Putra, R. J. S., Achmad, A., P, & Hananditia. R. (2017). Kejadian Efek Samping Potensial Terapi Obat Anti Diabetes Pasien Diabetes Mellitus Berdasarkan Algoritma Naranjo. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 2(2), 45-50.

- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santosos, B. (2016). Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock Vina. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 16-20.
- Sayeoti, A. Z. (2015). Effect of Decocta In Bitter Melon Fruit (*Momordica charantial.*) for Decrease Blood Glucose Levels. *Journal of Majority*, 4(4), 18-22.
- Schwinghammer, T. L. (2009). *Pharmacotherapy Casebook A Patient-Focused Approach*. Editor: Terry L. Schwinghammer dan Julia M. Koehler. New York: McGraw-Hill.
- Sharma U. S., & Kumar A. (2011). Anti-Diabetic Effect of Rubus ellipticus Fruit Extracts in Alloxan Induced Diabetic Rats. *Journal of Diabetology*, 2(4), 1-6.
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran* Vol. 5. Jakarta: Lentera Hati.
- Siswandono. (2016). *Kimia Medisinal Edisi Kedua*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Wicaksono, B., Sugiyanta., & Purwandhono, A. (2013). Efek Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia*) dan Metformin terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan: Perbandingan Terapi Kombinasi dan Terapi Tunggal. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*, (2014), 1-4.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Struktur 3D Makromolekul K_{ATP}



Struktur 3D K_{ATP} dengan PDB ID 6BAA

(Sumber: www.rcsb.org)

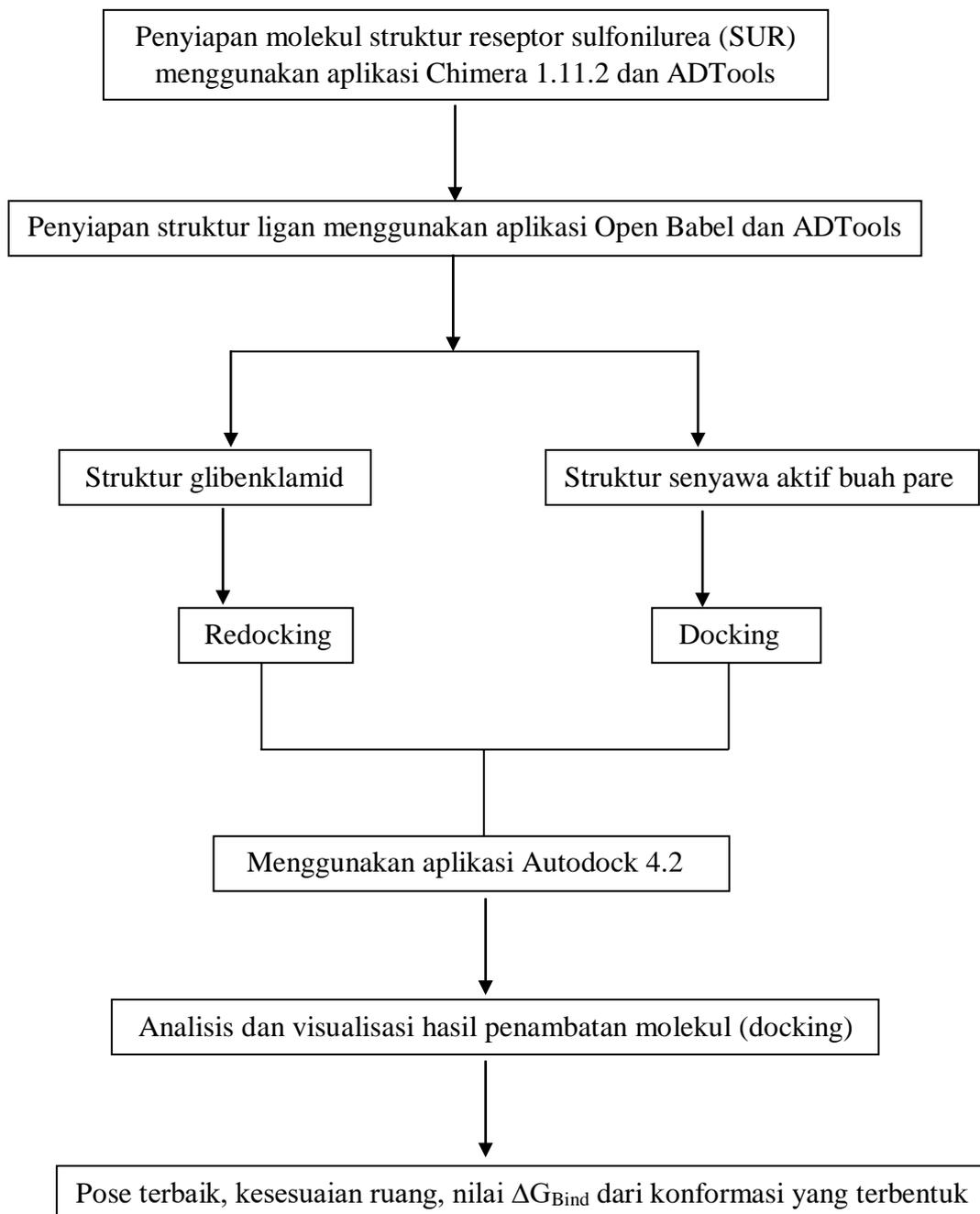
Lampiran 2. Struktur 3D SUR (*Sulfonylurea Receptor*)



