

**ANALISIS POTENSI ANTIDIABETIK SENYAWA *PALMITIC ACID* MELALUI AKTIVASI AMPK SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

**Oleh:**

**ARDELLYA ELFIDAA SALSABILA**

**NIM. 19910042**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG**

**2022**

**ANALISIS POTENSI ANTIDIABETIK SENYAWA *PALMITIC ACID* MELALUI AKTIVASI AMPK SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam Memperoleh  
Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)**

**Oleh:  
ARDELLYA ELFIDAA SALSABILA  
NIM. 19910042**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK  
IBRAHIM MALANG**

**2022**

**ANALISIS POTENSI ANTIDIABETIK SENYAWA *PALMITIC ACID* MELALUI AKTIVASI AMPK SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**

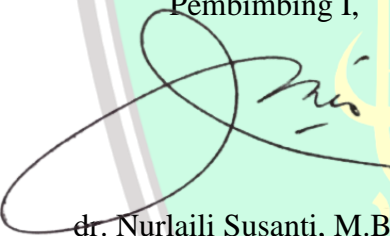
**Oleh:**

**ARDELLYA ELFIDAA SALSABILA**


**NIM. 19910042**


Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal : 7 Januari 2022

Pembimbing I,

  
dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed  
NIP. 19831024 201101 2 007

Pembimbing II,

  
dr. Zulvikar Syambani Ulhaq  
M.Biomed, Ph.D  
NIDT. 19880818201911201266

  
Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed.  
NIP. 198105182011012000

**ANALISIS POTENSI ANTIDIABETIK SENYAWA *PALMITIC ACID* MELALUI AKTIVASI AMPK SECARA *IN SILICO***

**SKRIPSI**





**OLEH:**

**ARDELLYA ELFIDAA SALSABILA**

**NIM. 19910042**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima  
Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran  
(S.Ked)

Tanggal: 14 Januari 2022

Penguji Utama	<u>dr. Lailia Nur Rachma, M.Biomed</u> NIP. 19840623 201101 2 009	
Ketua Penguji	<u>dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed</u> NIP. 19831024 201101 2 007	
Sekretaris Penguji	<u>dr. Zulvikar Syambani Ulhaq, M.Biomed, Ph.D</u> NIDT. 19880818201911201266	
Penguji Integrasi Keislaman	<u>dr. Ana Rahmawati, M.Biomed</u> NIP. 19741203 200912 2 001	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Tias Pramesti Griana, M.Biomed  
NIP. 19810518 201101 2 000

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ardellya Elfidaa Salsabila

NIM : 19910042

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Bekasi, 14 Januari 2022

Yang memberi pernyataan,



Ardellya Elfidaa Salsabila

NIM. 19910042

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Puji syukur Alhamdulillah penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan proposal skripsi ini dengan baik.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu dalam berbagai bentuk pada proses penyusunan proposal skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan pada:

1. Prof. Dr. M. Zainuddin, MA selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan pengetahuan dan pengalaman berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp.B., Sp. BP-RE (K) dan dilanjutkan oleh Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes, Sp. Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. dr. Tias Pramesti, M.Biomed selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed, selaku pembimbing I yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. dr. Zulvikar Syambani Ulhaq, M.Biomed, Ph.D, selaku pembimbing II yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.

6. dr. Lailia Nur Rachma, M.Biomed, selaku penguji utama pada seminar proposal dan ujian akhir skripsi.
7. dr. Ana Rahmawati, M.Biomed, selaku penguji integrasi islam pada ujian akhir skripsi.
8. Segenap sivitas akademik Program Studi Pendidikan Dokter, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Abi (Nurdin Rivaldy S.Ag, M.Psi), almh. Umi, Bunda, cing Gunih dan seluruh keluargaku tercinta, yang senantiasa memberikan do'a, dukungan, restu dan inspirasi kepada penulis dalam menuntut ilmu.
10. Teman-teman KKM Jasinga, Albi, Ahya, Billa, Salsa, Gina, Klarisa, Sinta, Mita, Aisyah, Delid, Hagi, Ojan, Gaizka, Umar, Yazif yang telah mensupport secara spiritual.
11. Sahabatku Mery, Deci, Ami, Yulia, Ilham dan teman-teman CLAVICULA 2018 yang selalu menyemangati, mendukung dan menjadi tempat berbagi ilmu, canda, serta tawa selama menuntut ilmu di kota perantauan.
12. Semua pihak yang ikut berkontribusi dalam menyelesaikan skripsi baik berupa materil maupun moril.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga proposal ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi.

*Aamiin Ya Rabbal Alamin*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Bekasi, 14 Januari 2022

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>i</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>xii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	5
1.3. Tujuan Penelitian.....	6
1.4. Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1. Ilmu Pengetahuan .....	7
1.4.2. Bagi Masyarakat.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1. Diabetes melitus Tipe 2 .....	8
2.1.1. Definisi .....	8
2.1.2. Faktor Risiko .....	9
2.1.3. Patogenesis Diabetes Melitus .....	9
2.1.6. Peran AMPK dalam Diabetes melitus Tipe 2.....	13
2.2 Palmitic Acid.....	21
2.3. <i>Clinacanthus nutans</i> .....	24
2.3.1. Taksonomi .....	24
2.3.2. Morfologi.....	25
2.3.3. Distribusi .....	26
2.3.4. Senyawa Bioaktif .....	26
2.3.5. Efek Teurapeutik .....	27
2.4. Analisis <i>In Silico</i> dengan metode <i>Molekular Docking</i> .....	30
2.4.1. Model Ikatan Interaksi Ligan-Reseptor.....	31
2.4.1.1. Ikatan Kovalen .....	32
2.4.1.2. Ikatan Ionik.....	33



2.4.1.3. Ikatan Hidrogen .....	33
2.4.1.4. Ikatan Van der Waal's .....	33
2.4.2. Sumber Informasi Database .....	33
2.4.2.1. PubChem .....	34
2.4.2.2. <i>Protein Data Bank</i> .....	34
2.4.3. Perangkat Lunak .....	34
2.4.3.1. Lipinski <i>Rule of five</i> (Rof) .....	34
2.4.3.2. Pymol .....	35
2.4.3.3. <i>Autodock Vina</i> .....	35
2.4.3.4. UCSF Chimera .....	36
2.4.3.5. Discovery Studio Visualizer .....	36
2.4.3.6. LigPlot+ 1.4.5 .....	36
2.4.3.6. Pre-ADMET Online .....	37
2.4.3.7. Notepad++ .....	37
<b>BAB III KERANGKA KONSEP .....</b>	<b>40</b>
3.1 Kerangka Konsep .....	40
3.2 Hipotesis .....	41
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>42</b>
4.1 Desain Penelitian .....	42
4.2 Variabel Penelitian .....	42
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian .....	42
4.4 Alat dan Bahan .....	43
4.4.1 Alat .....	43
4.4.2 Bahan .....	43
4.5 Definisi Operasional .....	44
4.6 Prosedur Penelitian .....	45
4.6.1 Preparasi ligan .....	45
4.6.2 Preparasi Protein Reseptor .....	45
4.6.3 Uji <i>Human Intestinal Absorption</i> (HIA) .....	46
4.6.4 Uji Lipinski <i>Rule of five</i> .....	46
4.6.5 Penambatan <i>Molecular Docking</i> .....	47
4.6.6 Visualisasi Hasil <i>Docking</i> .....	47

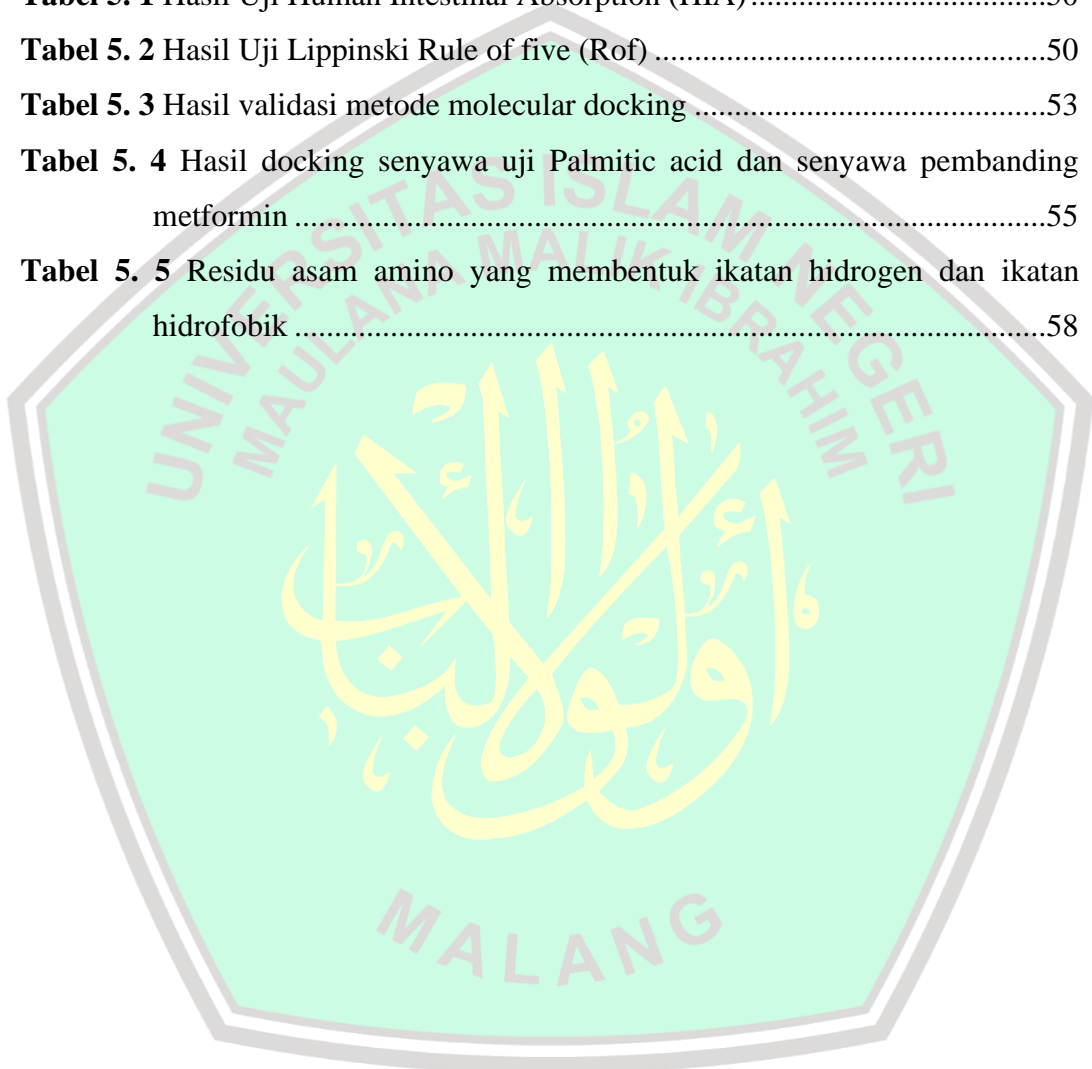
4.7 Alur Penelitian.....	48
4.8 Analisis Hasil .....	49
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>50</b>
5.1. Hasil Penelitian.....	50
5.1.1. Hasil Uji Human Intestinal Absorption (HIA) .....	50
5.1.2. Hasil Uji Lippinski <i>Rule of five</i> (Rof) .....	50
5.1.3. Optimasi Struktur Tiga Dimensi Senyawa <i>Palmitic Acid</i> .....	51
5.1.4. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Senyawa <i>Palmitic Acid</i> .....	51
5.1.5. Uji Molecular Docking.....	53
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>60</b>
6.1. Pembahasan .....	60
6.1.1. Prediksi Absorpsi Senyawa dengan Parameter <i>Human Intestinal Absorption</i> (HIA) .....	60
6.1.2. Prediksi Potensi Senyawa Melewati Membran Sel dengan Parameter Lippinski <i>Rule of five</i> (Rof) .....	61
6.1.3. Hasil Uji <i>Molecular Docking</i> Ligan-Reseptor.....	63
6.2. Kajian Integrasi Islam .....	68
<b>BAB VII PENUTUP.....</b>	<b>73</b>
7.1 Kesimpulan.....	73
7.2 Saran .....	73
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>74</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>92</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2. 1</b> Patofisiologi DMT2 (Skyler et al., 2017).....	11
<b>Gambar 2. 2</b> Struktur AMPK yang diunduh melalui website .....	14
<b>Gambar 2. 3</b> Aktivasi AMPK(M. Cabarcas et al., 2010).....	15
<b>Gambar 2. 4</b> Aktivasi AMPK berefek pada banyak jaringan (Yuan et al., 2019) 17	
<b>Gambar 2. 5</b> Jalur pensinyalan AMPK (Nandipati et al., 2017).....	18
<b>Gambar 2. 6</b> Struktur 2 dimensi Palmitic acid (Pubchem, 2012).....	21
<b>Gambar 2. 7</b> Palmitic acid menstimulasi aktivasi jalur transduksi sinyal AMPK (Pu et al., 2011).....	22
<b>Gambar 2. 8</b> Tanaman Dandang Gendis (a) seluruh tanaman (b) daun (c) daun dengan batang (Alam et al., 2016).....	25
<b>Gambar 2. 9</b> Gambaran algoritma molecular docking (de Ruyck et al., 2016) ..	31
<b>Gambar 2. 10</b> Jenis ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan .....	32
<b>Gambar 2. 11</b> Kerangka teori .....	39
<b>Gambar 4. 1</b> Diagram Alur Penelitian.....	48
<b>Gambar 5. 1</b> Hasil optimisasi palmitic acid – Senyawa palmitic acid yang telah mendapatkan energi terendah senyawa uji dengan bantuan Autodock .....	51
<b>Gambar 5. 2</b> (A) Hasil optimisasi struktur AMPK (B) <i>Native ligand</i> .....	52
<b>Gambar 5. 3</b> (A) Grid parameter sisi aktif AMPK; (B) Nilai Grid parameter native ligand dalam format *.txt .....	53
<b>Gambar 5. 4</b> Nilai binding affinity (kcal/mol) molecular docking antara native ligand, ligan uji dan ligan pembanding dengan reseptor AMPK.....	56
<b>Gambar 5. 5</b> Ikatan hidrogen dan hidrofobik antara reseptor AMPK dengan ligan a) ADP 1237; b) ADP 1238; c) metformin; d) palmitic acid (PA) e) AMP f) ATP. Panah merah menunjukkan ikatan hidrogen dan panah biru menunjukkan ikatan hidrofobik.....	58

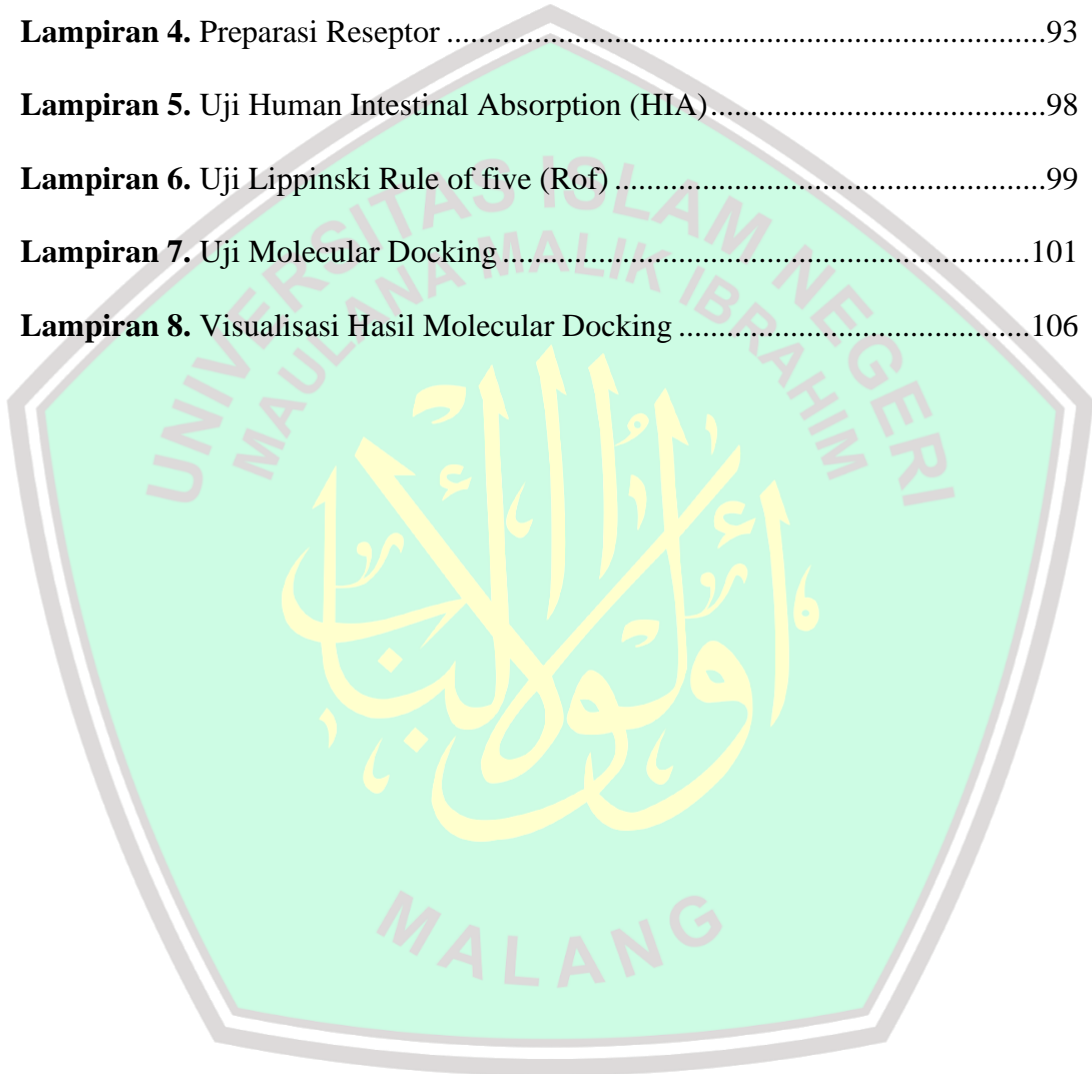
## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2. 1</b> Perbandingan kadungan senyawa Palmitic acid (PA) antara tumbuhan-tumbuhan yang berpotensi antidiabetik .....	23
<b>Tabel 2. 2</b> Hasil analisis senyawa GC-MS fraksi Dichloromethane extract (CN-Dcm) dari ekstrak daun Clinacanthus nutans (Ismail et al., 2020). .....	26
<b>Tabel 5. 1</b> Hasil Uji Human Intestinal Absorption (HIA) .....	50
<b>Tabel 5. 2</b> Hasil Uji Lippinski Rule of five (Rof) .....	50
<b>Tabel 5. 3</b> Hasil validasi metode molecular docking .....	53
<b>Tabel 5. 4</b> Hasil docking senyawa uji Palmitic acid dan senyawa pembanding metformin .....	55
<b>Tabel 5. 5</b> Residu asam amino yang membentuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik .....	58