Struktur 3D SUR + Glibenklamid (PDB ID: 6BAA)

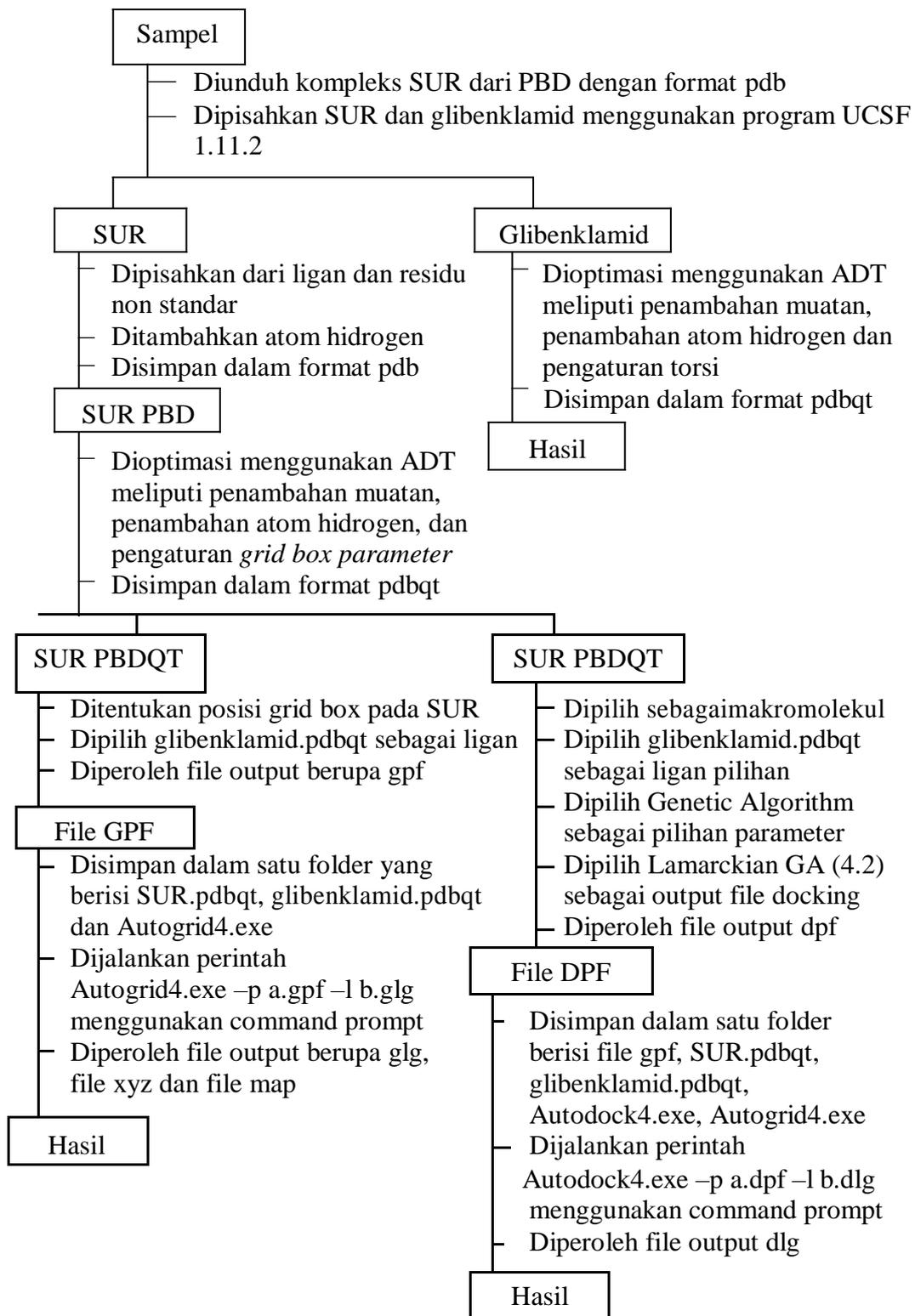
(Sumber: www.rcsb.org)