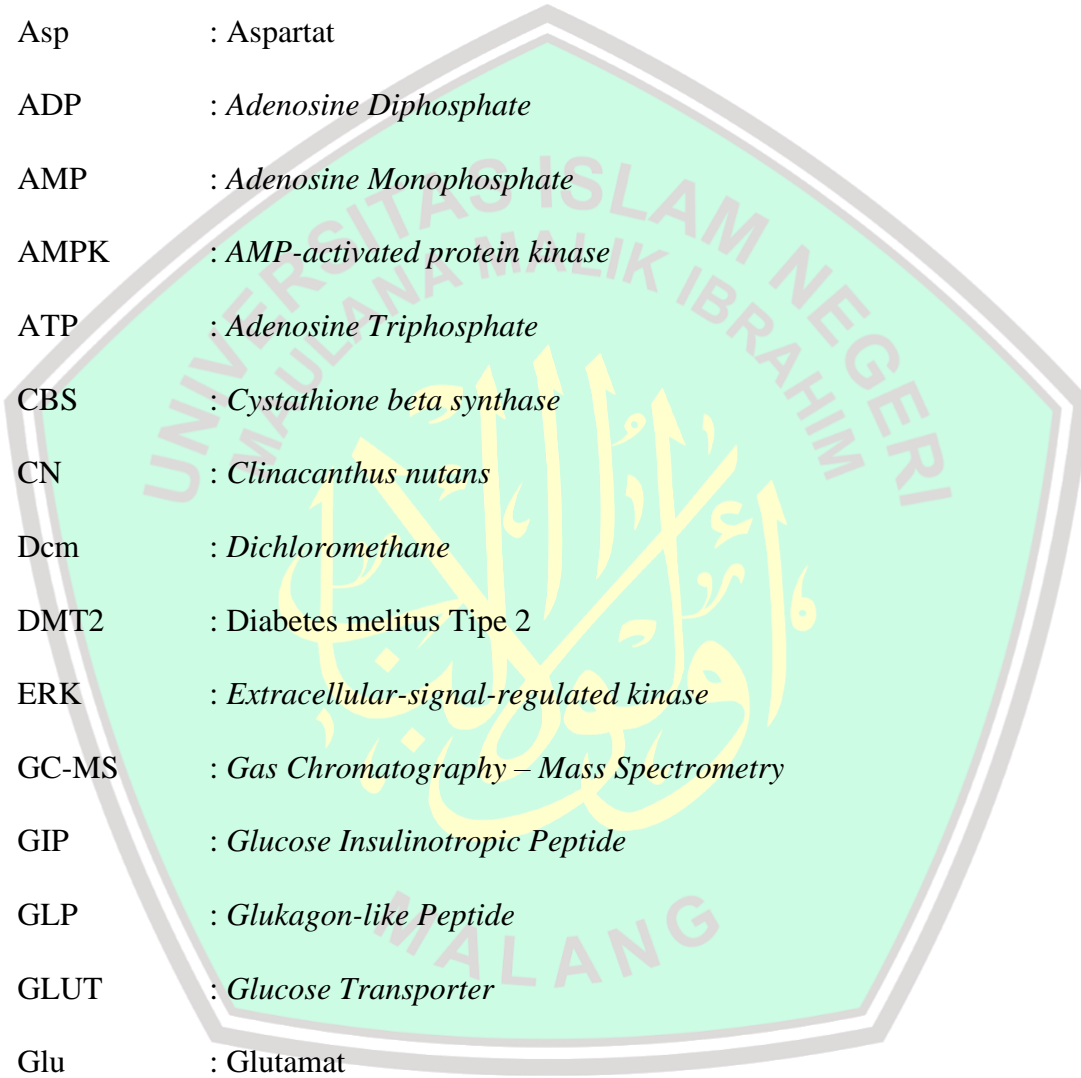


## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b> Hasil Uji Human Intestinal Absorbtion .....	92
<b>Lampiran 2.</b> Hasil Uji Lipinski rule of five.....	92
<b>Lampiran 3.</b> Preparasi Ligan .....	92
<b>Lampiran 4.</b> Preparasi Reseptor .....	93
<b>Lampiran 5.</b> Uji Human Intestinal Absorption (HIA).....	98
<b>Lampiran 6.</b> Uji Lippinski Rule of five (Rof) .....	99
<b>Lampiran 7.</b> Uji Molecular Docking .....	101
<b>Lampiran 8.</b> Visualisasi Hasil Molecular Docking .....	106



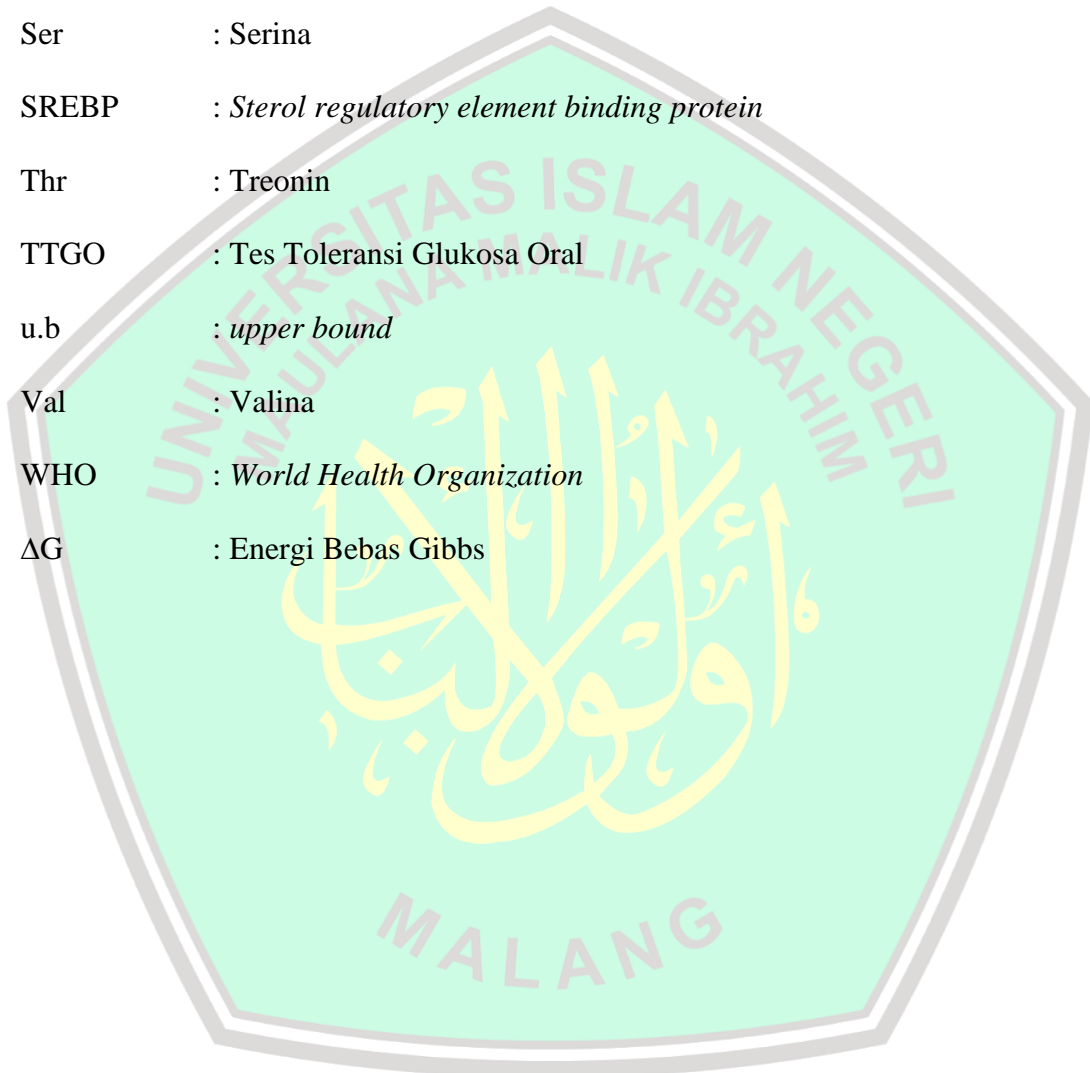
## DAFTAR SINGKATAN



Ala	: Alanina
Akt	: <i>serine/threonine kinase</i>
Arg	: Arginin
Asn	: Asparagina
Asp	: Aspartat
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
AMP	: <i>Adenosine Monophosphate</i>
AMPK	: <i>AMP-activated protein kinase</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
CBS	: <i>Cystathione beta synthase</i>
CN	: <i>Clinacanthus nutans</i>
Dcm	: <i>Dichloromethane</i>
DMT2	: <i>Diabetes melitus Tipe 2</i>
ERK	: <i>Extracellular-signal-regulated kinase</i>
GC-MS	: <i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry</i>
GIP	: <i>Glucose Insulinotropic Peptide</i>
GLP	: <i>Glukagon-like Peptide</i>
GLUT	: <i>Glucose Transporter</i>
Glu	: Glutamat
Gly	: Glisina
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
HIA	: <i>Human Intestinal Absorption</i>

His	: Histidine
IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
IGT	: <i>Impairment Glucose Tolerance</i>
IKK	: IκB kinase
Ile	: Isoleusin
JNK	: <i>c-Jun N-terminal kinase</i>
l.b	: <i>lower bound</i>
Leu	: Leusina
LKB1	: <i>Liver kinase B1</i>
Lys	: Lisina
MAPK	: <i>Mitogen-activated Protein Kinase</i>
mTOR	: <i>Mammalian target of rapamycin</i>
NIST	: <i>National Institute of Standarts and Technology</i>
NF-κB	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
PA	: <i>Palmitic Acid</i>
PCOS	: <i>Polycystic Ovarian Syndrome</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
Phe	: Fenilalanina
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-kinases</i>
PKA	: Protein Kinase A
PKCs	: Protein Kinases C
PP2C	: <i>Protein Phosphatase 2C</i>
PSA	: <i>Polar Surface Area</i>
p38	: Protein 38

RAM	: <i>Random Access Memory</i>
RISKESDAS	: Riset Kesehatan Dasar
RMSD	: <i>Root Mean Score Deviation</i>
Rof	: <i>Rule of five</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
Ser	: Serina
SREBP	: <i>Sterol regulatory element binding protein</i>
Thr	: Treonin
TTGO	: Tes Toleransi Glukosa Oral
u.b	: <i>upper bound</i>
Val	: Valina
WHO	: <i>World Health Organization</i>
$\Delta G$	: Energi Bebas Gibbs





## ABSTRAK

Salsabila, Ardellya Elfidaa. 2021. Analisis Potensi Antidiabetik Senyawa *Palmitic Acid* Melalui Aktivasi AMPK secara *In Silico*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) dr. Zulvikar Syambani Ulhaq, M.Biomed, Ph.D

---

**Latar Belakang:** Diabetes melitus merupakan suatu keadaan dimana kadar gula dalam tubuh melebihi batas normal dalam darah. Diabetes melitus tipe 2 adalah tipe diabetes yang paling banyak ditemukan dan merupakan penyakit kronik metabolik akibat resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas sehingga sensitivitas insulin menurun. Adapun penatalaksanaan diabetes melitus berupa obat hipoglikemik oral, akan tetapi obat tersebut memiliki efek samping seperti gangguan gastrointestinal, mual, muntah, hipoglikemi, gangguan makrovaskular, gangguan mikrovaskular, dll. Sehingga, perlu diupayakan alternatif obat untuk meningkatkan sensitivitas insulin agar dapat menurunkan kadar gula darah yang lebih aman berupa pemanfaatan tanaman herbal. Salah satu tanaman yang diduga dapat menjadi alternatif obat untuk menurunkan kadar gula darah berlebih adalah tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*). Tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) memiliki kandungan *palmitic acid* yang mampu menurunkan kadar gula darah berlebih dalam darah. **Tujuan:** Untuk mengetahui potensi senyawa *palmitic acid* tanaman dandang gendis sebagai aktivator protein AMPK secara *in silico*. **Metode:** Metode deskriptif kualitatif dengan menggunakan metode *molecular docking* secara *in silico* untuk mengetahui *binding affinity* dan interaksi ikatan senyawa *palmitic acid* yang terkandung dalam tanaman dandang gendis dalam mengaktivasi protein AMPK. **Hasil:** *Docking* antara *palmitic acid* dengan AMPK menghasilkan nilai energi ikatan ( $\Delta G_{bind}$ ) sebesar -5,3 kkal/mol. sedangkan hasil *docking* dari metformin menghasilkan nilai energi ikatan terendah ( $\Delta G_{bind}$ ) sebesar 5,1 kkal/mol. **Kesimpulan:** Ikatan hasil *docking* *palmitic acid* memiliki afinitas yang cukup kuat terhadap protein AMPK sebesar -5,3 kkal/mol. Sehingga *palmitic acid* yang merupakan kandungan pada tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) memiliki potensi sebagai antidiabetik.

**Kata kunci:** *Palmitic acid*, AMPK, tanaman Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*), antidiabetik, *in silico*

## ABSTRACT

**Salsabila, Ardellya Elfidaa. 2021. Analysis of Antidiabetic Potential of Palmitic Acid Compounds Through In Silico AMPK Activation. Thesis. Medical Departement, Medical and Health Sciences Faculty, The Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang.**

**Advisor: (I) dr. Nurlaili Susanti, M.Biomed (II) dr. Zulvikar Syambani Ulhaq, M.Biomed, Ph.D**

---

**Background:** Diabetes melitus is a condition where the sugar level in the body exceeds the normal limit in the blood. Type 2 diabetes melitus is the most common type of diabetes and is a chronic disease caused by insulin resistance and beta cell dysfunction, resulting in decreased insulin sensitivity. The management of diabetes melitus is in the form of oral hypoglycemic drugs, but these drugs have side effects such as gastrointestinal disturbances, nausea, vomiting, hypoglycemia, macrovascular disorders, microvascular disorders, etc. So it is necessary to seek alternative drugs to increase insulin sensitivity in order to lower blood sugar levels which are safer in the form of using herbal plants. One of the suspected plants that can be an alternative medicine to reduce excess blood sugar levels is the dandang gendis plant (*Clinacanthus nutans*). The dandang gendis plant (*Clinacanthus nutans*) contains palmitic acid which can reduce excess blood sugar levels in the blood. **Objective:** To determine the potential of palmitic acid compounds from Dandang gendis plant as an in silico AMPK protein activator. **Methods:** Qualitative descriptive method using molecular docking in silico method to determine the affinity and interaction with palmitic acid compounds contained in the dandang gendis plant in activating AMPK protein. **Result:** Docking between palmitic acid and AMPK produces an energy value ( $\Delta G_{bind}$ ) of -5.3 kcal/mol. docking of metformin resulted in the lowest energy value ( $\Delta G_{bind}$ ) of 5.1 kcal/mol. **Conclusion:** The bond produced by palmitic acid docking has a fairly strong affinity for AMPK protein of -5.3 kcal/mol. So that palmitic acid which is an ingredient in the dandang gendis plant (*Clinacanthus nutans*) has potential as an antidiabetic.

**Keywords: Palmitic acid, AMPK, Dandang Gendis plant (*Clinacanthus nutans*), antidiabetic, in silico**

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan salah satu fokus masalah kesehatan di dunia. Progresivitas kasus DM dari tahun ke tahun meningkat (WHO, 2016). Menurut WHO (2016), pada tahun 1980 jumlah penderita DM mencapai 108 juta kasus, tahun 2014 meningkat menjadi 422 juta penderita diabetes. *International Diabetes Federation* (IDF) menyebutkan sebanyak 415 juta orang menderita diabetes melitus tipe 2 (DMT2) pada tahun 2015 dan diprediksi akan mencapai 642 juta penderita pada tahun 2040 (Bellou et al., 2018). Indonesia menempati peringkat ke-7 dengan penderita diabetes terbanyak di wilayah Asia Tenggara dengan 10,7 juta kasus (Kemenkes RI, 2020). Hasil Riskesdas (2018) menyebutkan bahwa terdapat sekitar 1.017.290 kasus penderita diabetes melitus di Indonesia, dilihat dari diagnosis dokter pada semua usia.

Morbiditas dan mortalitas penderita diabetes di dunia tergolong tinggi. Pada tahun 2016, terdapat sekitar 1,6 juta kasus kematian yang secara langsung disebabkan oleh diabetes. Sebanyak 2,2 juta kematian lainnya disebabkan oleh kadar glukosa yang tinggi di tahun 2012. Tidak hanya itu, diabetes menimbulkan komplikasi yang mengancam jiwa dan dapat menyebabkan kebutaan, serangan jantung, gagal ginjal, stroke, dan amputasi tungkai bawah. Hal ini menjadi beban masalah khususnya di Indonesia,

melihat dari prevalensi penderita diabetes yang terus meningkat dan berpotensi menimbulkan kematian (Henning, 2018; WHO, 2016).

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan tipe diabetes yang paling banyak ditemukan dibanding dengan tipe lain (WHO, 2016). DMT2 merupakan penyakit kronik metabolik yang ditandai dengan hiperglikemi. DM tipe ini sering dikaitkan dengan resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas (Bellou *et al.*, 2018; Müller-Wieland *et al.*, 2019). Pada DM tipe 2, terdapat salah satu molekul enzim yang keberadaannya berpengaruh besar pada kondisi resistensi insulin, yaitu *adenosine monophosphate activated protein kinase* (AMPK). AMPK merupakan enzim yang terlibat dalam pengaturan homeostasis metabolik. Diketahui aktivasi AMPK dalam hati dapat mengurangi glukoneogenesis dan lipogenesis melalui penurunan regulasi gen tertentu. Di otot, aktivasi AMPK meningkatkan pengambilan glukosa, gen mitokondria, dan oksidasi lipid (Chellappan *et al.*, 2018). Oleh karena itu, AMPK berperan penting dalam patogenesis terjadinya DMT2. Dan pengobatan DMT2 hingga saat ini masih perlu perhatian.

Saat ini, pengobatan diabetes menggunakan obat hipoglikemik oral (Joshi *et al.*, 2019). Diketahui metformin merupakan salah satu obat hipoglikemik DMT2 yang sering digunakan dan berkerja dalam meningkatkan sensitivitas insulin. Hal ini berkaitan dengan teraktivasinya AMPK (Janani & Ranjitha Kumari, 2015; Nandipati *et al.*, 2017). Terapi pada DMT2 umumnya efektif digunakan, tetapi banyak efek samping yang tidak diharapkan muncul seperti gangguan pada saluran pencernaan, mual, muntah, pusing, tremor, dan hipoglikemi pada beberapa penderita mungkin tidak toleran terhadap efek

samping yang ditimbulkan (Putra *et al.*, 2017; Rena *et al.*, 2017). Selain itu, obat-obatan DM memiliki limitasi berupa peningkatan prevalensi diabetes, komplikasi yang ditimbulkan serta melonjaknya biaya manajemen diabetes, membuat dibutuhkan pengobatan alternatif yang lebih efisien dan terjangkau (Grossman *et al.*, 2018; Joshi *et al.*, 2019; Lankatillake *et al.*, 2019).

Pengobatan alternatif yang terus dikembangkan hingga saat ini berupa pemanfaatan tanaman herbal. Seperti yang kita ketahui, Allah SWT menciptakan tanaman dan seluruh aspek kehidupan bukan hanya dapat dinikmati dari pandangan mata saja, melainkan manfaat dari setiap apa yang telah diciptakan. Dalam surah Ar-Rad ayat 4 yang berbunyi;

وَفِي الْأَرْضِ قِطْعٌ مُتَجَوِّرَاتٌ وَجَنَّاتٌ مِّنْ أَعْنَابٍ وَزُرْعٌ وَنَخِيلٌ صِنُونًا وَغَيْرُ صِنُونًا يُسْقَى  
بِمَاءٍ وَاحِدٍ وَنُفِصِلُ بَعْضَهَا عَلَى بَعْضٍ فِي الْأَكْلِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَعْقِلُونَ

Yang artinya: *“Dan di bumi ini terdapat bagian-bagian yang berdampingan, dan kebun-kebun anggur, tanaman-tanaman dan pohon korma yang bercabang dan yang tidak bercabang, disirami dengan air yang sama. Kami melebihkan sebahagian tanam-tanaman itu atas sebahagian yang lain tentang rasanya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi kaum yang berfikir.”* (QS. Ar-Rad : 4).

Indonesia, negara yang kaya akan keanekaragaman hayati, salah satunya ialah kekayaan flora atau tumbuhan. Indonesia merupakan negara terbesar ke tujuh yang memiliki jumlah spesies tumbuhan mencapai hingga 20.000 spesies, dan diperkirakan memiliki 25% spesies tumbuhan berbunga dan 40% tumbuhan merupakan tumbuhan endemik atau asli Indonesia (Kusmana &

Hikmat, 2015). Di dalam tumbuhan, terkandung bermacam bahan alam, salah satunya yaitu fitokimia. Fitokimia yang sering ditemui dalam berbagai tumbuhan diantaranya flavonoid, saponin, alkaloid, tanin, glikosida, terpen, dan lain-lain (Aba & Asuzu, 2018). Pada penelitian sebelumnya ditemukan juga senyawa *fatty acid* yang tersusun dari beberapa komponen salah satunya adalah *palmitic acid* (PA) (Johnson & Abugri, 2014). Berdasarkan data yang telah dikumpulkan dari berbagai penelitian, terdapat beberapa tumbuhan antidiabetik yang telah di ekstrak diketahui memiliki kandungan PA (Abugri *et al.*, 2013; Barros *et al.*, 2010; Sahuleka *et al.*, 2018). Data tersebut menunjukkan perbandingan kadar PA antar jenis tanaman dan didapatkan hasil bahwa *Clinacanthus nutans* merupakan tumbuhan paling berpotensi digunakan sebagai antidiabetik dengan kadar PA tertinggi sebesar 23,84% (Ismail *et al.*, 2020)

*Clinacanthus nutans* (CN) atau dikenal dengan nama Dandang gendis merupakan tanaman herbal yang banyak digunakan untuk mengobati berbagai penyakit di masyarakat. Tanaman ini telah diteliti memiliki banyak khasiat seperti mengobati virus herpes-simplex, antioksidan, antikanker, antibakteri, antiinflamasi, dan mempunyai aktivitas antiracun. Uniknya tanaman ini hanya terdapat di beberapa negara seperti Malaysia, Vietnam, Indonesia, Thailand, dan China (Ismail *et al.*, 2020). Sebuah studi mengenai uji toksisitas akut menunjukkan bahwa ekstrak dari tanaman ini memiliki sedikit kadar toksisitas sehingga dapat digunakan sebagai agen terapeutik yang kuat untuk kondisi penyakit tertentu (Alam *et al.*, 2016).

Potensi antidiabetik daun *Clinacanthus nutans* (CN) saat ini kurang diteliti dan masih belum menjelaskan mekanisme tumbuhan ini dalam mengaktivasi AMPK. Penelitian yang dilakukan oleh Umar *et al* (2019) yang diuji pada tikus menunjukkan bahwa tanaman CN berpotensi sebagai antidiabetik. Dalam penelitian tersebut, tikus model DM tipe 2 yang diberikan ekstrak daun CN menunjukkan hasil kontrol glikemik yang lebih baik dan profil lipidnya meningkat secara signifikan.

Metode *in silico* (juga dikenal sebagai terapi komputasi, farmakologi komputasi) adalah metode yang berkembang pesat secara global mencakup pengembangan teknik penggunaan perangkat lunak untuk menangkap, menganalisis, dan mengintegrasikan data biologis dan medis dari banyak sumber yang beragam. Lebih khususnya metode ini mendefinisikan penggunaan informasi dalam pembuatan model komputasi atau simulasi yang dapat digunakan untuk membuat prediksi, menyarankan hipotesis, dan pada akhirnya memberikan penemuan atau kemajuan dalam pengobatan dan terapeutik (S. Ekins *et al.*, 2007).

Berdasarkan latar belakang diatas, penulis tertarik untuk meneliti potensi antidiabetik ekstrak daun *Clinacanthus nutans* dalam mengaktivasi AMPK secara *in silico*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

### 1.2.1. Rumusan Masalah Umum

- a) Apakah ekstrak daun *Clinacanthus nutans* mempunyai potensi antidiabetik melalui aktivasi AMPK secara *in silico*?

### 1.2.2. Rumusan Masalah Khusus

- a) Apakah senyawa *palmitic acid* dari daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) dapat berikatan pada sisi aktif *AMP-activated protein kinase* sebagai ligan resptor?
- b) Berapakah jumlah senyawa *palmitic acid* dalam tumbuhan *Clinacanthus nutans* yang dapat diabsorbsi dengan baik dalam tubuh menggunakan uji *Human Intestinal Absorption* (HIA)?
- c) Apakah senyawa *palmitic acid* yang terkandung dalam tumbuhan *Clinacanthus nutans* dapat menjadi obat oral berdasarkan kriteria Lipinski *Rule of five* (Rof)?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

- a) Mengetahui potensi antidiabetik ekstrak daun *Clinacanthus nutans* melalui aktivasi AMPK secara *in silico*.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- a) Membuktikan bahwa senyawa *palmitic acid* dari daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) dapat berikatan pada sisi aktif *AMP-activated protein kinase* sebagai ligan resptor.
- b) Mengetahui jumlah senyawa *palmitic acid* dalam tumbuhan *Clinacanthus nutans* yang dapat diabsorbsi dengan baik dalam tubuh menggunakan uji *Human Intestinal Absorption* (HIA).
- c) Membuktikan bahwa senyawa *palmitic acid* yang terkandung dalam tumbuhan *Clinacanthus nutans* dapat menjadi obat oral berdasarkan kriteria Lipinski *Rule of five* (Rof).

### **1.4. Manfaat Penelitian**



#### 1.4.1. Ilmu Pengetahuan

- a. Menambah wawasan dan ilmu pengetahuan mengenai potensi terapi antidiabetik baru dari ekstrak *Clinacanthus nutans*.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai landasan ilmiah untuk pengembangan penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan potensi antidiabetik ekstrak daun *Clinacanthus nutans*.

#### 1.4.2. Bagi Masyarakat

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi masyarakat mengenai manfaat daun *Clinacanthus nutans* yang berpotensi sebagai obat antidiabetik.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Diabetes melitus Tipe 2

##### 2.1.1. Definisi

Diabetes melitus (DM) atau kencing manis merupakan masalah serius dengan kondisi berkepanjangan yang berdampak besar pada kehidupan dan kesejahteraan baik individu, keluarga dan masyarakat di seluruh dunia. DM terjadi akibat adanya gangguan metabolisme kronis ditandai dengan kondisi hiperglikemi yang persisten akibat kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin maupun keduanya. Penyakit ini termasuk salah satu dari 10 penyebab kematian teratas yang terjadi pada orang dewasa, dan diperkirakan telah menyebabkan empat juta kematian secara global pada tahun 2017 (Lascar *et al.*, 2018; Saeedi *et al.*, 2019).

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah penyakit menahun yang terjadi akibat hasil dari penggunaan insulin yang tidak efektif oleh tubuh (WHO, 2020). Hal itu ditandai dengan adanya kondisi hiperglikemi, resistensi insulin, dan defisiensi relatif insulin. DMT2 ini merupakan hasil dari interaksi genetik, faktor resiko dan kondisi di lingkungan sekitar. Mayoritas penderita DMT2 adalah orang dewasa, namun sekarang juga terjadi semakin sering pada anak-anak. Orang yang hidup dengan DMT2 lebih rentan terhadap berbagai penyakit akibat komplikasi yang ditimbulkan dan berujung pada kematian dini. Kecenderungan peningkatan morbiditas dan mortalitas ini terlihat pada pasien dengan DMT2 karena jenis diabetes ini sangat umum di jumpai dan dapat

didiagnosis beberapa tahun setelah onset awal. Terkadang pasien datang saat kondisi mereka sudah terlambat ditangani atau setelah komplikasi sudah muncul (Henning, 2018; Olokoba *et al.*, 2015). Hal itu menyebabkan DM2 sering dijuluki sebagai *the silent killer* atau penyakit yang diam-diam membunuh.

### **2.1.2. Faktor Risiko**

Menurut Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI), faktor risiko diabetes melitus tipe 2 dibagi menjadi faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi, faktor risiko yang dapat dimodifikasi dan faktor lain. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi seperti riwayat genetik, suku dan ras, usia >45 tahun, riwayat berat bayi baru lahir rendah (BBLR), dan memiliki riwayat DM gestasional. Faktor risiko yang dapat dimodifikasi berupa obesitas, dislipidemi, hipertensi, aktivitas fisik yang kurang, dan pola diet yang tidak sehat. Faktor risiko lain yang berkaitan dengan kondisi DM adalah riwayat penyakit lain, seperti sindrom metabolik, *Polycystic Ovarian Syndrome* (PCOS), dan riwayat penyakit kardiovaskular (Soelistijo *et al.*, 2015).

### **2.1.3. Patogenesis Diabetes Melitus**

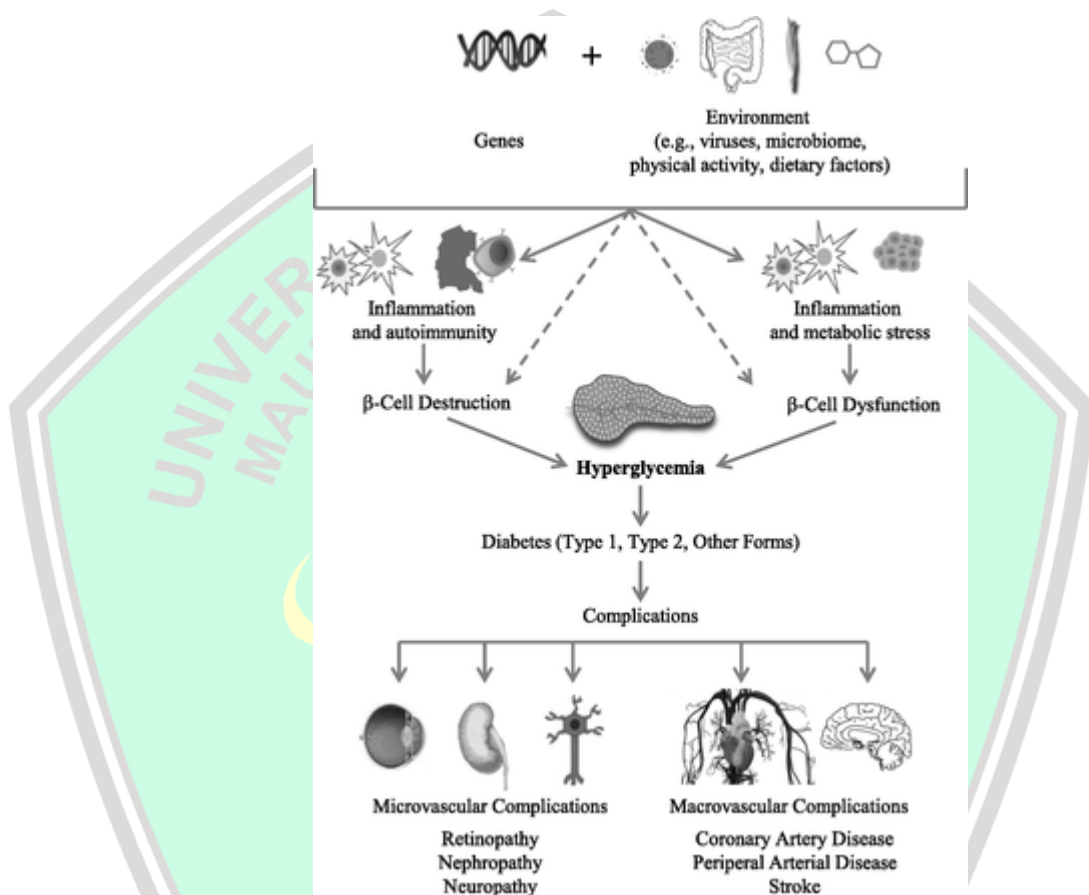
Penyebab utama terjadinya DM tipe 2 adalah resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas. Resistensi insulin tersebut dapat disertai dengan defek sekresi insulin ataupun defisiensi insulin relatif. Diketahui *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan stres oksidatif merupakan salah satu faktor penyebab yang bertanggung jawab atas terjadinya patogenesis resistensi insulin, gangguan sekresi insulin dan pemanfaatan glukosa,

produksi glukosa hati abnormal serta teraktivasinya berbagai mediator pro-inflamasi pada patogenesis tipe 2 melalui transkripsi yang dimediasi oleh jalur molekuler dan metabolisme (Rehman & Akash, 2017; Soelistijo et al., 2015).

Sekresi insulin yang terganggu adalah penurunan daya tanggap glukosa, yang diamati sebelum timbulnya penyakit secara klinis. Lebih khusus lagi, gangguan toleransi glukosa atau *impairment glucose tolerance* (IGT) diinduksi oleh penurunan sekresi insulin fase awal responsif-glukosa, dan penurunan sekresi insulin tambahan setelah makan menyebabkan hiperglikemia postprandial. Tes toleransi glukosa oral (TTGO) dalam kasus IGT umumnya menunjukkan respon berlebihan pada individu Barat dan Hispanik, yang memiliki resistensi insulin yang sangat tinggi. Di sisi lain, pasien Jepang sering menanggapi tes ini dengan penurunan sekresi insulin. Bahkan ketika respons berlebihan terlihat pada orang dengan obesitas atau faktor lain, mereka menunjukkan penurunan respons sekretori fase awal. Penurunan sekresi fase awal merupakan bagian penting dari penyakit ini, dan sangat penting sebagai perubahan patofisiologis dasar selama timbulnya penyakit di semua kelompok etnis (Abdul-Ghani *et al.*, 2008; Aguayo-Mazzucato *et al.*, 2019).

Sekresi insulin yang terganggu umumnya bersifat progresif, dan perkembangannya melibatkan toksisitas glukosa dan lipotoksitas. Bila tidak diobati, diketahui menyebabkan penurunan massa sel beta pankreas pada hewan percobaan. Perkembangan kerusakan fungsi sel beta pankreas digambarkan sangat mempengaruhi kontrol glukosa darah jangka panjang.

Pada penderita DMT2 stadium awal, terjadi peningkatan kadar postprandial glukosa darah sebagai akibat dari peningkatan resistensi insulin dan penurunan sekresi fase awal, sehingga awal perkembangan kemunduran fungsi sel beta pankreas menyebabkan peningkatan permanen dari glukosa darah (Galicia-Garcia *et al.*, 2020; Kaneto, 2015).



**Gambar 2. 1** Patofisiologi DMT2 – terjadinya diabetes melitus disebabkan oleh faktor resiko genetik maupun lingkungan yang menyebabkan kondisi hiperglikemi (Skyler *et al.*, 2017)

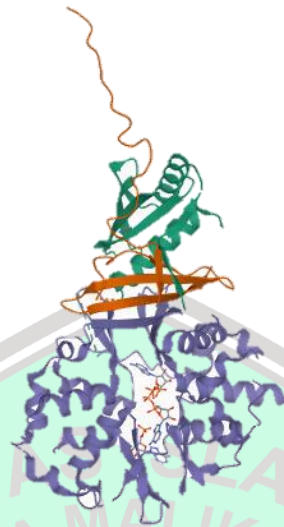
Gambar diatas menjelaskan patofisiologi DMT2 dimana faktor risiko genetik dan lingkungan memengaruhi terjadinya peradangan, autoimunitas, dan stres metabolik. Keadaan ini mempengaruhi massa dan/atau fungsi sel  $\beta$  sehingga kadar insulin pada akhirnya tidak dapat merespon secara memadai terhadap permintaan insulin, yang akhirnya

menyebabkan seseorang jatuh pada kondisi hiperglikemia. Dalam beberapa kasus, faktor risiko genetik dan lingkungan serta interaksi gen-lingkungan dapat secara langsung memengaruhi massa dan atau fungsi sel  $\beta$ . Terlepas dari patofisiologi diabetes, kadar glukosa darah tinggi kronis dikaitkan juga dengan komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular yang meningkatkan morbiditas dan mortalitas bagi penderita diabetes (Caughey *et al.*, 2018; Skyler *et al.*, 2017).

Resistensi insulin adalah suatu kondisi di mana sel dalam tubuh tidak dapat menggunakan gula darah dengan baik akibat terganggunya respon sel tubuh terhadap insulin. Gangguan kerja insulin pada organ target utama seperti hati dan otot merupakan gambaran patofisiologis umum dari diabetes tipe 2. Resistensi insulin berkembang dan meluas sebelum timbulnya penyakit. Penyelidikan terhadap mekanisme molekuler untuk kerja insulin telah mengklarifikasi bagaimana resistensi insulin terkait dengan faktor genetik dan faktor lingkungan (hiperglikemia, asam lemak bebas, mekanisme inflamasi, dan lain-lain). Faktor genetik yang diketahui, tidak hanya mencakup polimorfisme gen reseptor insulin dan *insulin receptor substrate* (IRS)-1 yang secara langsung mempengaruhi sinyal insulin tetapi juga polimorfisme gen hemat seperti gen reseptor  $B_3$  adrenergik dan gen *uncoupling protein* (UCP), berhubungan dengan obesitas visceral dan meningkatkan resistensi insulin. Glukolipotoksisitas dan mediator inflamasi juga penting sebagai mekanisme untuk gangguan sekresi insulin dan gangguan pensinyalan insulin (Buchanan *et al.*, 2002; Kaneto, 2015).

Dalam kondisi fisiologis, pelepasan insulin dari sel  $\beta$  pankreas dikontrol dengan ketat. Regulasi proses ini rumit, dan sel  $\beta$  dipengaruhi oleh banyak faktor. Glukosa adalah stimulator fisiologis utama dari sintesis dan pelepasan insulin. Tindakan insulinotropik glukosa sangat bergantung pada metabolisemenya. Metabolisme glukosa dikaitkan dengan perubahan status energi intraseluler, dan juga peristiwa ionik, yang akhirnya mengarah pada eksositosis insulin. Selain glukosa, beberapa asam amino dan asam lemak bebas juga memiliki peran modulator (Deacon & Ahrén, 2011; Komatsu et al., 2013; Littler et al., 2010; Prentki et al., 2013). Selain itu, kapasitas sekresi insulin dari sel  $\beta$  sebagian besar dipromosikan oleh hormon *incretin* yang dikeluarkan melalui usus, seperti *glukagon-like peptide-1* (GLP-1) dan *glucose insulinotropic peptide* (GIP). Diperkirakan bahwa *incretin* bertanggung jawab atas lebih dari setengah insulin yang beredar. Peningkatan pelepasan hormon ini biasanya terjadi setelah makan dimana hal tersebut dapat menambah respon daripada sekresi insulin di sel  $\beta$  pankreas terhadap glukosa dan beberapa nutrisi lainnya (Deacon & Ahrén, 2011).

#### **2.1.6. Peran AMPK dalam Diabetes melitus Tipe 2**



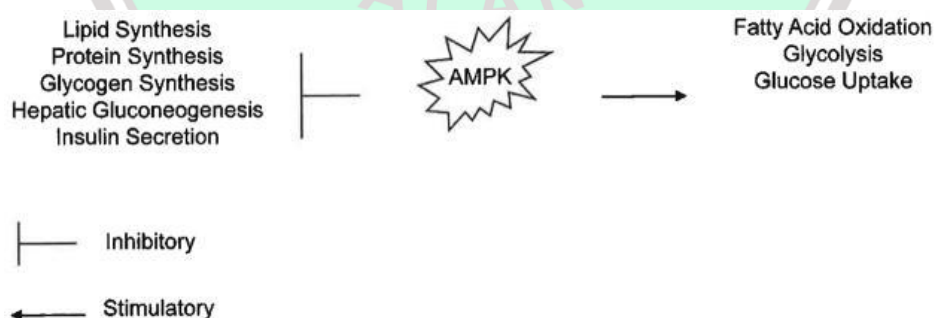
**Gambar 2. 2** Struktur 3D AMPK- struktur ini dapat diunduh melalui website (<https://www.rcsb.org/structure/2Y8L>)

*Adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) merupakan sensor energi intraseluler yang penting dan memainkan peran yang relevan dalam homeostasis energi seluruh tubuh. AMPK diaktifkan antara lain sebagai respons terhadap kekurangan glukosa, pembatasan kalori, dan peningkatan aktivitas fisik. Setelah aktivasi, AMPK mempengaruhi jalur metabolisme yang mengarah pada peningkatan pembentukan ATP dan secara bersamaan mengurangi proses yang memakan ATP. AMPK juga diekspresikan dalam sel  $\beta$  pankreas dan sebagian besar diatur oleh glukosa, yang merupakan stimulator fisiologis utama sekresi insulin (Chen *et al.*, 2021; Szkudelski & Szkudelska, 2019).

*Adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) merupakan golongan dari famili serin/treonin kinase. AMPK merupakan protein heterotrimer dimana AMPK terdiri dari tiga subunit  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$ . Masing-masing subunit memiliki struktur dan fungsi tertentu. Mekanisme



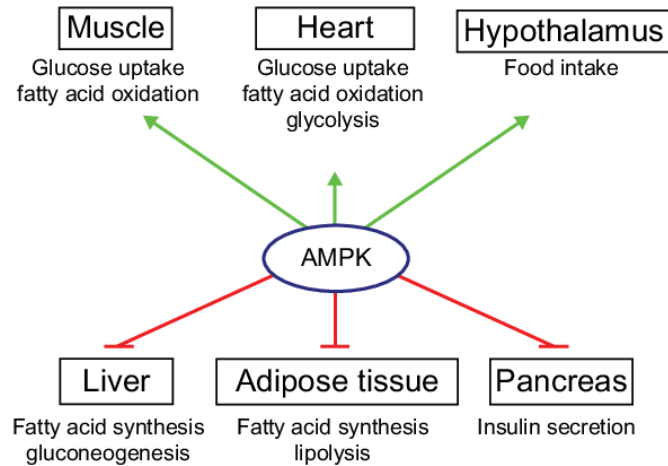
berikut menjelaskan cara kerja ketiga subunit. Ketika sel membutuhkan energi, adenosin trifosfat (ATP) diubah menjadi adenosin difosfat (ADP) dan AMP dengan melepaskan energi secara bersamaan. Pada kondisi normal, kelebihan AMP berikatan dengan subunit AMPK. Setelah pengikatan subunit  $\gamma$  pada situs aktif terekspos, Thr172, pada subunit  $\alpha$  AMPK akan terfosforilasi. Dari ketiga subunit, subunit  $\alpha$  merupakan yang paling penting dimana aktivasi AMPK mengikuti perubahan konformasi subunit  $\alpha$  dan fosforilasi pada Thr172. Fosforilasi diinduksi oleh molekul sinyal *upstream* seperti *liver* kinase B1 (LKB1). Subunit  $\beta$  terletak di antara subunit  $\alpha$  dan  $\gamma$  yang berhubungan dengan fungsi dari sensor glikogen. ADP juga dapat mengikat subunit dan melindungi AMPK dari defosforilasi tetapi tidak dapat menyebabkan perubahan konformasi (Tang & Chen, 2014). AMPK dalam keadaan aktif bertanggung jawab atas penghambatan proses anabolik termasuk sintesis lipid, protein dan glikogen dan aktivasi proses katabolik seperti oksidasi asam lemak dan glikolisis (Gambar 2.2). Inaktivasi AMPK telah terlibat dalam berbagai gangguan metabolisme manusia dan mencerminkan pentingnya sebagai target terapeutik.