Lampiran 3. Rancangan Penelitian

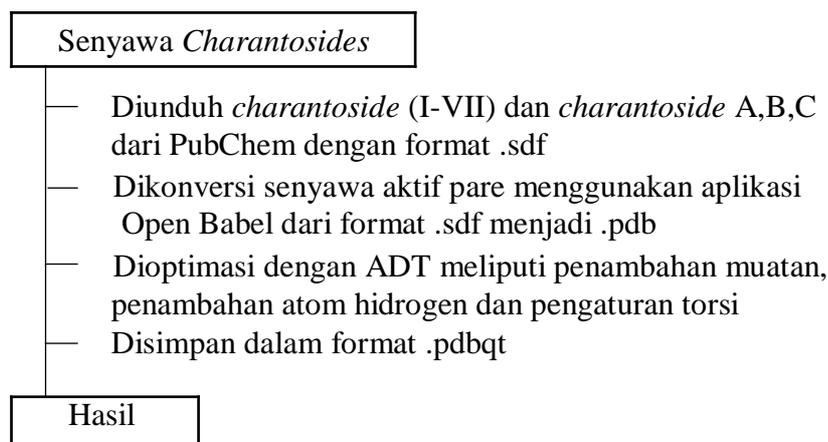


Lampiran 4. Diagram Alir

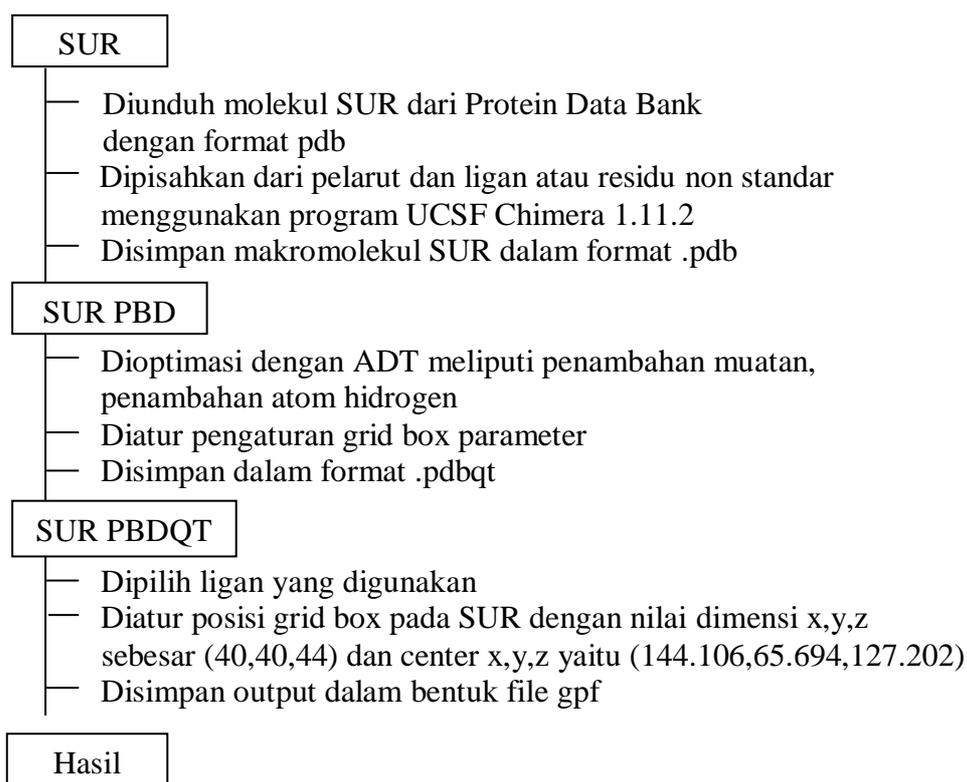
1. Redocking (Penambatan Ulang)