**Gambar 2. 3** Aktivasi AMPK – efek yang ditimbulkan ketika AMPK teraktivasi, dapat menstimulasi dan juga menginhibisi (M. Cabarcas *et al.*, 2010)

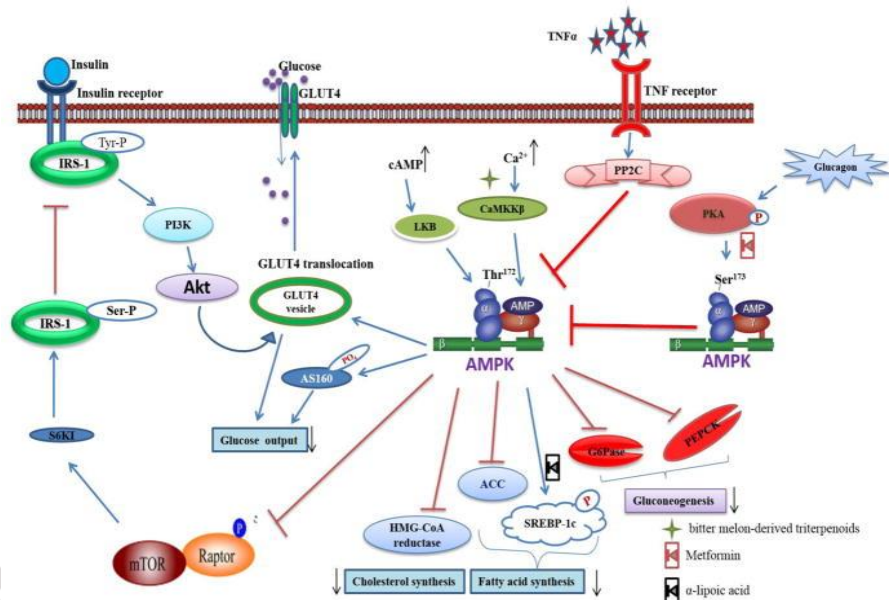
Karena AMPK adalah pengatur metabolisme utama dan dikaitkan dengan sindrom metabolik, peran potensial yang dimainkannya dalam perkembangan diabetes tipe 2 juga menjadi bidang penyelidikan. Diabetes tipe 2 adalah epidemi utama di seluruh dunia yang ditandai dengan resistensi insulin dan penurunan sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas (M. Cabarcas *et al.*, 2010).

Ketergantungan yang kuat dari proses sekresi insulin pada status energi sel  $\beta$  menimbulkan pertanyaan tentang potensi keterlibatan regulasi AMPK, sensor energi intraseluler, dalam pelepasan hormon ini (Szkudelski & Szkudelska, 2019). AMPK telah terlibat dalam mengatur banyak proses yang berkaitan dengan biologi sel  $\beta$ . Efek ini baru-baru ini secara luas dikarakterisasi oleh Rourke *et al* (2018) dimana pada hasil studi *in vitro*, menggunakan pulau pankreas terisolasi, sel  $\beta$  dan pankreas terisolasi, menunjukkan hubungan antara AMPK dan sekresi insulin. AMPK dalam sel  $\beta$  dipengaruhi oleh berbagai agen anti-diabetes (Rourke *et al.*, 2018).



**Gambar 2. 4** Aktivasi AMPK – ketika AMPK teraktivasi maka dapat berefek pada beberapa jaringan dalam tubuh seperti hati, jantung, otot rangka, pankreas hipotalamus dan jaringan lemak (Yuan et al., 2019)

Pada otot rangka, aktivasinya merangsang penyerapan glukosa, oksidasi *fatty acid* (FA), jenis transporter glukosa (GLUT4) translokasi, dan biogenesis mitokondria, sambil menghambat sintesis protein dan glikogen. Demikian pula, di otot jantung dan di hati, aktivasi AMPK merangsang terjadinya *uptake* glukosa, oksidasi FA, dan glikolisis. Selain itu aktivasi AMPK di hati juga menghambat terjadinya glukoneogenesis, pembentukan kolesterol, dan protein sintesis. Di jaringan adiposa, AMPK yang teraktivasi merangsang pembentukan oksidasi FA, mengurangi sintesis dan lipolisis FA. AMPK menghambat sekresi insulin berlebih dari sel pancreas, dan itu memberi isyarat kepada otak meningkatkan asupan makanan di hipotalamus. Hampir semua efek fisiologis aktivasi AMPK perifer akan bermanfaat bagi pasien dengan T2D. Untuk alasan ini, aktivasi farmakologis AMPK telah menjadi target yang tampaknya menjanjikan untuk penemuan dan pengembangan obat selama 2 dekade terakhir (Y. H. Lu et al., 2020; Yuan et al., 2019).



**Gambar 2. 5** Jalur pensinyalan AMPK – AMPK teraktivasi melalui beberapa jalur yang melibatkan GLUT2 dan GLUT4 sebagai transporter glukosa dalam meningkatkan *uptake* glukosa yang pada akhirnya akan menurunkan risiko terjadinya resistensi insulin (Nandipati *et al.*, 2017).

AMPK meningkatkan ekspresi GLUT4 sehingga meningkatkan ambilan glukosa dalam sel (Gambar 2.3). AMPK juga berkontribusi pada kontrol glukosa dengan mengurangi glukoneogenesis melalui penekanan ekspresi gen glikolitik yang mengkode *fosfoenol piruvat karboksiginase* (PEPCK) dan *glukose-6-fosfatase* (G6Pase) (Nandipati *et al.*, 2017). AMPK meningkatkan sensitivitas insulin baik dengan mengatur PI3K secara langsung atau dengan menekan loop umpan balik negatif regulasi IRS1 melalui penghambatan mTOR / S6K (Tao *et al.*, 2010). Seiring dengan mengatur pensinyalan insulin, AMPK adalah kinase hulu untuk enzim metabolik seperti asetil-KoA karboksilase (ACC) dan HMG-CoA reduktase. Ini juga mengatur sintesis asam lemak dan memainkan peran potensial dalam steatosis hati (Li *et al.*, 2012). Protein kinase A yang dimediasi glukagon (PKA) meningkatkan fosforilasi penghambatan AMPK Ser173 dan mengurangi fosforilasi pengaktifan AMPK Thr172

dalam regulasi pensinyalan insulin (Aw *et al.*, 2014). Metformin, merupakan agen biguanide yang mengaktifkan AMPK Thr172 melalui penghambatan fosforilasi AMPK Ser173 oleh PKA dan meningkatkan aktivasi AMPK yang dimediasi LKB1 (Nandipati *et al.*, 2017).

Ekspresi AMPK yang teraktivasi menurunkan inflamasi sehingga menurunkan resistensi insulin (Jeong *et al.*, 2009; Sag *et al.*, 2008). Stimulasi sinyal inflamasi turun mengatur aktivitas AMPK (Sag *et al.*, 2008). Penurunan ekspresi/aktivitas AMPK dalam sel inflamasi pada obesitas berpotensi menyebabkan perkembangan diabetes yang diinduksi inflamasi (Viollet *et al.*, 2010). Sitokin pro-inflamasi, TNF $\alpha$ , mengurangi fosforilasi AMPK Thr172 yang dilaporkan menekan aktivasi AMPK melalui protein fosfatase 2C (PP2C) (Steinberg *et al.*, 2006). Peningkatan TNF $\alpha$  menyebabkan inaktivasi AMPK yang dimediasi PP2C, yang meningkatkan kadar asam lemak dan berpotensi resistensi insulin (Galic *et al.*, 2011).

AMPK mengatur homeostasis insulin dengan mengurangi fosforilasi mTOR di sitoplasma. Peningkatan pensinyalan mTOR telah terlibat dalam patogenesis obesitas dan perkembangan resistensi insulin pada sindrom metabolik dan modulasi pensinyalan mTOR dapat menekan resistensi insulin dan DMT2 (Khamzina *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2016). Gangguan pensinyalan mTORC1 pada makrofag mengurangi inflamasi dan insulin resistensi dengan menghambat aktivasi jalur JNK / NF $\kappa$ B pada obesitas (Jiang *et al.*, 2014). Interaksi antara jalur pensinyalan NF- $\kappa$ B dan aksis AMPK/mTOR/*autophagy* hati dalam kaitannya dengan steatosis hati

dan resistensi insulin juga telah dibahas (Zeng *et al.*, 2016). Peran menekan lipogenesis yang dimediasi mTOR/SREBP-1 di hati dan memulihkan sinyal insulin di otot rangka juga telah ditunjukkan (H. W. Liu *et al.*, 2016). Studi ini menunjukkan peran mTOR dalam patogenesis resistensi insulin. Memahami pensinyalan mTOR dapat memberikan terapi dan intervensi di masa depan melawan obesitas, resistensi insulin, dan diabetes (Nandipati *et al.*, 2017).

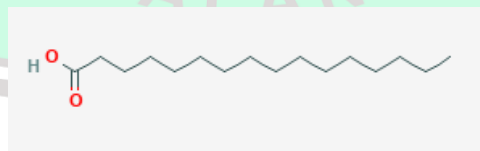
Sebagian besar obat anti-diabetes dilaporkan sampai saat ini menargetkan dan mengaktifkan AMPK secara tidak langsung dengan menghambat Kompleks mitokondria I. Efek samping dari obat yang ada dapat dihilangkan dengan mengidentifikasi agen anti-diabetes yang dapat mengaktifkan AMPK secara langsung tanpa mempengaruhi respirasi mitokondria (Iseli *et al.*, 2013). Meskipun aktivasi AMPK otot dan hati menguntungkan dalam hal pengambilan glukosa, aktivasi di pankreas menghambat sekresi insulin yang dirangsang glukosa dan fungsi sel  $\beta$  *in vivo* (Nandipati *et al.*, 2017). Pengobatan dengan *Astragalus polysaccharide* menginduksi fosforilasi AMPK Thr172 bersama dengan hulu kinase CaMKK $\beta$  dan LKB1 dan menghasilkan peningkatan pengambilan glukosa (J. Liu *et al.*, 2013). Karena penghambatan AMPK $\alpha$ 1 spesifik sel satelit terlibat dalam degenerasi otot yang diinduksi oleh obesitas, mencegah penghambatannya dan meningkatkan aktivasi AMPK mungkin berguna (Fu *et al.*, 2016).

Singkatnya, AMPK adalah pengatur positif pengambilan glukosa dan aktivitasnya tergantung pada keadaan fosforilasi dan molekul

inflamasi adalah kontributor utama fosforilasi penghambatan AMPK. Selain molekul inflamasi, kinase yang memediasi sintesis sitokin inflamasi juga dianggap sebagai sumber fosforilasi penghambat AMPK. Jadi penurunan aktivasi AMPK menyebabkan aktivasi jalur pensinyalan pro-inflamasi hilir seperti IKK, PKCs, MAPK (ERK, JNK, p38) dan menghasilkan resistensi insulin yang diinduksi oleh obesitas (Nandipati *et al.*, 2017).

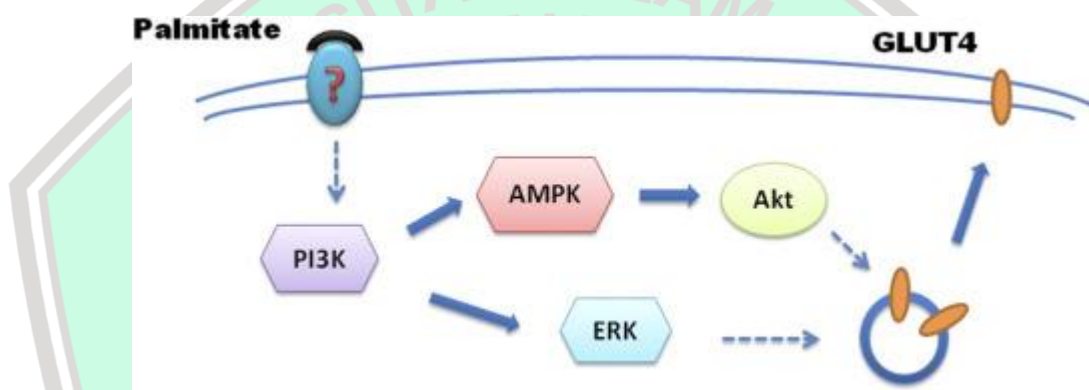
## 2.2 Palmitic Acid

*Palmitic acid* (PA) atau asam heksadekanoat adalah salah satu asam lemak jenuh yang paling banyak ditemukan dalam tumbuhan, manusia, hewan, mikroba (bakteri), jamur, dan organisme laut, membentuk sekitar 16 sampai 45% dari profil lipid. PA dicirikan sebagai rantai atom karbon 16 dengan tidak adanya ikatan rantai C-C ganda (C16:0) dan memiliki formula kimia C<sub>16</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub> (Gambar 2.6). PA dapat bersifat hidrofobik maupun hidrofilik, mengandung karboksil asam (-COOH) dan gugus fungsi ujung metil (-CH<sub>3</sub>) masing-masing (Johnson & Abugri, 2014). PA diketahui memiliki massa molekul dan titik leleh sebesar 256,42 g mol<sup>-1</sup> (O'Neil, 2013).



**Gambar 2. 6** Struktur 2 dimensi *Palmitic acid* – terdiri atas rantai C-C ganda, hidrogen (H), serta oksigen (O<sub>2</sub>) (Pubchem, 2012)

PA memiliki banyak fungsi, melampaui fungsi seluler sebagai prekursor untuk sintesis asam lemak rantai lebih panjang dan sebagai sumber energi selama proses oksidasi. Selain itu, PA termasuk salah satu komponen penting untuk makanan, kosmetik, farmasi, bioteknologi dan industri biodiesel (Johnson & Abugri, 2014). PA juga diketahui berhubungan dengan teraktivasinya AMPK, induksi translokasi GLUT4 dan *uptake* glukosa ke seluler (Pu *et al.*, 2011). Mekanisme ini diimplementasikan sesuai gambar berikut.



**Gambar 2. 7** *Palmitic acid* menstimulasi aktivasi jalur transduksi sinyal AMPK – senyawa *palmitik acid* merangsang terjadinya penyerapan glukosa melalui jalur PI3K/AMPK/Akt (Pu *et al.*, 2011)

Gambar diatas menjelaskan Jalur PI3K/AMPK/Akt dan PI3K/ERK1/2 dalam memediasi penyerapan glukosa yang dirangsang oleh PA. Menanggapi palmitat terikat membran plasma, sinyal ditransduksi oleh aktivasi PI3K/AMPK/Akt dan PI3K/ERK1/2, yang pada gilirannya menyebabkan translokasi GLUT4 ke membran plasma dan pengambilan glukosa dalam sel otot rangka (Pu *et al.*, 2011).

Penelitian lain yang dilakukan oleh Palomer dan teman-teman (2018) menunjukkan ternyata senyawa *palmitic acid* justru dapat memediasi terjadinya resistensi insulin melalui penghambatan aktivasi



AMPK. Hal tersebut terjadi karena *palmitic acid* merupakan salah satu golongan *free fatty acids* (FFA) yaitu *saturated fatty acids* (SFA). Diketahui peningkatan FFA merupakan faktor resiko terjadinya resistensi insulin. Kelebihan FFA dalam darah menyebabkan peningkatan akumulasi metabolit lipid di hati dan otot rangka. Selanjutnya, FFA dan metabolitnya juga dapat mengganggu regulasi pensinyalan insulin, menghambat *uptake* glukosa dan glikogen yang dirangsang oleh sintesis insulin (Chabowski *et al.*, 2013; Palomer *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2019).

Pada tumbuhan, distribusi asam palmitat bervariasi baik dalam spesies dan antar spesies. Dalam laporan terbaru kandungan PA dapat dipengaruhi oleh lingkungan di mana tanaman tersebut tumbuh. Sebagian besar faktor yang berkontribusi terhadap variasi ini adalah pH tanah, interaksi ion-hara, umur, air, dan interaksi inang. Misalnya variasi telah diamati pada kandungan PA tanaman (Tabel 2.1). Pada penelitian sebelumnya ada beberapa tumbuhan yang disebutkan mampu menjadi antidiabetik diantaranya *Clinacanthus nutans*, *Malva sylvestris*, *Sorghum bicolor* (Guinea corn) red dan *Raphidhopora pinnata* Schoot. Perbandingan kadar PA dalam berbagai tumbuhan tersebut, tertera dalam tabel berikut:

**Tabel 2. 1** Perbandingan kadungan senyawa *Palmitic acid* (PA) antara tumbuhan-tumbuhan yang berpotensi antidiabetik

No.	Tumbuhan	Bagian tumbuhan	Ekstrak	Kadar PA%	Referensi
1.	<i>Clinacanthus nutans</i>	Daun	Ekstrak methanol, fraksi dichloromethane	23.84%	(Ismail et al., 2020)
2.	<i>Malva sylvestris</i>		Ekstrak Methanol	9.79%	(Barros et al., 2010)
3.	<i>Sorghum</i>		Ekstrak	16.17%	(Abugri)

	<i>bicolor</i> (Guinea corn) red		methanol		et al., 2013)
4.	<i>Raphidhopora</i> <i>pinnata</i> <i>Schoot</i>		Ekstrak methanol	2.06%	(Sahuleka et al., 2018)

Tabel diatas menjelaskan perbandingan kadar senyawa PA yang terkandung dalam beberapa tumbuhan, dimana masing-masing tumbuhan di ekstrak kemudian dianalisis hasilnya. Kadar PA tertinggi terdapat pada ekstrak daun *Clinacanthus nutans* sebesar 23.84%, diikuti dengan *Malva sylvestris* 9.79%, *Sorghum bicolor* (Guinea corn) red 16.17%, dan *Raphidhopora pinnata Schoot* 2,06% sebagai konsentrasi terendah.

### 2.3. *Clinacanthus nutans*

#### 2.3.1. Taksonomi

*Clinacanthus nutans* (CN) Lindau adalah salah satu spesies penting dari family *acanthaceae* dan telah digunakan sebagai obat herbal di Asia tropis. Nama vernakuler dari tanaman ini dalam bahasa Inggris adalah *snake grass*; Belalai gajah, *sabah snake grass* di Malaysia; dandang gendis, ki tajam (Sunda) di Indonesia; phaya yo, phaya plongtong di Thailand; *twist of flower*, *alligator flower*, *e zuihua* di Cina. *Clinacanthus burmanni* Nees, *Clinacanthus burmanni* var. *robinsonii* Benoist adalah sinonim dari *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau. Secara taksonomi, tanaman ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Alam *et al.*, 2016).

*Kingdom: Plantae*

*Phylum: Magnoliophyta*

*Class: Magnoliopsida*

*Subclass: Asteridae*

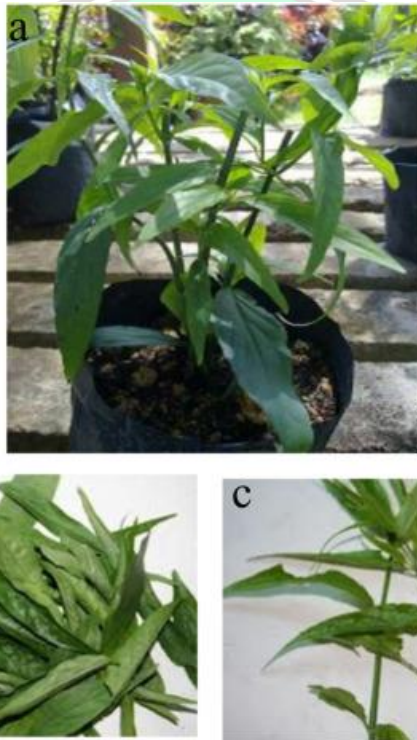
*Order: Lamiales*

*Family: Acanthaceae*

*Genus: Clinacanthus*

*Species: Clinacanthus nutant (Burn.f.) Lindau*

### 2.3.2. Morfologi



**Gambar 2. 8 Tanaman Dandang Gendis** (a) seluruh tanaman (b) daun (c) daun dengan batang (Alam et al., 2016)

*Clinacanthus nutans* merupakan tumbuhan yang dapat tumbuh hingga 1 m tinggi dengan cabang puber, batang silinder, beruas dan berserat. Daunnya sederhana, berbentuk elips-lonjong sempit (panjang 2,5–13,0 cm × lebar 0,5–1,5 cm) dan ujung daun berbentuk runcing. Tangkai daun berkisar 0,3–2,0 cm. Bunga-bunganya berwarna kuning atau hijau dan padat berbentuk seperti payung (*cymes*) di bagian atas cabang

Kelopak bunga sepanjang sekitar 1 cm. Mahkota bunga berwarna merah kusam dengan alas hijau, dengan panjang sekitar 3,0–4,2 cm (Alam *et al.*, 2016).

### 2.3.3. Distribusi

Distribusi geografis merupakan salah satu faktor yang memberikan dampak pada keragaman genetik spesies. Dimana famili *Acanthaceae* sebagian besar terdiri dari tanaman herbal dan semak-semak. CN tersebar secara luas di beberapa wilayah Asia seperti, Cina Selatan, Thailand, Vietnam, Malaysia dan Indonesia (Chelyn *et al.*, 2014). Tanaman ini hidup di habitat liar dan dibudidayakan, termasuk padang rumput, lereng bukit, semak belukar, lembah, daerah pesisir dan hutan lebat dan terbuka. *Clinacanthus nutans* memiliki berbagai persebaran geografis ditandai dengan keragaman genetik yang tinggi pada tingkat spesies (Schoettle *et al.*, 2011).

### 2.3.4. Senyawa Bioaktif

*Clinacanthus nutans* telah dilaporkan memiliki berbagai senyawa bioktif seperti fenolat, terpenoid, dan beberapa senyawa bioaktif lainnya, seperti benzenoid, serebrosida, glikogliserolipid, glikosilgliserida, asam lemak, klorofil. turunan, fitosterol, dan glukosida yang mengandung sulfur yang berkontribusi pada keanekaragaman hayati yang beragam (Aslam *et al.*, 2014).

**Tabel 2. 2** Hasil analisis senyawa GC-MS fraksi *Dichloromethane extract* (CN-Dcm) dari ekstrak daun *Clinacanthus nutans* (Ismail *et al.*, 2020).

Peak	Compound	Retention Time	Molecular Formula	Similarity Index	Peak Percentage (%)
1	Methyl beta-D-glucopyranoside	9.028	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>	90	0.97
2	Methyl 4-hydroxycinnamate	9.514	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	91	3.81
3	Methyl trans-3-hydroxycinnamate	10.077	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub>	94	11.37
4	Methyl palmitate	10.96	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	99	1.55
5	Palmitic acid	11.133	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	99	23.84
6	10,13-Octadecadienoic acid, methyl ester	11.807	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	99	0.92
7	Methyl linolenate	11.842	C <sub>19</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	99	5.86
8	Phytol	11.891	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	80	0.60
9	Methyl stearate	11.926	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	99	0.53
10	Linolenyl alcohol	12.023	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O	95	29.10
11	Octadecanoic acid	12.078	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	99	6.15
12	2-(((2-Ethylhexyl)oxy)carbonyl)benzoic acid	14.045	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	91	14.51
13	Glyceryl 2-linolenate	15.053	C <sub>21</sub> H <sub>36</sub> O <sub>4</sub>	99	0.44
14	Oleamide	15.706	C <sub>18</sub> H <sub>35</sub> NO	90	0.34

Tabel diatas merangkum 14 komponen yang teridentifikasi dalam fraksi CN-Dcm dengan rumus molekul, persentase puncak, dan indeks kesamaan. Senyawa diidentifikasi dengan mengacu pada senyawa yang sesuai dan tersedia di perpustakaan Institut Nasional Standar dan Teknologi *National Institute of Standards and Technology* (NIST); indeks kesamaan minimal 80% diperlukan untuk identifikasi. Analisis *Gas Chromatography–Mass Spectrometry* (GC-MS) mengungkapkan adanya dua komponen utama: *linolenyl alcohol* (29,10%) dan asam palmitat (23,84%) dan juga dilakukan *molecular docking* dengan ID PubChem 985 (Ismail *et al.*, 2020)

### 2.3.5. Efek Teurapeutik

*Clinacanthus nutans* (Burm. F.) Lindau, merupakan tanaman obat yang banyak digunakan yang tersebar di negara-negara tropis Asia dan Asia Tenggara. *Clinacanthus nutans* (CN), dengan spektrum aktivitas farmakologisnya yang luas, secara tradisional digunakan untuk mengobati kanker, gangguan inflamasi, diabetes, gigitan serangga, dan masalah kulit, dikonsumsi sebagai sayuran, dicampur dengan jus segar, dalam ramuan,

dan sebagai tumbuhan utuh. (Kamarudin *et al.*, 2017) Tanaman ini biasanya dibudidayakan sebagai tanaman pagar. Selain itu, daun muda CN dapat dikonsumsi sebagai sayuran untuk kesehatan (Shim *et al.*, 2013). Meski kurang spesifik mengenai dosis tradisional CN yang digunakan, daunnya biasa disajikan sebagai minuman dingin dengan mencampurkannya dengan cairan seperti jus tebu, jus apel, dan teh hijau, atau direbus dengan air panas air untuk dikonsumsi sebagai minuman herbal (Aslam *et al.*, 2014; Shim *et al.*, 2013). Di Malaysia, daun segar CN biasanya dikonsumsi sebagai teh herbal untuk mengobati kencing manis, ruam kulit, dan demam serta sebagai diuretik (Shim *et al.*, 2013). Di Thailand, ekstrak alkohol dari daun segar CN adalah obat herbal tradisional yang terkenal digunakan pengobatan virus herpes simpleks dan lesi virus varicella-zoster (Kongkaew dan Chaiyakunapruk, 2011; Sakdarat *et al.*, 2009; Yarnell dan Abascal, 2005).

#### **2.3.6. Uji Toksisitas**

Uji toksisitas adalah uji yang digunakan untuk mendeteksi efek toksik terhadap suatu zat pada system biologi dan untuk memperoleh data dosis-respon yang khas dari sediaan uji. Uji toksisitas biasanya menggunakan hewan uji sebagai model berguna untuk melihat adanya reaksi biokimia, fisiologik dan patologik pada manusia terhadap suatu sediaan uji (BPOM RI, 2020).

Uji toksisitas terbagi menjadi 3 yaitu uji toksisitas akut, subkronis dan kronis. Uji toksisitas akut merupakan uji yang terjadi segera (jam/hari) setelah pemberian dosis tunggal atau serangkaian dosis dalam periode 24

jam kemudian diamati selama 14 hari. Uji toksisitas subkronis merupakan suatu pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi efek toksik yang muncul setelah pemberian sediaan uji dengan dosis berulang selama beberapa minggu atau bulan. Uji toksisitas kronis merupakan uji dengan menilai kerusakan kumulatif pada sistem organ tertentu dan membutuhkan waktu berbulan-bulan atau tahun untuk menjadi penyakit klinis yang dapat dikenali (Woolley, 2008).

Salah satu penelitian sebelumnya (Alam *et al.*, 2016) mengenai uji toksisitas akut dari tanaman CN dimana tikus betina Sprague Dawley diberikan selama 14 hari pemberian ekstrak metanol daun CN secara oral dengan dosis 300 mg/kg, 600 mg/kg dan 900 mg/kg dan hasilnya tidak menunjukkan efek toksikologi pada hati dan ginjal yang dapat menyebabkan cedera (P'ng *et al.*, 2013). Pengaruh ekstrak metanol tanaman ini pada aktivitas enzim asetilkolinesterase yang bertanggung jawab untuk menghentikan transmisi saraf kolinergik dengan menghidrolisis asetilkolin menjadi kolin dan asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol daun *C. nutans* dosis 250 mg/kg, 500 mg/kg dan 1000 mg/kg dosis terhadap aktivitas *Acetylcholinesterase* (AChE) pada Balb/C jantan mampu memodulasi neurotransmisi kolinergik dengan mengaktifkan aktivitas AChE di ginjal tikus, hati dan jantung. Dilaporkan bahwa ekstrak etanol daun CN pada dosis tertinggi 1,3 g/kg yang diberikan secara oral, subkutan atau intraperitoneal tidak menghasilkan tanda-tanda toksisitas akut pada mencit (Alam *et al.*, 2016).

#### 2.4. Analisis *In Silico* dengan metode *Molekular Docking*

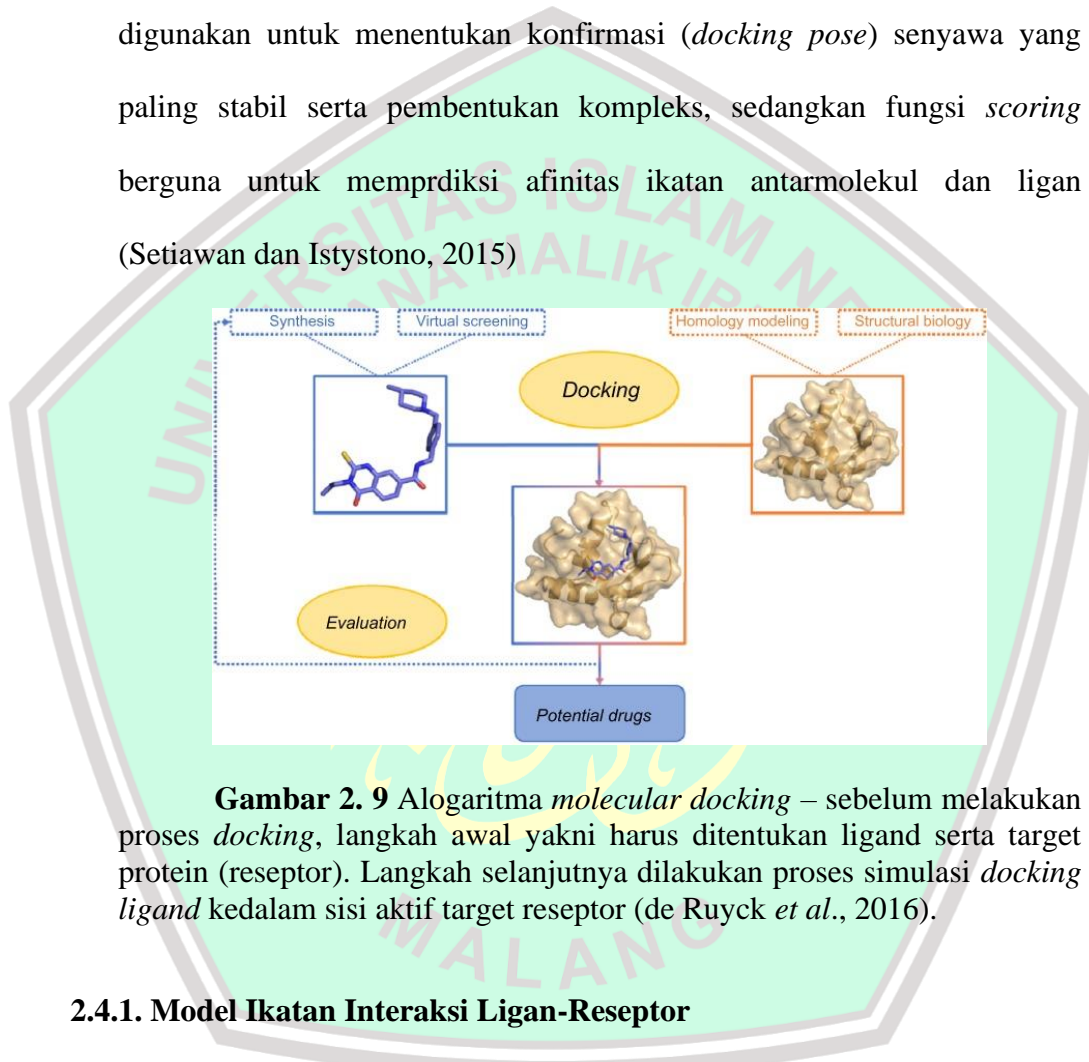
*In silico* merupakan metode untuk mendesain senyawa obat menggunakan bantuan perangkat komputer (Atmajani *et al.*, 2019). metode *in silico* digunakan untuk penemuan obat baru melalui *Structure Based Drug Design* (SBDD). SBDD dimulai melalui struktur target molekuler seperti reseptor, kemudian dilakukan pendekatan secara *in silico* untuk mengidentifikasi ligan yg berpotensi untuk di lakukan penambatam dengan struktur target protein tersebut (Ferreira *et al.*, 2015).

Belakangan ini *molecular docking* telah menjadi metode yang digunakan dalam menemukan obat baru. *Molecular docking* merupakan suatu perangkat dengan menggunakan metode komputasi yang dapat memprediksi struktur ikatan kompleks antara ligan-reseptor. *Docking* dapat dicapai melalui dua langkah yang saling terkait: pertama dengan penyatuan konformasi ligan di situs aktif protein; kemudian setelah itu, dilakukan fungsi penilaian dengan menyajikan data tingkatan afinitas ikatan ligan-reseptor (Meng *et al.*, 2011). *Molecular docking* merupakan salah satu metode *in silico* yang digunakan dalam proses penemuan obat (Setiawan dan Istyastono, 2015).

*Molecular docking* adalah prosedur komputasi yang mencoba untuk memprediksi pengikatan makromolekul nonkovalen atau, lebih sering, makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien, dimulai dengan struktur tak terikatnya, struktur yang diperoleh dari simulasi MD, atau pemodelan homologi, dll. Tujuannya adalah untuk memprediksi konformasi terikat dan afinitas pengikatan (*binding affinity*).



Dalam proses *molecular docking*, ada beberapa syarat yang harus terpenuhi yaitu harus memiliki struktur ligan dan struktur protein (Gambar 2.9) (Atmajani *et al.*, 2019). Dikatakan proses *molecular docking* berhasil terlihat dari dua komponen yang mendasari yakni pencarian algoritma dan fungsi *scoring* (Mukesh dan Rakesh, 2011). Penggunaan algoritma digunakan untuk menentukan konfirmasi (*docking pose*) senyawa yang paling stabil serta pembentukan kompleks, sedangkan fungsi *scoring* berguna untuk memprediksi afinitas ikatan antarmolekul dan ligan (Setiawan dan Istystono, 2015)

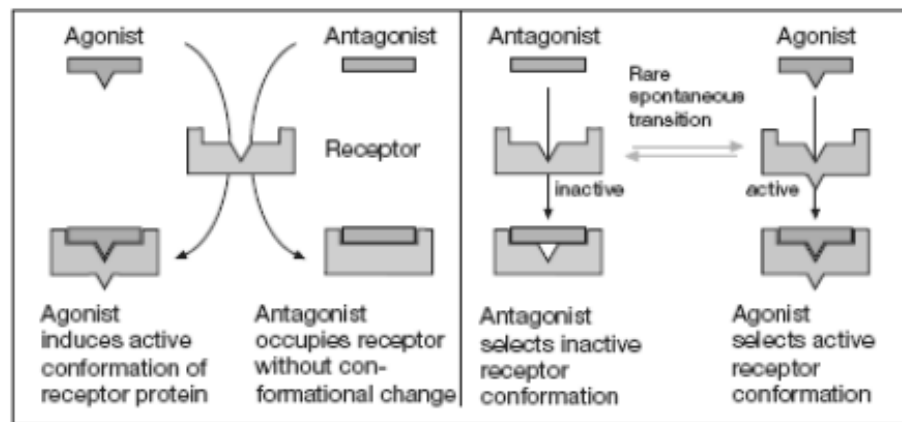


**Gambar 2. 9** Alogaritma *molecular docking* – sebelum melakukan proses *docking*, langkah awal yakni harus ditentukan ligan serta target protein (reseptor). Langkah selanjutnya dilakukan proses simulasi *docking ligand* kedalam sisi aktif target reseptor (de Ruyck *et al.*, 2016).

#### 2.4.1. Model Ikatan Interaksi Ligan-Reseptor

*Molecular docking* dapat memberikan gambaran ikatan terbaik antara ligan dan reseptor (protein), serta mencari posisi optimal dari molekul ligan sehingga cocok secara geometris dan energi dengan sisi aktif akibat pengikatan reseptor (protein target) seperti pada gambar 2.10 (Mukesh & Rakesh, 2011). Ligan adalah suatu molekul kecil yang akan

berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) yang terdapat pada protein (Adelina, 2014). Sedangkan reseptor merupakan suatu protein yang menjadi tempat dari penempelan ligan (Syahputra *et al.*, 2014).



**Gambar 2. 10** Ilustrasi *docking* – pada saat ligan menempel pada sisi aktif reseptor maka dapat membentuk sebuah ikatan agonis ataupun antagonis (Mukesh & Rakesh, 2011).

Gambar di atas menjelaskan apabila suatu ligan berikatan dengan protein reseptor akan menghasilkan suatu jenis ikatan seperti agonis dan antagonis. Dikatakan agonis ketika ligan berikatan dengan reseptor, obat tersebut menimbulkan efek. Antagonis ketika ligan yang berikatan dengan reseptor namun tidak mengaktifkan reseptor untuk menghasilkan sinyal (Grannel L, 2008). Menurut Syahputra *et al* (2014) suatu ikatan dikatakan antagonis apabila terbentuk banyak ikatan ion di dalamnya.

#### 2.4.1.1. Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen merupakan ikatan yang terjadi karena pemakaian pasangan elektron oleh dua atom atau lebih secara bersamaan. Ikatan ini terjadi akibat dari ketidakmampuan suatu atom yang akan berikatan ketika melepaskan elektron (contoh pada atom-atom non logam) (Suhardi, 2016).

Ikatan ini merupakan ikatan kimia yang paling kuat dibandingkan dengan ikatan lain (Siswodihardjo, 2016)

#### **2.4.1.2. Ikatan Ionik**

Ikatan ionik merupakan ikatan yang terbentuk akibat adanya gaya tarik menarik antara gugus ion yang memiliki muatan berlawanan (Siswodihardjo, 2016). Ikatan ion mampu menghasilkan ikatan yang kuat akibat pengaruh dari besarnya perbedaan nilai keelektronegatifan dari atom-atom yang terdapat dalam suatu senyawa (Youssef, 2019). Semakin besar perbedaan nilai keelektronegatifan, maka semakin kuat ikatan ion yang dihasilkan (Varadwaj, 2019).

#### **2.4.1.3. Ikatan Hidrogen**

Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terbentuk dari dua muatan listrik parsial yang melakukan gaya tarik antarmolekul dan memiliki polaritas berlawanan. Ikatan ini adalah ikatan terlemah di banding dengan ikatan lainnya. (Suhardi, 2016). ikatan hidrogen terbentuk ketika atom hydrogen berikatan dengan atom elektronegatif (H,F,O dan N) (Siswodihardjo, 2016).

#### **2.4.1.4. Ikatan Van der Waal's**

Ikatan van der waals adalah jenis ikatan yang terjadi akibat adanya gaya tarik antar atom atau molekul yang tidak memiliki muatan dan letaknya berdekatan. Jenis ikatan ini menghasilkan gaya yang lemah dibandingkan dengan gaya yang ditimbulkan oleh ikatan valensi (Suhardi, 2016).

#### **2.4.2. Sumber Informasi Database**

#### 2.4.2.1. PubChem

PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), disediakan oleh Pusat Informasi Bioteknologi Nasional (NCBI) Institut Kesehatan Nasional, adalah gudang publik untuk struktur kimia dan bioaktivitasnya. Software ini memiliki tiga *database* yang saling berhubungan: substansi, *bioassay* (berisi deposisi sampel kimia, hasil biologis untuk molekul kecil dan reagen RNAi) dan senyawa (mengandung struktur kimia turunan yang unik). PubChem berkembang pesat dan sekarang bisa dibilang database biologi kimia terbesar yang tersedia untuk umum dan dapat diakses secara gratis (Cheng *et al.*, 2014).

#### 2.4.2.2. Protein Data Bank

*Protein Data Bank* (PDB) merupakan *database* tunggal dari struktur 3D dari makromolekul biologis dan kompleksnya seperti asam nukleat dan protein. PDB didirikan pada tahun 1971 dan menjadi sumber daya digital akses terbuka pertama dalam ilmu biologi. Saat ini, tercatat sebanyak 130.000 struktur 3D makromolekul tersimpan di dalam database ini (Mei 2017). Database ini dikelola oleh organisasi Bank Data Protein Seluruh Dunia (wwPDB; [wwpdb.org](http://wwpdb.org)) (Andraeopsida, 2013). Database ini dapat membantu proses *molecular docking* dengan menyediakan molekul protein yang akan digunakan sebagai reseptor pada *docking* (RSCB, 2014).

#### 2.4.3. Perangkat Lunak

##### 2.4.3.1. Lipinski Rule of five (Rof)

Lipinski *Rule of five* merupakan sebuah aplikasi *software* yg dapat memprediksi aktivitas senyawa kimia dengan pemberian obat kepada

manusia dalam bentuk oral. Aplikasi ini biasanya digunakan untuk menentukan kemampuan senyawa dalam berikatan dengan reseptor target. Agar ligan dapat berikatan dengan reseptor targetnya, maka ligan yang akan digunakan harus mempunyai kemampuan untuk menembus sel. (Arwansyah, 2014). Menurut *Rule of five*, senyawa seperti obat harus memiliki berat molekul <500 g/mol, nilai log P (koefisien partisi H<sub>2</sub>O) <5 yang menunjukkan hidrofobisitasnya, *polar surface area* (PSA) <140Å, *rotatable bond* (RB) <10, donor ikatan hidrogen (HBD) <5, dan akseptor ikatan hidrogen (HBA) <10. Penelitian lainnya telah menambahkan dua kondisi baru yaitu luas permukaan kutub (PSA) ≤ 140 Å dan *rotatable bond* (RB) <10 (Chagas *et al.*, 2018).

#### **2.4.3.2. Pymol**

Pymol merupakan alat komputasi visualisasi molekuler terintegrasi berbentuk *software* dengan anotasi struktur asam nukleat bergambar 3 Dimensi (3D). *Software* ini membuat representasi blok skematik mikromolekul maupun makromolekul dalam beragam gaya dan warna (X. J. Lu, 2020). Pymol dapat memvisualisasikan molekul seperti asam nukleat, protein, molekul kecil dan kerapatan elektron. Tidak hanya itu, pymol dapat mengubah struktur molekul (Yuan *et al.*; 2017).

#### **2.4.3.3. Autodock Vina**

*Autodock Vina* merupakan sebuah *program open source* yang digunakan untuk *virtual screening* suatu protein-ligan (Allouche, 2012). Skrining virtual (VS) saat ini merupakan langkah standar sebelum dilakukan percobaan laboratorium dalam penemuan obat (Tanrikulu *et al.*,

2013; Zhu *et al.*, 2013). Skrining virtual melibatkan penghitungan perkiraan afinitas dan mode pengikatan yang masuk akal dari banyak kandidat obat, molekul kecil seperti obat lainnya, atau fragmen dari yang pertama saat mengikat ke protein tertentu, yang digunakan untuk daftar pendek kandidat terkemuka. *Software* ini mengimplementasikan algoritma optimalisasi yang efisien berdasarkan fungsi penilaian baru untuk memprediksi afinitas ikatan protein-ligan (Jaghoori *et al.*, 2016).