2. Penyiapan Struktur Ligan

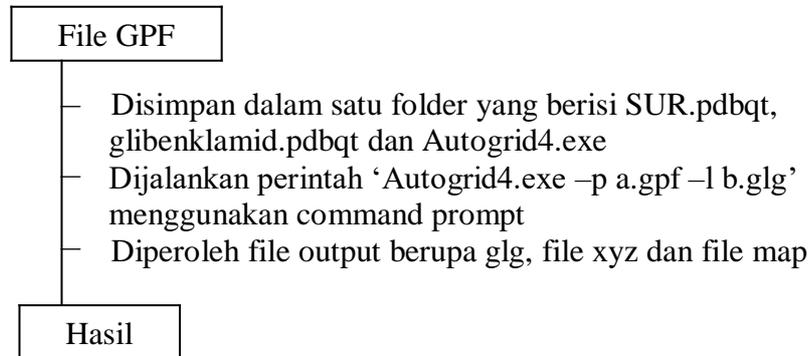


3. Penyiapan Struktur Molekul SUR

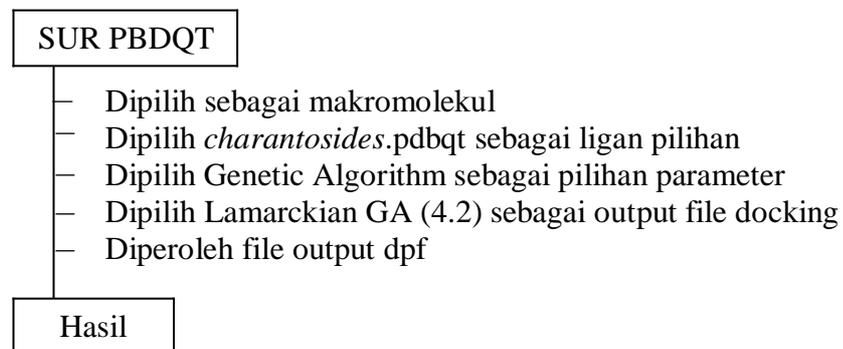


4. Penambatan Molekul dengan Autodock4.2

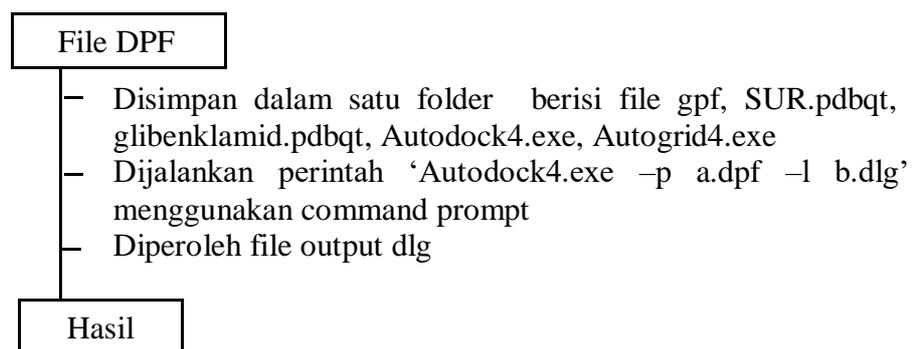
4.1 Pembentukan File GLG



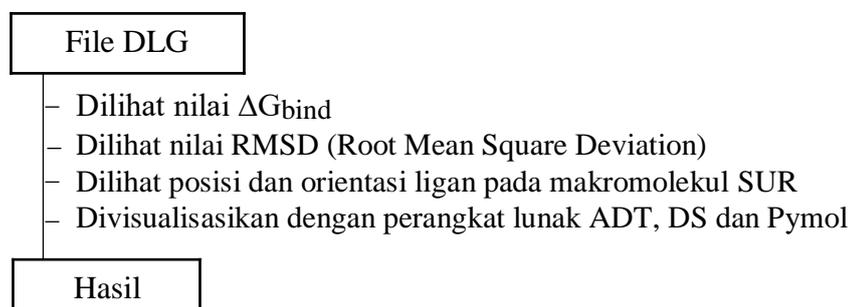
4.2 Pembentukan File DPF



4.3 Pembentukan File DLG



5. Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul



Lampiran 5. Data Hasil Docking Autodock4.2

Glibenklamide Redocking

Data Nilai Binding Energy Ligan Glibenklamid Redocking				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,44	0,00	1,47
2	1	-8,99	0,00	2,08
3	1	-8,79	0,00	4,81
4	1	-8,62	0,00	2,53
5	1	-8,61	0,00	4,66
6	1	-8,59	0,00	3,65
7	1	-8,49	0,00	4,98
8	1	-8,47	0,00	2,63
9	1	-8,3	0,00	4,05
10	1	-8,29	0,00	2,71
11	1	-8,15	0,00	2,42
12	1	-8,01	0,00	3,67
13	1	-7,94	0,00	2,52
14	1	-7,56	0,00	4,47
15	1	-7,2	0,00	3,9
16	1	-7,12	0,00	4,72
17	1	-7,11	0,00	4,4
18	1	-7,09	0,00	4,52
19	1	-6,92	0,00	4,32
20	1	-6,72	0,00	4,49
21	1	-6,29	0,00	4,01
22	1	-5,97	0,00	4,37

Charantoside A

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside A				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-8,75	0,00	197,24
2	1	-8,26	0,00	197,14
3	1	-8,17	0,00	197,52
4	1	-7,96	0,00	197,06
5	1	-7,24	0,00	197,83
6	1	-7,10	0,00	197,87
7	1	-6,97	0,00	196,87
8	1	-6,77	0,00	198,44
9	1	-6,73	0,00	196,27
10	1	-6,60	0,00	197,30
11	1	-6,36	0,00	196,09
12	1	-6,34	0,00	196,65
13	1	-5,89	0,00	197,51
14	1	-5,77	0,00	196,40
15	1	-5,01	0,00	195,54
16	1	-4,14	0,00	196,72
17	1	-4,07	0,00	195,72

Charantoside B

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside B				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,74	0,00	197,51
2	1	-8,53	0,00	196,23
3	1	-8,18	0,00	195,97
4	1	-7,14	0,00	197,21
5	1	-7,14	0,00	195,99
6	1	-7,12	0,00	196,93
7	1	-7,07	0,00	196,70
8	1	-6,94	0,00	196,82
9	1	-5,75	0,00	197,32
10	1	-4,40	0,00	195,89
11	1	-3,82	0,00	195,84
12	1	-2,44	0,00	195,89