#### **2.4.3.4. UCSF Chimera**

UCSF Chimera merupakan program *software* yang digunakan dalam memvisualisasi suatu senyawa berbentuk 3D dan menganalisis suatu struktur yang terkait dengan data. UCSF Chimera dapat digunakan secara gratis untuk pengguna non-komersial. Pada situs web Chimera berisi sejumlah tutorial, dokumentasi dan contoh gambar dan animasi dapat ditemukan di: <http://rbvi.ucsf.edu/chimera/>. UCSF Chimera tersedia untuk Linux, Mac OS X dan Desktop Windows (Huang *et al.*, 2014).

#### **2.4.3.5. Discovery Studio Visualizer**

*Discovery Studio Visualizer* merupakan salah satu *software* visualisasi molekul yang dapat menggambarkan suatu struktur secara interaktif. *Software* ini dapat menghasilkan gambar 3 dimensi dengan kualitas yang tinggi pada visualisasi struktur senyawa. *Software Discovery Studio Visualizer* bisa diunduh secara gratis dan dapat digunakan bagi pengguna windows maupun linux (Accelrys Enterprise Platform, 2005).

#### **2.4.3.6. LigPlot+ 1.4.5**

LigPlot+ 1.4.5 merupakan *software* yang dapat digunakan untuk menggambarkan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor dengan visualisasi 2D yang di standar input dari file *Protein Data Bank* (PDB). Interaksi yang ditunjukkan oleh *software* LigPlot adalah interaksi yang dimediasi oleh ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik. *Software* ini dapat di unduh secara gratis dan hanya bisa di akses dengan bantuan *software JavaScript* (Wallace *et al.*, 1995).

#### 2.4.3.6. Pre-ADMET Online

Pre-ADMET merupakan web server online yang digunakan untuk memprediksi kemampuan suatu senyawa dalam mengabsorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) serta dapat menilai toksisitas senyawa tersebut. *Software* ini biasanya digunakan untuk mengoptimalkan dan mendesain obat baru (Ferreira & Andricopulo, 2019). Salah satu uji yang dianalisis dalam pre ADMET adalah Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA). Uji HIA merupakan uji yang sering digunakan dalam bidang farmakologi untuk memprediksi potensi senyawa, apakah senyawa tersebut dapat terabsorpsi oleh usus atau tidak (Shin *et al.*, 2017).

#### 2.4.3.7. Notepad++

Notepad merupakan sebuah aplikasi yang digunakan untuk mengedit sebuah kode-kode program, seperti mengubah beberapa file format kimia. *Software* ini mendukung bahasa pemrograman, beberapa diantaranya seperti XML, Java, Javascript, HTML, PDB dan lain-lain (Supono V, 2016). *Software* ini dapat diunduh secara gratis melalui <https://notepad-plus-plus.org/downloads/>

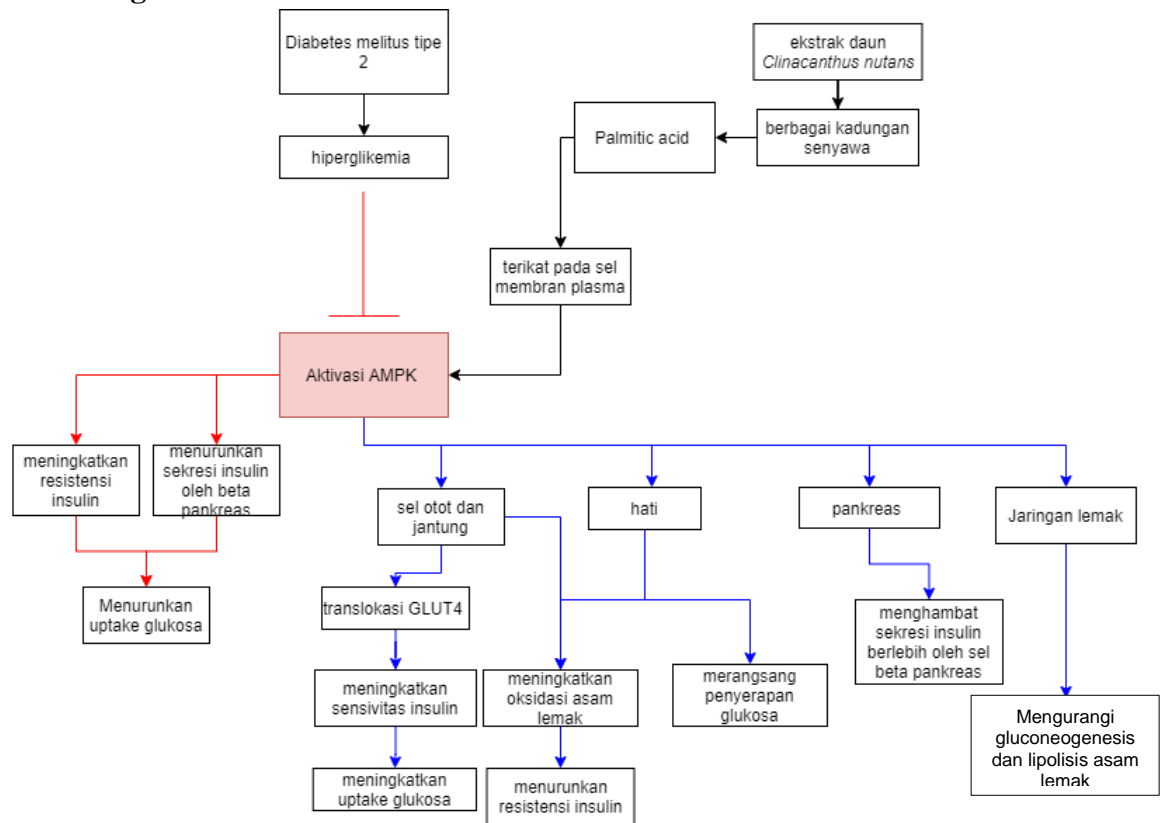
#### 2.4. Penelitian Sebelumnya

Penelitian (Ferdian *et al.*, 2016) menjelaskan bagaimana pemilihan protein AMPK di PDB melalui analisis kestabilan struktur kristal. Dijelaskan bahwa resolusi AMPK 2Y8L memiliki nilai sebesar 2.5 Å. Semakin kecil nilai yang dihasilkan semakin baik struktur suatu kristal tersebut. Lu *et al.* (2009) menjelaskan kristal makromolekul akan baik jika nilai resolusi yang dihasilkan tidak lebih dari 2.5 Å. Nilai tersebut menunjukkan bahwa AMPK 2Y8L mempunyai struktur yang baik untuk dilakukan *molecular docking*.





## 2.5. Kerangka Teori



keterangan

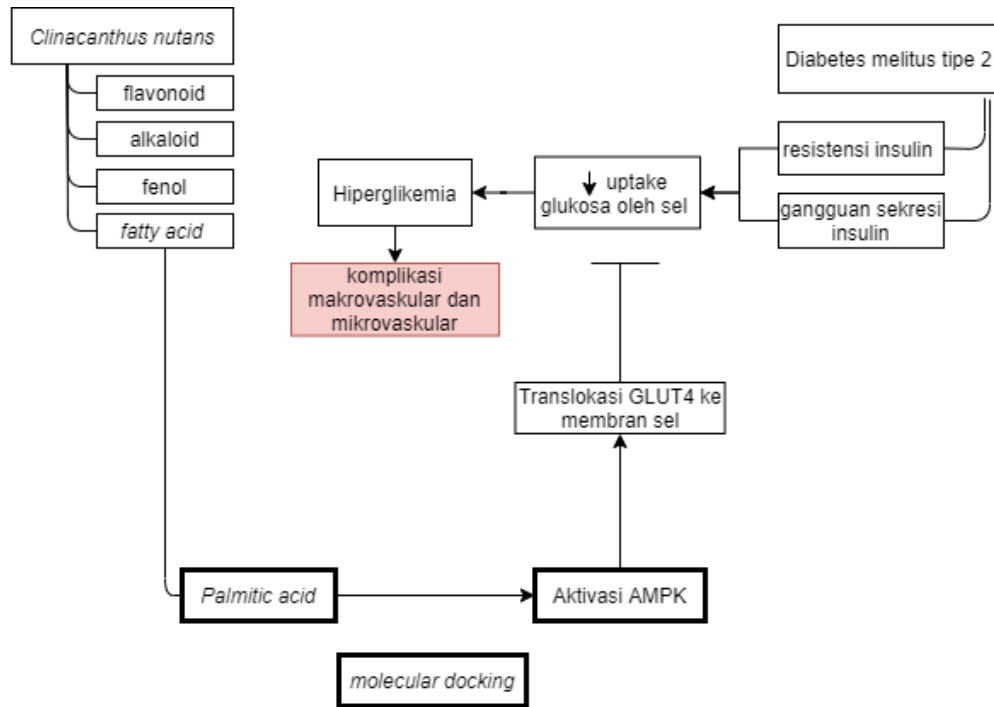
- : Menyebabkan
- | : Menghambat
- (red) : Menghambat aktivasi AMPK
- (blue) : Teraktivasinya AMPK

Gambar 2. 11 Kerangka teori

MALANG

**BAB III**  
**KERANGKA KONSEP**

**3.1 Kerangka Konsep**



Keterangan

: Diteliti

: Tidak diteliti

→ : Menyebabkan

—| : Menghambat

## Penjelasan Kerangka Konsep

Pada DMT2, terjadi resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Hal ini menyebabkan adanya penurunan *uptake* glukosa oleh sel tubuh sehingga terjadi hiperglikemia. Lama-kelamaan, pasien yang menderita DMT2 akan mengalami komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular. Salah satu target terapi pada DMT2 adalah AMPK. AMPK berperan dalam kontrol *uptake* glukosa, mengurangi gluconeogenesis, dan meningkatkan sensitivitas insulin.

Tumbuhan *Clinacanthus nutans* mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu flavonoid, alkaloid, phenolic dan *fatty acid*. *Palmitic acid* merupakan salah satu *fatty acid* terbanyak dalam tumbuhan *Clinacanthus nutans*. Ketika *palmitic acid* berikatan dengan membran plasma, terjadi transduksi sinyal dengan aktivasi AMPK. Aktivasi AMPK selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT4 ke membran plasma sehingga meningkatkan *uptake* glukosa oleh sel.

### 3.2 Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep di atas, dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

H0: Senyawa *palmitic acid* dari ekstrak tumbuhan *Clinacanthus nutans* tidak mempunyai potensi antidiabetik melalui aktivasi AMPK secara *in silico*

H1: Senyawa *palmitic acid* dari ekstrak tumbuhan *Clinacanthus nutans* mempunyai potensi antidiabetik melalui aktivasi AMPK secara *in silico*.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini berupa jenis penelitian menggunakan pola deskriptif kualitatif, yakni bertujuan untuk mengetahui binding affinity dan interaksi ikatan senyawa *palmitic acid* yang terkandung dalam tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) dalam mengaktivasi AMPK secara in silico.

#### 4.2 Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini ada tiga macam yaitu; variabel bebas, variabel terikat, serta variabel terkontrol.

##### 1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa aktif *palmitic acid* yang diunduh dari PubChem.

##### 2. Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah energi ikatan (*binding affinity*) dari hasil docking interaksi antara senyawa *palmitic acid* sebagai ligan dan AMPK sebagai reseptor serta ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor.

##### 3. Variabel Terkontrol

Variable terkontrol dalam penelitian ini adalah perangkat sistem *molecular docking*.

#### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Bioinformatika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya mulai dari bulan Agustus 2021 – September 2021

#### **4.4 Alat dan Bahan**

##### **4.4.1 Alat**

Dalam penelitian ini, penulis akan menggunakan beberapa perangkat lunak dan perangkat keras, serta database yang mendukung proses *molecular docking*, yaitu:

##### **A. Perangkat Keras**

- Laptop LENOVO dengan spesifikasi processor AMD A9-9425 RADEON R5, 5 COMPUTE CORES 2C+3G memori RAM 4 GB

##### **B. Perangkat Lunak**

- Windows
- Pymol
- UCSF Chimera
- Notepad ++
- Pre ADMET online
- Mcule (Autodock vina online)
- Swisdock

##### **C. Database**

- Protein Data Bank (PDB)
- PubChem

##### **4.4.2 Bahan**

###### **4.4.2.1 Struktur Ligan**

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini ialah *palmitic acid* sebagai ligan uji dengan kode 985 sesuai dengan penelitian yg dilakukan oleh (Ismail *et al.*, 2020), metformin sebagai ligan pembanding dengan kode 4091, AMP yang berada di struktur AMPK 2Y8L serta ATP dari kristal protein 2V92 dengan kode 5957, dimana struktur tersebut dapat diunduh dari situs <http://pubchem.ncbi.nih.gov>

#### 4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi Reseptor AMPK

Struktur AMPK 2Y8L memiliki 3 subunit yaitu  $\alpha$ ,  $\beta$ , dan  $\gamma$ . Chain yang digunakan dalam penelitian ini adalah AMPK subunit  $\gamma$  karena terdapat 3 *native ligand* yang terikat yaitu satu AMP dan dua ADP. Ligan AMP terikat pada domain CBS yang mutlak (*unexchangable*) yang hanya mengikat AMP secara natural, sedangkan dua ADP lainnya terikat pada domain CBS yang pengikatannya terhadap ligan dapat diubah secara natural. Sehingga native ligan yang digunakan disini ialah dua ADP, dengan masing-masing kode ADP 1327 dan ADP 1328 (Ferdian. Et al, 2016). Struktur Tiga Dimensi Reseptor AMPK sebagai protein reseptor antidiabetik yang dapat di unduh dari situs Protein Data Bank (PDB) <http://www.rcsb.org> dengan ID PDB (2Y8L).

#### 4.5 Definisi Operasional

Definisi operasional dalam penelitian ini adalah:

- a. *Palmitic acid* merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun *Clinacanthus nutans* yang digunakan sebagai ligan uji.
- b. Metformin adalah senyawa yang memiliki mekanisme kerja dalam mengaktivasi AMPK yang digunakan sebagai ligan pembanding.

- c. AMP adalah activator allosteric AMPK alami yang digunakan sebagai ligan pembanding.
- d. ATP merupakan senyawa inhibitor allosteric AMPK alami yang digunakan sebagai ligan pembanding.
- e. AMPK merupakan protein yang berkontribusi dalam pathogenesis DMT2 yang digunakan sebagai reseptor.
- f. Binding affinity merupakan hasil *scoring* nilai ikatan kimia yang terbentuk dari molecular docking antara *palmitic acid* dan AMPK. Nilai binding affinity memperlihatkan kestabilan antara ikatan ligan dan reseptor pada *binding site*.

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

##### **4.6.1 Preparasi ligan**

Langkah-langkah dalam melakukan preparasi ligan diantaranya:

1. *Palmitic acid* dan metformin diunduh melalui website pubchem dalam bentuk 3D dengan format \*.sdf dan dapat diakses di situs <http://pubchem.ncbi.nih.gov>
2. File ligan tersebut di buka menggunakan aplikasi Pymol atau UCSF Chimera (*software discovery studio visualizer*) dan disimpan dalam format PDB (\*.pdb)

##### **4.6.2 Preparasi Protein Reseptor**

Langkah yang dilakukan dalam menyiapkan preparasi protein reseptor, diantaranya:

1. AMPK diunduh melalui website protein data bank (PDB) dengan struktur 3D yang dapat diakses melalui situs <http://www.rcsb.org> dengan kode 2Y8L.
2. AMPK diunduh dalam bentuk format PDB file (\*.pdb).
3. File yang telah terunduh kemudian di buka melalui software pymol dan chimera.
4. Melakukan pembersihan chain yang tidak dibutuhkan dan memisahkan molekul air dari protein AMPK agar dapat digunakan dalam proses docking molekuler.
5. Menambahkan atom hidrogen kedalam AMPK untuk memberikan muatan parsial (*partial charges*).
6. Hasil akhir dalam pembersihan dan penambahan muatan parsial disimpan dalam bentuk format (\*.pdb)

#### **4.6.3 Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA)**

Prediksi absorpsi senyawa *palmitic acid* dilakukan dengan Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA) yang dapat diakses melalui situs pre ADMET online <http://preadme.bmdrc.org/>. struktur ligan yang diupload berbentuk format file (\*.mol).

#### **4.6.4 Uji *Lipinski Rule of five***

Uji ini dilakukan untuk memprediksi apakah senyawa *palmitic acid* yang dijadikan sebagai obat oral dapat bekerja aktif dan dapat masuk ke dalam sel. Dalam melakukan uji ini, dibutuhkan software pymol untuk mengubah format ligan yang telah di unduh di pubchem yang sebelumnya memiliki format file \*.sdf menjadi format file \*.pdb yang selanjutnya



disimpan. Format \*.pdb tersebut kemudian di input dalam situs <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>

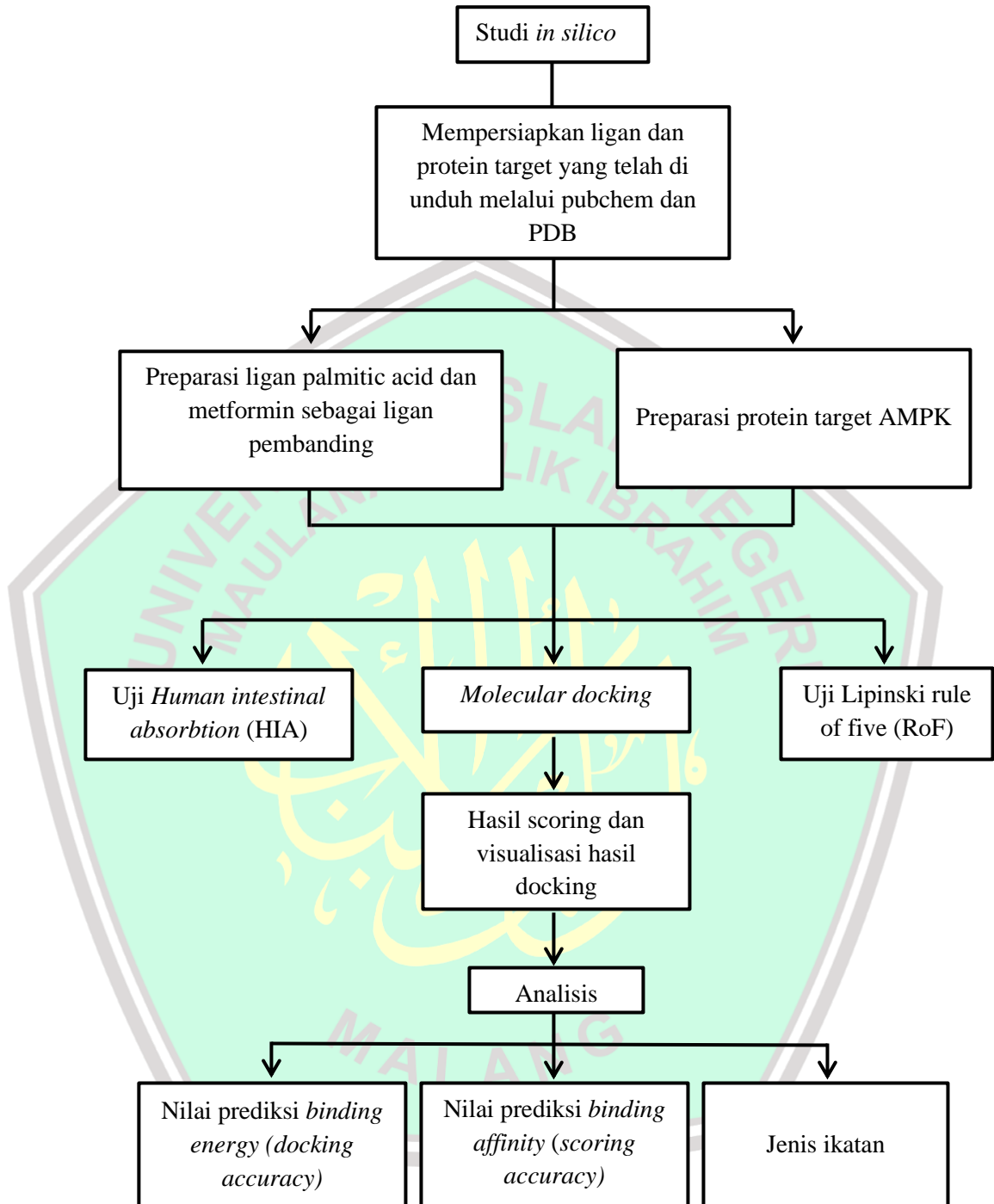
#### **4.6.5 Penambatan *Molecular Docking***

Dalam melakukan proses penambatan molecular docking menggunakan beberapa aplikasi atau *software*. Tahap pertama yang dilakukan adalah merubah format data reseptor dan ligan yang sebelumnya memiliki format \*.pdb menjadi \*.pdbqt. Tahap selanjutnya memulai proses docking dengan menggunakan *software Autodock* vna online di Mcule dengan mengatur grid sisis aktif reseptor yang selanjutnya di running. Pada akhir proses docking, hasil docking tersebut disimpan dalam format PDB dan data nilai *binding affinity* disimpan dalam Microsoft Excel.

#### **4.6.6 Visualisasi Hasil *Docking***

hasil penambatan *molecular docking* dapat divisualisasikan dalam bentuk 2D maupun 3D dengan menggunakan *software discovery studio visualizer*. Hasil visualisasi docking tersebut menggambarkan interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor.

#### 4.7 Alur Penelitian



**Gambar 4. 1** Diagram Alur Penelitian

#### 4.8 Analisis Hasil

Data yang diperoleh dari hasil uji *in silico* menggunakan metode *molecular docking* disajikan dalam bentuk deskriptif kualitatif. Data hasil analisis didapat dari hasil penambatan molekuler yang dilakukan dengan cara menganalisis ikatan yang terbentuk (*binding pose*) antar ligan dan reseptor. Selain menganalisis jenis ikatan, energi bebas (*binding affinity*) dan *binding mode* juga dianalisis untuk melihat akurasi perbandingan nilai docking antara ligan yang diujikan dan ligan pembanding. Analisis data hasil uji Lipinski dilakukan dengan cara menggolongkan ligan ke dalam 4 kriteria berikut; nilai berat molekul <500 g/mol, *polar surface area* (PSA) <140Å, donor ikatan hidrogen (HBD) <5, dan akseptor ikatan hidrogen (HBA) <10. Dalam kriteria tersebut seminimal-minimalnya 3 kriteria terpenuhi. Analisis hasil uji HIA dilihat berdasarkan pengelompokan presentase nilai yang didapat. (0-20%) dikategorikan rendah, (20-70%) kategori sedang, dan (70%-100%) kategori tinggi dalam mengabsorpsi senyawa.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian senyawa *palmitic acid* yang dilakukan dengan beberapa uji yaitu, uji *Human Intestinal Absorption* (HIA), uji *Lippinski Rule of five* (Rof) dan uji nilai *binding affinity*.

##### 5.1.1. Hasil Uji Human Intestinal Absorption (HIA)

Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA) ini dilakukan dengan menggunakan *software* pada situs *PreADMET Online*.

**Tabel 5. 1** Hasil Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA)

Nama Ligan	HIA (%)
<i>Palmitic Acid</i>	98.297110
Metformin	45.666887

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa *palmitic acid* termasuk senyawa dengan kategori eksperimental tinggi dengan nilai 98,29% dan senyawa metformin termasuk senyawa dengan kategori eksperimental sedang dengan nilai 45.66%.

##### 5.1.2. Hasil Uji Lippinski *Rule of five* (Rof)

Uji *Lippinski Rule of five* (Rof) dilakukan dengan menggunakan *software* uji *Lippinski Rule of five* (Rof) secara online di situs website.

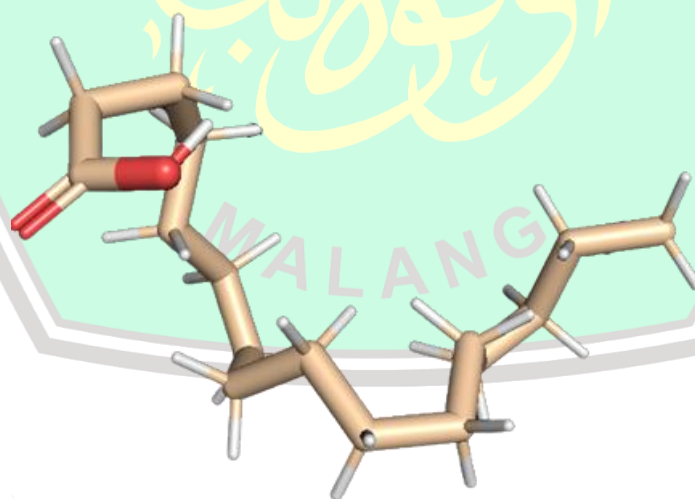
**Tabel 5. 2** Hasil Uji *Lippinski Rule of five* (Rof)

Ligan	Berat Molekul (Da)	Hydrogen Bond Donor (HBD)	Hydrogen Bond Acceptor (HBA)	LogP	Molar Refractivity
<i>Palmitic Acid</i>	256.00	1	2	5.55	77.94
Metformin	129.00	5	5	-1.24	37.22

Berdasarkan tabel diatas didapatkan data senyawa *palmitic acid* yang diperlukan dalam uji Lippinski *Rule of five* yaitu nilai berat molekul 256, *Hydrogen Bond Donor* (HBD) 1, *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) 2, nilai logP 5,55 dan *molar refractivity* 77,94 sedangkan data senyawa metformin yang diperoleh yaitu nilai berat molekul 129, HBD 5, HBA 4, nilai logP -1,24 dan *molar refractivity* 37.22.

### 5.1.3. Optimasi Struktur Tiga Dimensi Senyawa *Palmitic Acid*

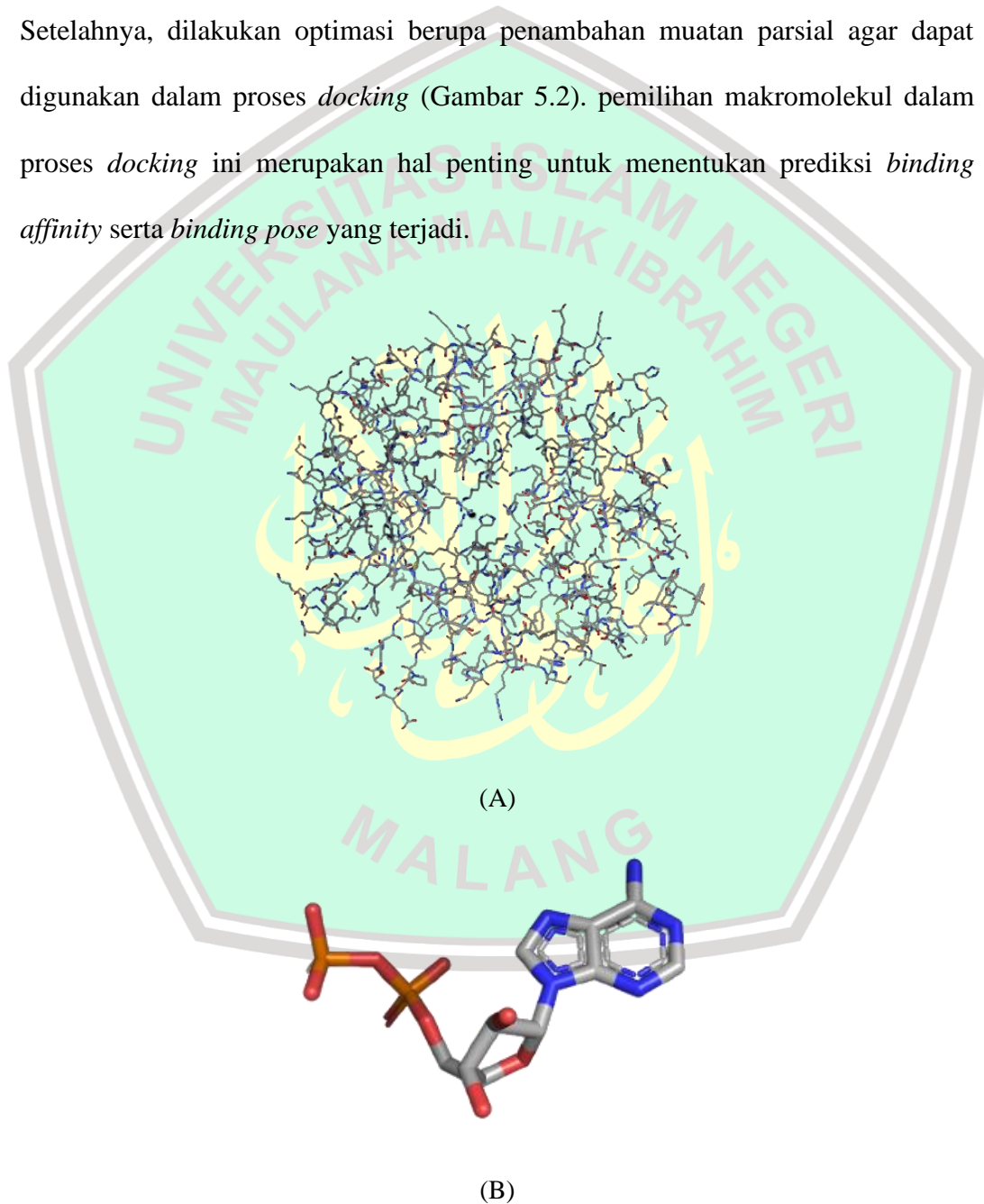
Struktur tiga dimensi senyawa uji *palmitic acid* yang diperoleh dari laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan kode 985 diunduh dan dilakukan perubahan format penyimpanan yang sebelumnya \*.sdf menjadi format \*.pdb dengan menggunakan *software Discovery Studio Visualizer* yang selanjutnya dibantu dengan *software Autodock* untuk dilakukan optimasi geometri agar mendapatkan energi terendah senyawa uji. Struktur energi yang lebih rendah menunjukkan stabilnya suatu struktur kimia.



**Gambar 5. 1** Hasil optimisasi *palmitic acid* – Senyawa *palmitic acid* yang telah mendapatkan energi terendah senyawa uji dengan bantuan *Autodock*

### 5.1.4. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Reseptor AMPK

Struktur makromolekul yang digunakan dalam proses *docking* diunduh dari laman Protein Data Bank (PDB) <https://www.rcsb.org/> dengan kode 2Y8L. Struktur makromolekul tersebut, terikat dalam bentuk molekul air dan ligan aslinya (*native ligand*). Molekul air dan *native ligand* dihilangkan dari makromolekul karena dapat mengganggu proses *docking* (Gambar 5.2). Setelahnya, dilakukan optimasi berupa penambahan muatan parsial agar dapat digunakan dalam proses *docking* (Gambar 5.2). Pemilihan makromolekul dalam proses *docking* ini merupakan hal penting untuk menentukan prediksi *binding affinity* serta *binding pose* yang terjadi.

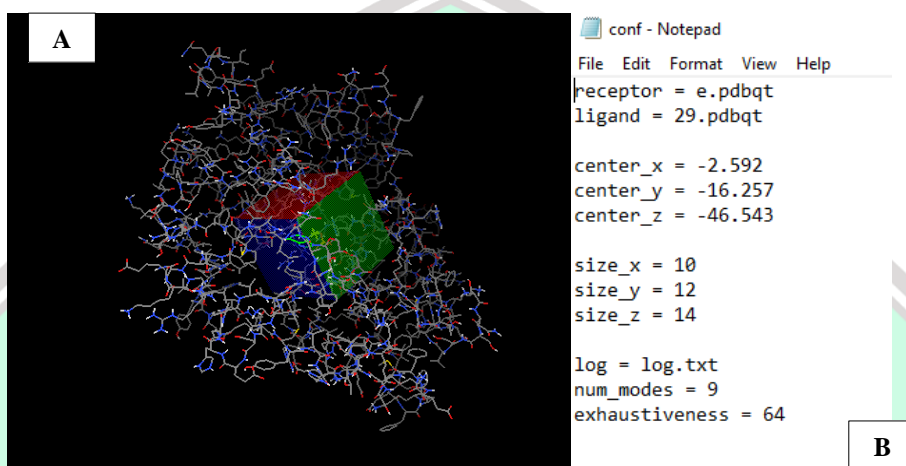


**Gambar 5. 2** (A) Hasil optimasi struktur AMPK (B) *Native ligand*

Keterangan: (A) Penambahan muatan parsial yakni polar hidrogen, penghapusan serta pemisahan *native ligand* target *docking* AMPK yang telah diunduh melalui PDB. (B) hasil pemisahan antara *native ligand* dengan AMPK agar dapat digunakan sebagai parameter validasi *docking*

### 5.1.5. Uji Molecular Docking

Uji *Molecular Docking* dilakukan dengan menggunakan beberapa *software* diantaranya Pymol, Chimera, *Autodock* dan *Discovery Studio Visualizer*.



**Gambar 5. 3** (A) Grid parameter sisi aktif AMPK; (B) Nilai Grid parameter *native ligand* dalam format \*.txt

Makromolekul yang telah diatur *gridboxnya* akan dilakukan proses pemabatan dengan ligan aslinya (*native ligand*) dan menunggu beberapa saat hingga proses *docking* selesai. Hasil *docking* dengan menggunakan *software command prompt* berbasis *Autodock Vina* akan menunjukkan hasil *binding affinity* terbaik (terendah) dengan nilai *root mean score deviation* terkecil dalam bentuk format \*.txt.

**Tabel 5. 3** Hasil validasi metode *molecular docking*

Native ligand	Konformasi	Binding Affinity (kcal/mol)	Dist. From best mode	
			RMSD l.b.	RMSD u.b.
ADP 1327	1	-7.9	0.000	0.000
	2	-7.9	1.990	2.424

	3	-7.7	1.896	2.797
	4	-7.6	1.078	1.858
	5	-7.4	3.192	5.304
	6	-7.4	4.742	6.759
	7	-7.2	2.427	4.068
	8	-6.9	4.599	7.417
	9	-6.9	4.691	6.674
ADP 1328	1	-8.3	0.000	0.000
	2	-8.0	1.136	1.825
	3	-8.0	3.059	4.552
	4	-7.9	3.079	4.521
	5	-7.8	4.979	7.923
	6	-7.8	2.781	4.351
	7	-7.7	2.914	4.029
	8	-7.7	3.548	4.882
	9	-7.6	4.991	7.543

Berdasarkan tabel diatas, nilai *root mean score deviation* (RMSD) terendah yang didapatkan melalui proses *docking* antara AMPK dengan *native ligand* ADP 1327 dan ADP 1328, sebesar 1.078 Å dan 1.136 Å (tabel 5.1) dihitung dari mode atau konformasi ligan-protein terbaik. RMSD merupakan nilai jarak atom pada satu konformasi terdekat yang memiliki tipe yang sama dengan atom tersebut pada konformasi lain. RMSD sendiri memiliki dua tipe yaitu *root mean score deviation lower bound* (RMSD l.b) dan *root mean score deviation upper bound* (RMSD u.b). RMSD u.b. menggambarkan perbedaan nilai jarak yang terbentuk antara atom di satu konformasi dengan konformasi lainnya, sementara RMSD l.b didefinisikan  $RMSD/lb(c1,c2) = \max(rmsd'(c1,c2), rmsd'(c2,c1))$  (Ferencz & Muntean, 2015).

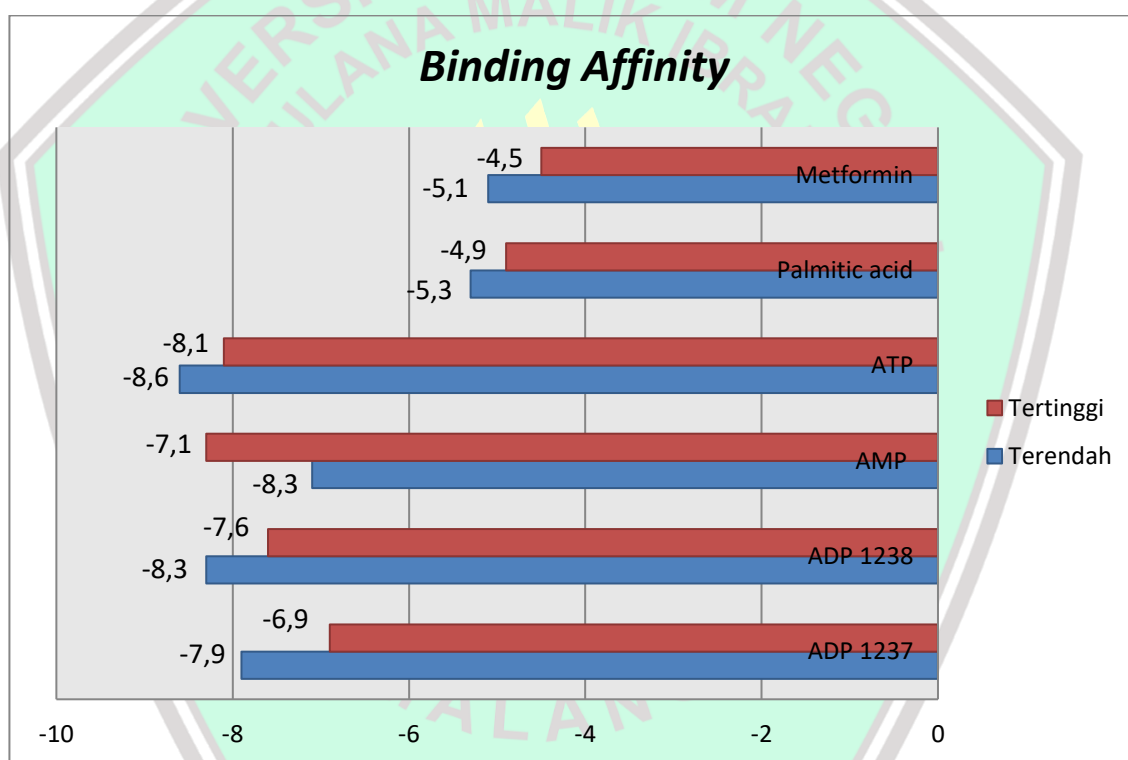


**Tabel 5. 4** Hasil Validasi *docking* senyawa uji *Palmitic acid* dan senyawa pembanding ATP, AMP dan metformin

Ligan	Konformasi	<i>Binding Affinity</i> (kcal/mol)	<i>dist. from best mode</i>	
			rmsd l.b.	rmsd u.b.
ATP	1	-8.6	0.000	0.000
	2	-8.5	1.158	1.994
	3	-8.5	10.221	12.384
	4	-8.2	11.267	13.205
	5	-8.2	3.012	4.065
	6	-8.1	15.449	18.158
	7	-8.1	2.729	3.923
	8	-8.1	5.985	9.701
	9	-8.1	12.217	14.666
AMP	1	-8.3	0.000	0.000
	2	-8.0	0.464	1.045
	3	-8.0	4.384	6.617
	4	-7.8	0.863	2.055
	5	-7.5	3.901	6.731
	6	-7.4	4.293	6.257
	7	-7.2	2.228	4.343
	8	-7.2	4.093	5.841
	9	-7.1	2.665	3.811
<i>Palmitic Acid</i>	1	-5.3	0.000	0.000
	2	-5.3	11.689	14.355
	3	-5.2	3.049	4.651
	4	-5.2	4.051	6.740
	5	-5.2	13.058	15.660
	6	-5.2	2.788	5.217
	7	-5.0	15.856	20.853
	8	-5.0	1.708	3.343
	9	-4.9	2.089	3.713
Metformin	1	-5.1	0.000	0.000
	2	-4.7	16.802	18.528
	3	-4.7	8.247	9.131
	4	-4.6	1.504	3.471
	5	-4.6	17.002	18.244
	6	-4.6	9.074	10.307

	7	-4.5	7.665	8.652
	8	-4.5	7.846	7.846
	9	-4.5	16.720	17.892

Tabel diatas merupakan hasil validasi *mocular docking*. Dapat terlihat bahwa ATP memiliki nilai RMSD terendah sebesar 1.158 Å, AMP sebesar 0.464 Å, *palmitic acid* 1.708 Å dan metformin sebesar 1.504 Å. Semakin kecil nilai RMSD yang didapat semakin baik perkiraan posisi ligan mendekati konformasi asalnya (Pratama, 2015).

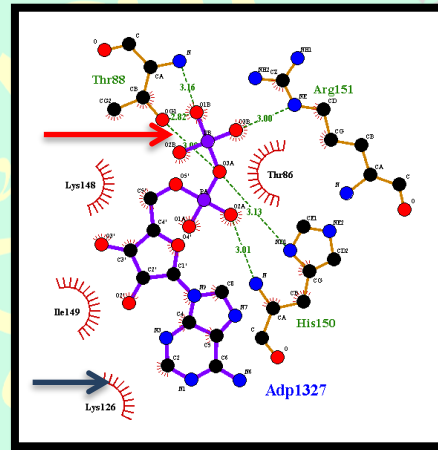


**Gambar 5. 4** Nilai *binding affinity* (kcal/mol) – dilakukan *molecular docking* antara *native ligand*, ligan uji dan ligan pembanding dengan target protein AMPK. Selanjutnya didapatkan nilai *binding affinity*

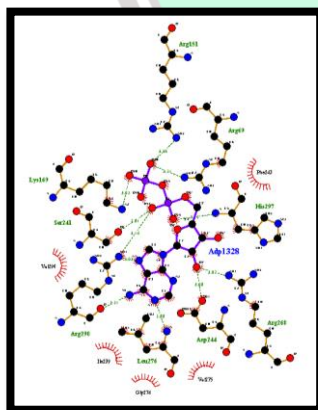
Konformasi ligan hasil docking yang diperingkatkan berdasarkan nilai  $\Delta G_{bind}$  mulai dari terkecil hingga terbesar. Nilai  $\Delta G_{bind}$  senyawa *palmitic acid* diperoleh rentang nilai sebesar -4,9 kkal/mol sampai -5,3 kkal/mol, sementara

nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$  senyawa pembeding metformin -4,5 kkal/mol sampai -5,1 kkal/mol. Gambar 5.3 menunjukkan nilai *binding affinity* dari semua ligan uji dan ligan pembeding. Terlihat nilai *binding affinity* AMP berkisar antara -7,1 kkal/mol sampai -8,3 kkal/mol, sedangkan nilai *binding affinity* dari ATP berkisar -8,1 kkal/mol sampai -8,6 kkal/mol. Untuk native ligand ADP 1327 dan ADP 1328 memiliki nilai *binding affinity* sebesar -6,9 kkal/mol sampai -7,9 kkal/mol dan -7,6 kkal/mol sampai -8,3 kkal/mol.