Charantoside C

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside C				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,34	0,00	195,26
2	1	-8,92	0,00	194,07
3	1	-8,28	0,00	194,01
4	1	-8,14	0,00	194,49
5	1	-8,06	0,00	194,70
6	1	-8,02	0,00	194,13
7	1	-7,93	0,00	193,41
8	1	-7,80	0,00	193,44
9	1	-7,22	0,00	192,64
10	1	-6,89	0,00	193,52
11	1	-6,63	0,00	193,47
12	1	-5,44	0,00	193,29
13	1	-5,42	0,00	192,28

Charantoside II

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside II				
Cluster	Konformas i	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-8,25	0,00	196,68
2	1	-8,08	0,00	194,26
3	1	-7,83	0,00	195,00
4	1	-7,54	0,00	195,05
5	1	-7,28	0,00	194,83
6	1	-7,13	0,00	194,87
7	1	-7,11	0,00	195,42
8	1	-7,08	0,00	194,96
9	1	-6,76	0,00	194,45
10	1	-6,70	0,00	194,02
11	1	-5,81	0,00	193,34
12	1	-5,34	0,00	193,79
13	1	-5,23	0,00	193,00
14	1	-5,00	0,00	194,25
15	1	-4,89	0,00	194,68
16	1	-4,61	0,00	192,24
17	1	-4,51	0,00	194,96
18	1	-4,49	0,00	191,69

Charantoside I

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside I				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,03	0,00	195,04
2	1	-8,36	0,00	197,56
3	1	-8,26	0,00	195,6
4	1	-7,49	0,00	196,78
5	1	-7,38	0,00	195,40
6	1	-7,20	0,00	195,83
7	1	-7,15	0,00	194,90
8	1	-7,08	0,00	194,04
9	1	-6,87	0,00	194,68
10	1	-6,62	0,00	194,60
11	1	-6,42	0,00	194,82
12	1	-6,38	0,00	195,25
13	1	-6,30	0,00	194,76
14	1	-6,21	0,00	194,80
15	1	-6,06	0,00	194,72
16	1	-5,85	0,00	196,35
17	1	-5,74	0,00	195,49
18	1	-5,65	0,00	192,75
19	1	-5,5	0,00	193,42
20	1	-5,4	0,00	194,51
21	1	-5,17	0,00	193,54

Charantoside III

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside III				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-10,19	0,00	195,33
2	1	-8,62	0,00	195,44
3	1	-8,28	0,00	196,23
4	1	-8,18	0,00	197,76
5	1	-7,86	0,00	196,48
6	1	-7,30	0,00	195,55
7	1	-7,04	0,00	194,96
8	1	-6,54	0,00	194,52
9	1	-6,46	0,00	193,76
10	1	-6,43	0,00	195,59
11	1	-5,92	0,00	195,15
12	1	-5,84	0,00	194,95
13	1	-5,53	0,00	193,73

Charantoside IV

Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside IV				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-10,09	0,00	195,42
2	1	-8,92	0,00	195,49
3	1	-8,06	0,00	196,05
4	1	-7,87	0,00	197,27
5	1	-7,52	0,00	195,07
6	1	-7,33	0,00	195,13
7	1	-7,17	0,00	195,69
8	1	-6,59	0,00	195,23
9	1	-6,57	0,00	196,96
10	1	-5,87	0,00	193,26

Charantoside VI

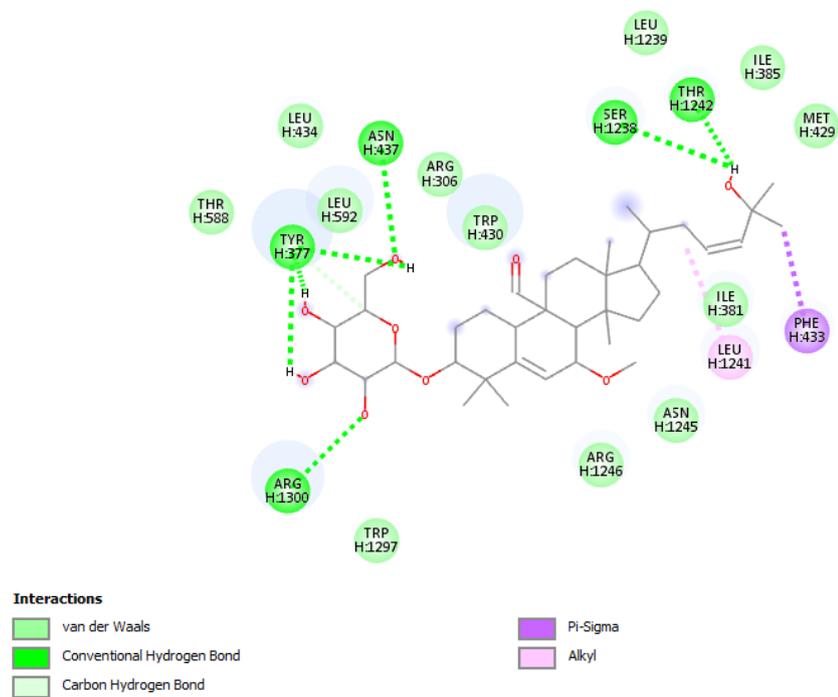
Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside VI				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,61	0,00	195,06
2	1	-8,38	0,00	195,40
3	1	-8,14	0,00	195,62
4	1	-8,03	0,00	196,27
5	1	-7,87	0,00	194,98
6	1	-7,78	0,00	196,99
7	1	-7,33	0,00	196,51
8	1	-7,18	0,00	194,68
9	1	-6,03	0,00	194,45
10	1	-5,92	0,00	193,40
11	1	-5,80	0,00	193,98
12	1	-5,37	0,00	195,04
13	1	-5,34	0,00	193,90
14	1	-5,19	0,00	194,31
15	1	-5,17	0,00	192,46
16	1	-4,77	0,00	194,85
17	1	-4,74	0,00	193,59
18	1	-4,02	0,00	193,61

Charantoside VII

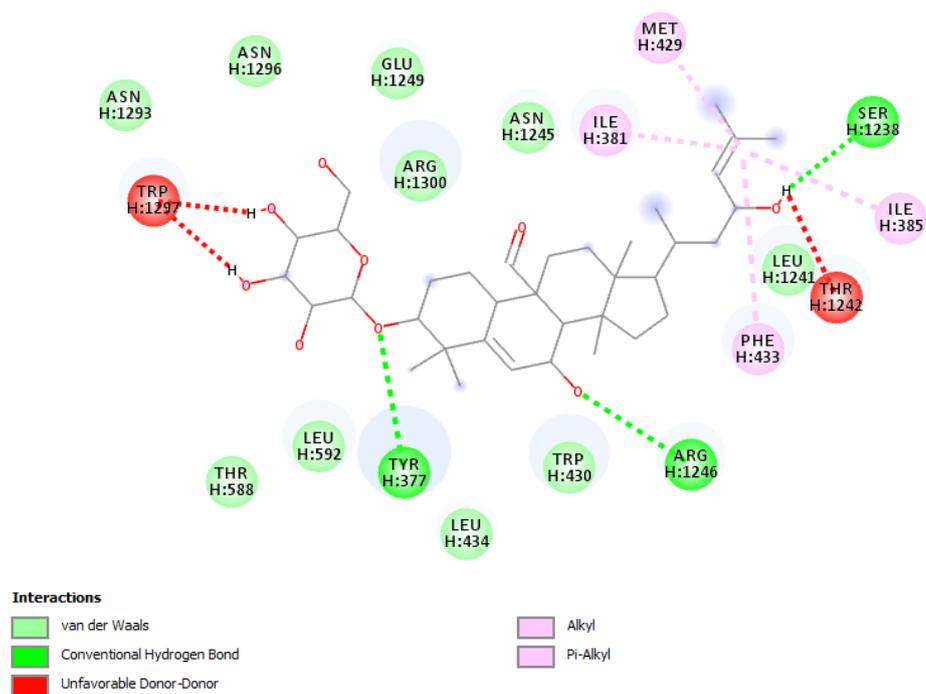
Data Nilai Binding Energy Ligan Charantoside VII				
Cluster	Konformasi	Binding Energy (kcal/mol)	Cluster RMSD (Å)	Reference RMSD (Å)
1	1	-9,54	0,00	195,28
2	1	-9,24	0,00	195,25
3	1	-8,86	0,00	195,82
4	1	-8,19	0,00	197,06
5	1	-7,99	0,00	197,83
6	1	-7,79	0,00	197,87
7	1	-7,51	0,00	196,87
8	1	-7,41	0,00	196,91
9	1	-7,3	0,00	194,83
10	1	-6,71	0,00	195,17
11	1	-5,99	0,00	195,67
12	1	-5,81	0,00	194,58
13	1	-5,8	0,00	194,64
14	1	-4,75	0,00	195,43

Lampiran 6. Visualisasi Interaksi Ligan Charantosides

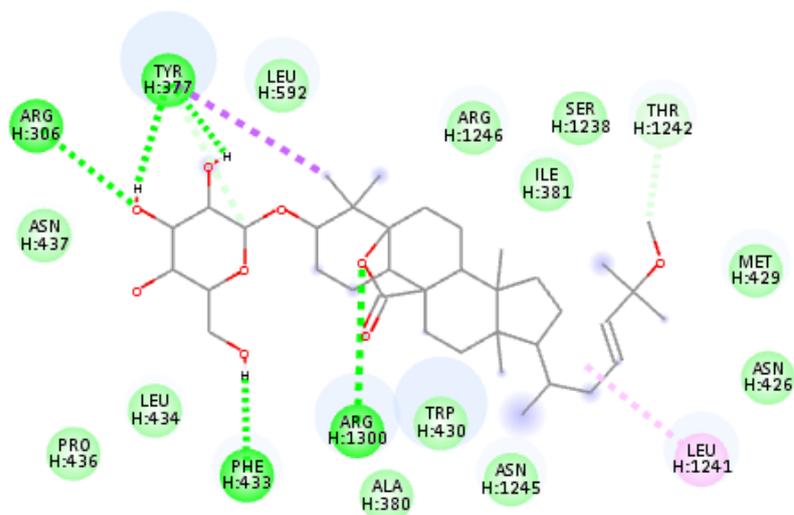
Charantoside A



Charantoside B



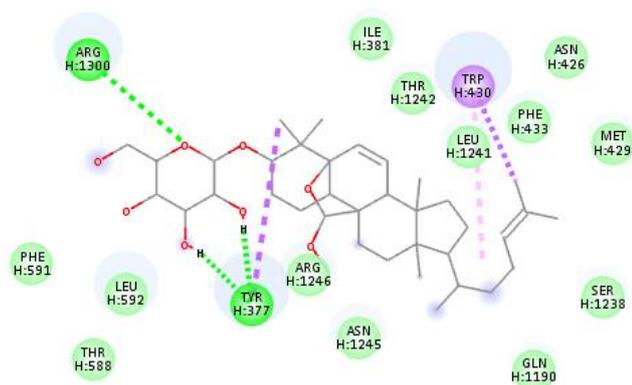
Charantoside C



Interactions

	van der Waals		Pi-Sigma
	Conventional Hydrogen Bond		Alkyl
	Carbon Hydrogen Bond		

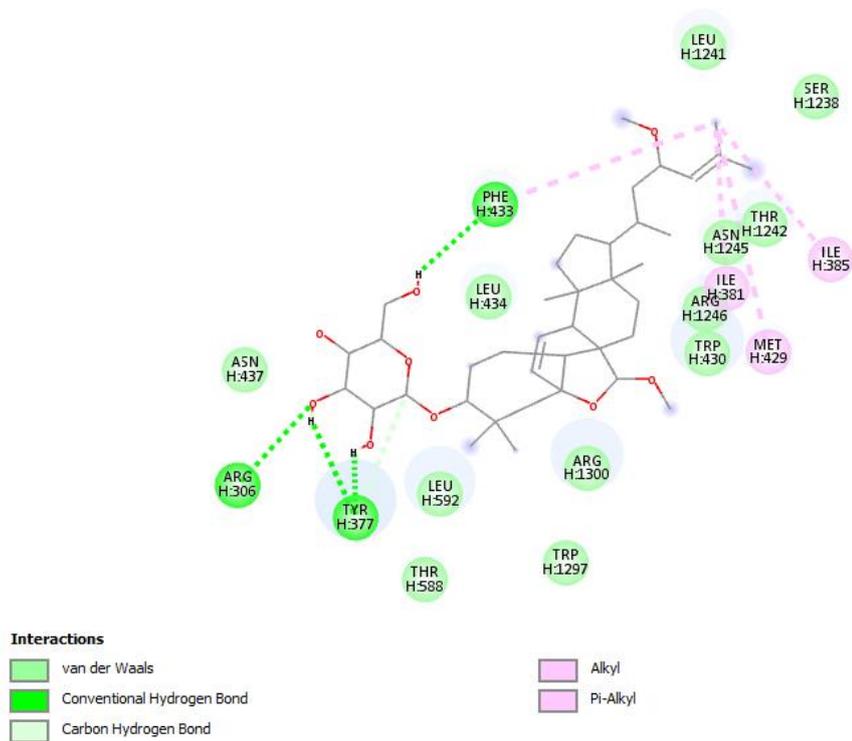
Charantoside I



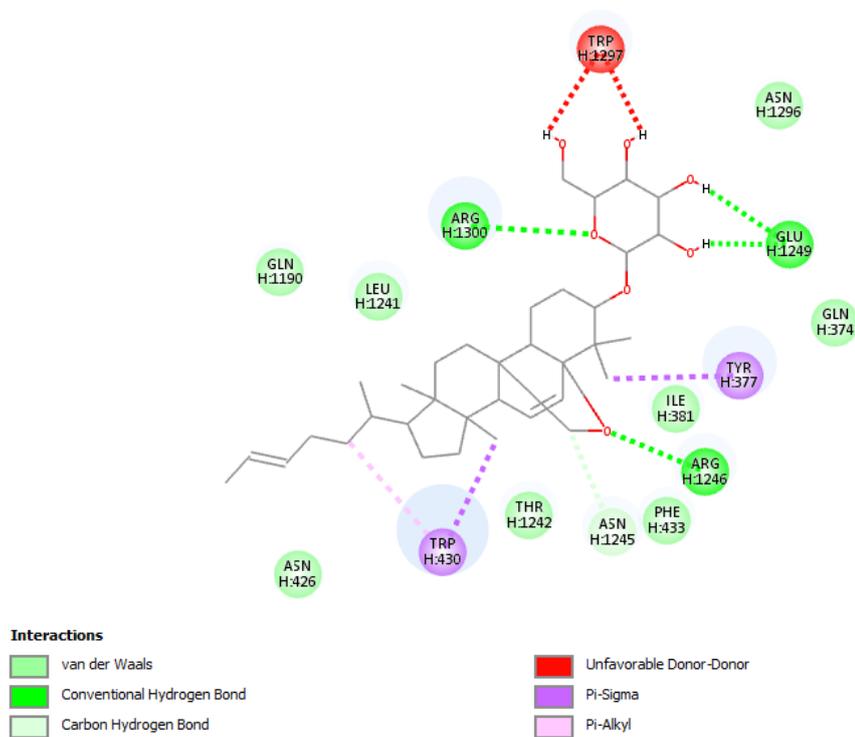
Interactions

	van der Waals		Pi-Sigma
	Conventional Hydrogen Bond		Pi-Alkyl

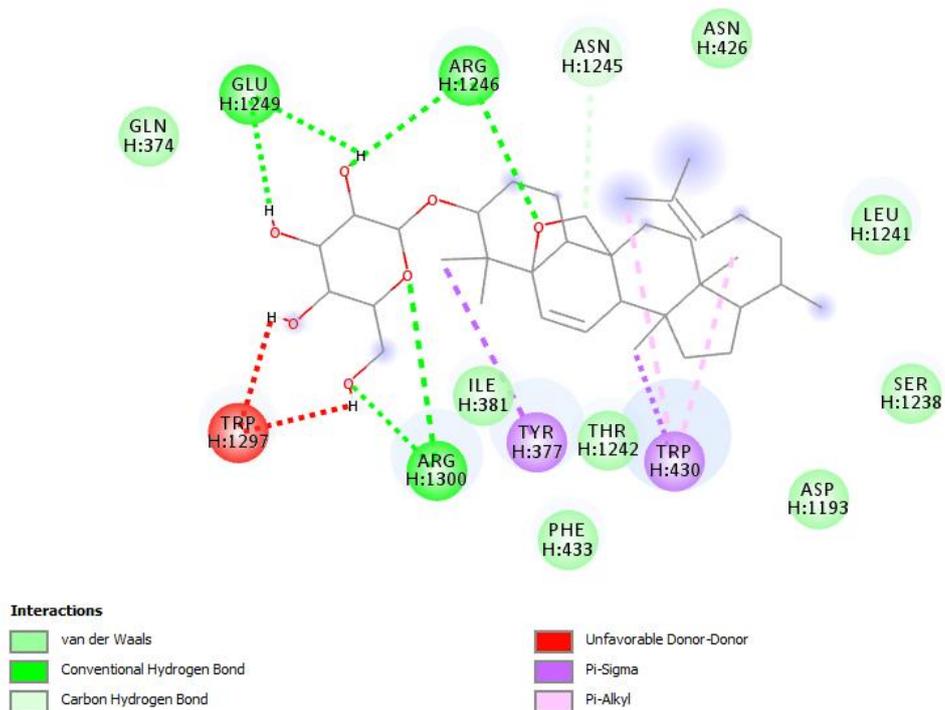
Charantoside II



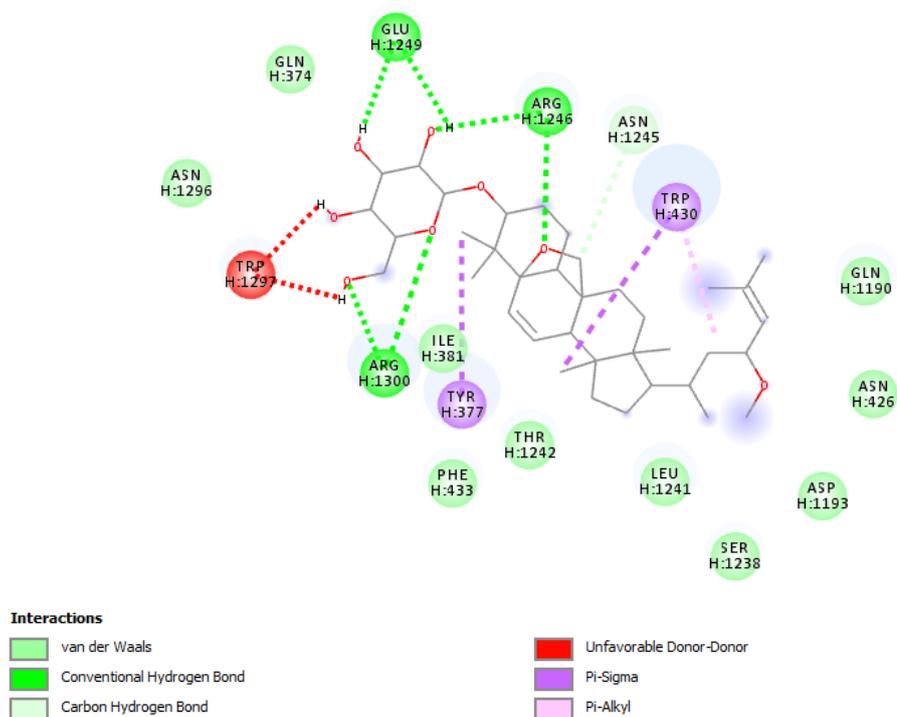
Charantoside III



Charantoside IV



Charantoside VI



Charantoside VII