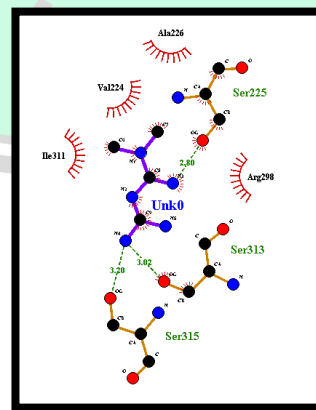
Hasil validasi hasil konformasi *palmitic acid* kemudian disimpan dalam format \*.pdb dan dilihat interaksi ikatan yang terbentuk dengan visualisasi 2D menggunakan *software* LigPlot+ 1.4.5 dan *Discovery Studio Visualizer*.



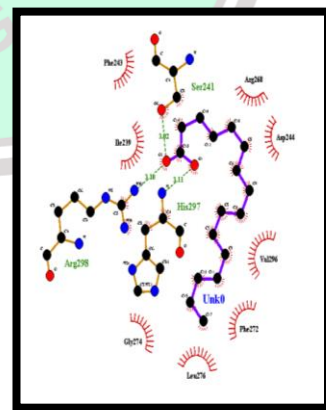
(a)



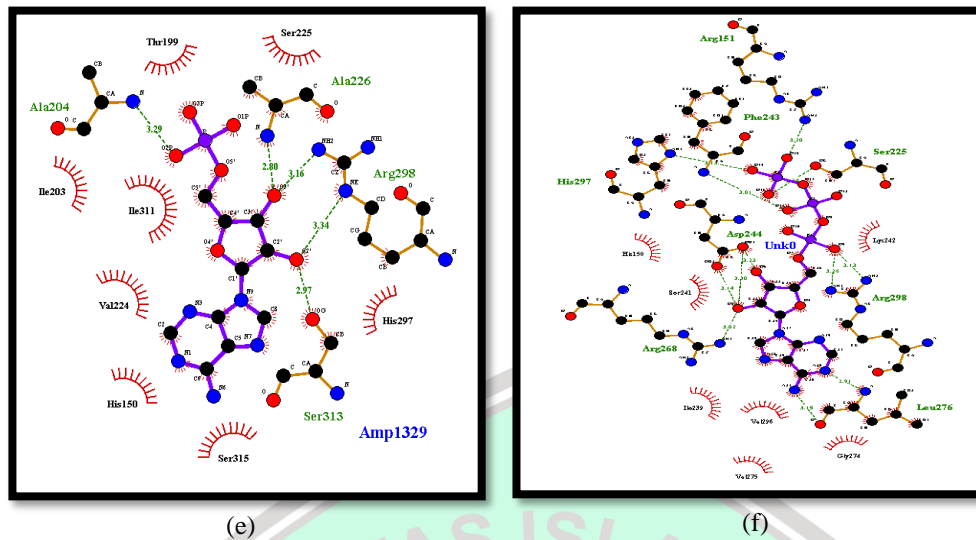
(b)



(c)



(d)



**Gambar 5. 5** Ikatan hidrogen dan hidrofobik antara reseptor AMPK dengan ligan a) ADP 1237; b) ADP 1238; c) metformin; d) *palmitic acid* (PA) e) AMP f) ATP. Panah merah menunjukkan ikatan hidrogen dan panah biru menunjukkan ikatan hidrofobik

Gambar diatas memperlihatkan hasil visualisasi 2D interaksi ikatan senyawa hidrogen dan hidrofobik yang muncul antara reseptor AMPK dan ligan menggunakan *software* LigPlot+ 1.4.5. Banyaknya ikatan hidrogen yang terbentuk dapat mempengaruhi besarnya *binding affinity* atau energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) (Ferdian. Et al, 2016). Residu yang membentuk ikatan hidrogen dan hidrofobik pada beberapa ligan diatas dirangkum dalam tabel berikut.

**Tabel 5. 5** Residu asam amino yang membentuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik

Model Ligan	Residu yang Berinteraksi	
	Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik
ADP 1237	His150; Thr88; Arg151	Lys148; Ile149; Lys126; Thr86
ADP 1238	Arg151; Arg69; Arg298; His297; Lys169; Ser241; Leu276; Asp244	Val296; Ile239; Gly274; Val275; Phe243
ATP	Arg151; Arg268; Arg298; Phe243; Ser225; Leu276; Asp244; His297	His150; Lys242; Ser241; Ile239; Val296; Val275; Gly224
AMP	Ala204; Ala226; Arg298; Ser313	Thr199; Ser225; Ile203; Ile311; Val224; His150; Ser315; His297
Metformin	Ser225; Ser313; Ser315	Arg298; Val224; Ile311; Ala226

*Palmitic  
Acid*

His297; Ser241; Arg298

Phe243; Ile239; Arg268; Asp244;  
Val296; Phe272; Leu276; Gly274

---

Berdasarkan tabel diatas, model ligan metformin cenderung memiliki presentasi kemiripan yang lebih besar dengan AMP dibandingkan dengan ADP maupun ATP, sementara ligan *palmitic acid* cenderung memiliki presentasi kemiripan lebih besar dengan ADP dibanding AMP dan ATP.



## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1. Pembahasan

##### 6.1.1. Prediksi Absorpsi Senyawa dengan Parameter *Human Intestinal Absorption* (HIA)

Tahap awal dari penelitian ini dimulai dengan prediksi absorpsi senyawa *palmitic acid* pada dinding usus atau yang dikenal dengan uji *Human Intestinal Absorption* (HIA). Uji ini dilakukan karena bertujuan untuk mengetahui apakah ketika senyawa ini dijadikan obat oral dapat terabsorpsi secara baik atau tidak di dalam dinding usus sehingga dapat masuk kedalam pembuluh darah. Apabila kemampuan absorpsinya rendah maka obat ini tidak dapat mencapai target reseptornya secara maksimal sehingga kurang memicu reaksi.

senyawa dikatakan memiliki absorpsi yang baik ketika nilai uji HIA lebih dari 70%, sedang 20-70% dan rendah 0-20% (Nerkar *et al.*, 2012). Pada uji HIA, presentase senyawa *palmitic acid* yang didapat adalah sebesar 98,29%. Berdasarkan hasil presentase tersebut dapat menunjukkan bahwa senyawa *palmitic acid* merupakan senyawa yang dapat terabsorpsi dengan baik. Obat metformin merupakan obat antidiabetik yang memiliki nilai 45.66% yang menunjukkan bahwa metformin memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang cukup baik diserap dalam tubuh. Apabila hasil ini dibandingkan antara senyawa *palmitic acid* yang akan diuji dalam penelitian ini dan obat metformin sebagai pembandingnya didapatkan hasil senyawa *palmitic acid* dalam uji

*Human Intestinal Absorption* (HIA) dapat terabsorpsi dengan baik sementara untuk obat metformin dapat diabsorpsi dengan cukup baik di usus sehingga bisa diberikan secara per oral.

### **6.1.2. Prediksi Potensi Senyawa Melewati Membran Sel dengan Parameter Lippinski *Rule of Five* (Rof)**

Suatu obat apabila telah terabsorpsi di dalam usus lalu masuk ke sirkulasi darah, obat tersebut akan terdistribusi ke seluruh jaringan tubuh dengan menembus membran sel sehingga obat dapat mencapai reseptor target yang ingin dituju (Tian *et al.*, 2015). Aturan Lippinski *Rule of five* ini dapat digunakan dalam menentukan kelarutan dan permeabilitas dari suatu ligan. Aturan ini hanya berlaku bagi penyerapan obat yang sifatnya melalui absorpsi langsung (difusi pasif), bukan transport aktif. Dikatakan suatu ligan dapat terabsorpsi dengan baik apabila memenuhi aturan ini (Ferdian. Et al, 2016). Berdasarkan uji potensi senyawa menembus membran sel menggunakan *software* Lippinski *Rule of five*, menunjukkan bahwa senyawa *palmitic acid* memiliki berat molekul 256, HBD 1, HBA 2, dan logP 5,55.

Aturan Lippinski *Rule of five* terdiri atas 4 parameter, yaitu berat molekul <500, *hydrogen bond donor* (HBD) <5, *hydrogen bond acceptor* (HBA) <10, dan koefisien logP <5. Analisis ini disebut *Rule of five* karena kriteria parameter diatas memiliki limitasi dengan angka 5 atau kelipatannya. Berat molekul menggambarkan ukuran dari suatu molekul, semakin besar ukuran molekul semakin mempengaruhi senyawa dalam menembus membran sel. Dikatakan penyerapan pada intestinal dan

pembuluh darah otak berlangsung dengan baik apabila bobot molekul ligan kurang dari 500. Pada senyawa *palmitic acid* didapatkan berat molekul sebesar 256 yang menunjukkan bahwa senyawa ini sesuai dengan kriteria berat molekul Lipinski, sedangkan berat molekul obat metformin juga memenuhi kriteria berat molekul yaitu sebesar 129. Diketahui *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) memiliki korelasi dengan ikatan antarmolekul. Nilai *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA) dapat mempengaruhi senyawa dalam mencapai sel targetnya, apabila nilai HBD dan HBA semakin besar maka semakin banyak juga ikatan hidrogen yang terbentuk dan memperlambat senyawa untuk mencapai targetnya sehingga pada aturan lippinski *Rule of five*, nilai HBD dan HBA dibatasi (Abad-Zapatero, 2007; Sean Ekins *et al.*, 2005; Lipinski *et al.*, 2012). Nilai HBD serta HBA pada senyawa *palmitic acid* didapatkan nilai 1 dan 2 yang menunjukkan bahwa senyawa *palmitic acid* memenuhi kriteria HBD kurang dari 5 dan HBA kurang dari 10. Pada obat metformin didapatkan nilai HBD 5 yang artinya tidak memenuhi kriteria karena nilai tidak berada dibawah lima atau sama dengan lima, sedangkan nilai HBA 5 yang berarti sesuai dengan kriteria HBA kurang dari 10.

*Lipophilicity* atau LogP menggambarkan lipofilisitas dari suatu senyawa. Nilai LogP positif menunjukkan sifat non polar senyawa sementara nilai negatif menandakan sifat polaritas senyawa. Semakin tinggi lipofilik pada suatu senyawa semakin baik kemampuan ligan dalam menembus lapisan lipid bilayer membran sel (Abad-Zapatero, 2007; Sean



Ekins *et al.*, 2005; Lipinski *et al.*, 2012). Berdasarkan data yang didapat, nilai LogP pada senyawa *palmitic acid* sebesar 5,55 yang artinya senyawa ini tidak sesuai dengan kriteria karena nilai LogP lebih dari 5 sedangkan nilai LogP obat metformin sebesar -1,24 yang berarti sesuai dengan kriteria karena nilai berada di bawah 5. Suatu obat dinyatakan mampu menembus membran sel bila memenuhi setidaknya 2 dari aturan Lipinski *Rule of five* (Tian *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Ismail dkk, dengan menggunakan ligan yang sama yaitu *palmitic acid*, didapatkan tiga dari empat kriteria yang diperoleh memiliki nilai yang sama seperti yang didapat dalam penelitian ini, dengan menggunakan *software* yang berbeda yaitu *SwissADME*, diantaranya berat molekul 256 Da, HBD 1, HBA 2 dan LogP 4,19 (Ismail *et al.*, 2020). Berdasarkan data yang diperoleh diatas, senyawa *palmitic acid* melanggar 1 dari 4 kriteria lippinski *Rule of five* yaitu nilai LogP sebesar 5,55 yang seharusnya nilai tersebut kurang dari 5. Sama halnya dengan senyawa pembandingnya yakni metformin yang juga melanggar 1 dari 4 kriteria yaitu nilai HBD 5 yang seharusnya nilai HBD <5. Namun hal tersebut masih dapat di toleransi dan bisa dikatakan senyawa mampu menembus membran sel sehingga ligan dapat berikatan dengan reseptor target, karena telah memenuhi setidaknya 2 dari aturan Lippinski *Rule of five*. Baik senyawa *palmitic acid* maupun metformin, keduanya aman untuk dikonsumsi dan dijadikan obat oral.

### **6.1.3. Hasil Uji *Molecular Docking* Ligan-Reseptor**

Pada penelitian ini, nilai RMSD yang diperoleh dalam uji *molecular docking* antara protein AMPK dengan *native ligand* nya sebesar

1.078 Å dan 1.136 Å (Tabel. 5.1). Uji molecular docking dikatakan valid apabila nilai RMSD berada di bawah 2,5 Å (Christian Baber *et al.*, 2009). Hal itu menunjukkan bahwa metode *molecular docking* ini valid dan memenuhi persyaratan parameter validasi karena nilai RMSD kurang dari 2,5 Å.

Simulasi *docking* yang dilakukan antara senyawa uji dan senyawa pembanding terhadap AMPK, menggunakan daerah dan pusat penambatan (*gridbox*) disesuaikan pada daerah penambatan ligan yang terkompleks (*native ligand*) pada reseptor 2Y8L dan telah divalidasi. Semua ligan ADP, AMP dan ATP menghasilkan nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$  yang negatif, dalam artian penambatan ligan tersebut terjadi secara spontan dan menghasilkan interaksi pengikatan non kovalen. Nilai  $\Delta G$  ATP terkecil sebesar -8,6 kkal/mol lebih rendah dibanding nilai  $\Delta G$  AMP sebesar -8,3 kkal/mol dan  $\Delta G$  ADP sebesar -7,6 kkal/mol dan -8,3 kkal/mol. Hasil *docking* antara *palmitic acid* dengan AMPK menghasilkan nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$  sebesar -5,3 kkal/mol (Gambar 5.1). Sedangkan metformin memiliki nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$  sebesar -5,1 kkal/mol. Berdasarkan data tersebut, kedua senyawa diatas memiliki nilai *binding affinity* yang lebih besar dan mendekati nilai  $\Delta G$  AMP atau minimal memiliki nilai sekitar  $\Delta G$  ADP dimana hal itu diprediksi dapat memicu teraktivasi AMPK dan mencegah terjadinya defosforilasi AMPK. Sebaliknya, apabila nilai kedua senyawa tersebut lebih kecil atau mendekati nilai  $\Delta G$  ATP maka diprediksi akan menghambat teraktivasi AMPK dan memicu terjadinya defosforilasi AMPK. Prediksi ini mengarah pada keadaan alami regulasi AMPK subunit

$\gamma$  dimana penempelan AMP pada subunit ini akan memicu terfosforilasinya residu Thr172 pada subunit  $\alpha$  sehingga AMPK aktif. Penempelan ADP diketahui hanya berperan dalam mencegah terjadinya defosforilasi AMPK. Berbeda halnya dengan ATP, apabila ATP menempel pada subunit  $\gamma$ , maka akan menghambat fosforilasi residu Thr172 sehingga AMPK tidak aktif. AMP memiliki peran sebagai aktivator allosterik AMPK, ADP sebagai pertahanan struktur aktif agar AMPK tetap aktif sementara ATP berperan sebagai inhibitor allosterik AMPK (Calabrese et al., 2014; Carling, 2005; D. G. Hardie, 2008; D. Grahame Hardie, 2015; Lim et al., 2010; Xiao et al., 2013). Berdasarkan data nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$ , senyawa *palmitic acid* dan metformin diprediksi berpotensi dapat memicu teraktivasinya AMPK dan mencegah defosforilasi AMPK karena nilai  $\Delta G_{\text{bind}}$  mereka lebih mendekati nilai  $\Delta G$  AMP atau minimal sekitar  $\Delta G$  ADP dan lebih besar dari pada  $\Delta G$  ATP.

Ikatan yang terbentuk pada reseptor AMPK dan semua ligan yang digunakan dianalisis serta divisualisasi secara 2D menggunakan *software* LigPlot+ 1.4.5. interaksi ikatan yang dianalisis ini berupa ikatan hidrogen dan hidrofobik. Dapat dilihat pada hasil penambatan ATP (gambar 5.2) ikatan hidrogen dan hidrofobik yang dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan ADP lebih banyak dari AMP. Kondisi tersebut bisa terjadi salah satunya karena ATP memiliki gugus fosfat lebih banyak dari ADP lebih banyak dari AMP. Gugus fosfat memiliki atom O yang dapat membentuk ikatan hidrogen, begitu pula dengan ikatan hidrofobik. Semakin banyak bentuk ikatan yang terbentuk semakin menghasilkan nilai

$\Delta G$  yang negatif (de Beer et al., 2010). Hal itu dapat terlihat pada gambar 5.1 yang menunjukkan bahwa ATP memang memiliki nilai  $\Delta G$  yang lebih negatif dibandingkan ADP dibandingkan AMP.

Kemiripan interaksi antara reseptor dengan ligan dilakukan karena dapat menjadi indikator mimetik antara ligan uji dengan ligan yang sudah diketahui perannya. Presentasi kemiripan yang tinggi menunjukkan kemiripan sifat sehingga dapat diprediksi memiliki peran yang sama dengan ligan pembandingnya (Ferdian. Et al, 2016). Data kemiripan interaksi pada tabel 5.5 menunjukkan bahwa metformin memiliki residu yang kemiripannya cenderung lebih besar terhadap AMP dibanding dengan ATP. Hal itu ditandai dengan adanya residu yang sama dimana hanya ditemukan pada ligan AMP yaitu, Ser225 dan Ser315. Sementara untuk senyawa *palmitic acid* residu yang terbentuk memiliki kecenderungan kemiripan lebih besar terhadap ADP dan ATP. Namun, dari residu tersebut kebanyakan cenderung lebih dekat pada ADP dibanding dengan ATP karena ikatan hidrogen yang ada pada senyawa ini terdapat juga pada ikatan hidrogen ADP diantaranya, His297, Ser241 dan Arg298. Baik senyawa metformin maupun *palmitic acid* memiliki residu dengan kemiripan yang lebih besar terhadap AMP dan ADP dibandingkan dengan ATP yang artinya kedua senyawa tersebut diprediksi mampu berperan sebagai aktivator allosterik AMPK dengan pengikatan langsung. Berdasarkan kemiripan metformin yang lebih besar terhadap AMP dibandingkan kemiripan senyawa *palmitic acid* yang lebih besar ADP lebih besar ATP lebih besar dari AMP, maka senyawa *palmitic acid* bisa

dikatakan dapat mengaktivasi AMPK secara *in silico* namun tidak sebaik dan seefektif metformin yang berpotensi menjadi senyawa antidiabetik.

Selain dari energi ikatan yang dihasilkan oleh *palmitic acid* terhadap protein AMPK, *palmitic acid* merupakan salah satu kandungan yang terdapat pada tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*). Hal tersebut dapat dibuktikan pada penelitian sebelumnya oleh Murugesu tahun 2019 yang membuktikan bahwa senyawa *palmitic acid* terkandung dalam tanaman dandang gendis (Murugesu et al., 2019). Pada penelitian ismail *et al* tahun 2020, membuktikan bahwa kandungan *palmitic acid* pada tanaman dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) memiliki kadar yang cukup tinggi dibandingkan dengan tanaman jenis lain yakni 23,84% (Ismail *et al.*, 2020).

Penelitian sebelumnya oleh Dewinta dan teman-teman tahun 2020 bahwa pemberian ekstrak etanol daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) berpotensi sebagai antidiabetik dengan menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar putih model diabetes. Hal ini disebabkan karena dalam daun dandang gendis (*Clinacanthus nutans*) mengandung flavonoid dan asam lemak sebagai antioksidan yang dapat menurunkan kadar gula darah (Dewinta *et al.*, 2020).

Penelitian lainnya Panggeban tahun 2014 yang meneliti tentang “Uji Aktivitas Peningkatan Sensivitas Insulin Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella Sativa*) Melalui Pengukuran Konsentrasi Tirosin Terfosforilasi Insulin Reseptor Substrat-1 (IRS-1)” bahwa pemberian ekstrak jintan hitam yang memiliki berbagai kandungan salah satunya *palmitic acid*

dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan menurunkan kadar glukosa darah. Pada penelitian ini didapatkan hasil dengan pemberian ekstrak jintan hitam terhadap tikus diabetes selama 30 hari mampu meningkatkan kadar tirosin terfosofrilasi pada insulin reseptor substrat-1 (IRS-1), sensitivitas insulin dan menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna pada dosis 96 mg/kgBB (Panggabean *et al.*, 2014).

Kemungkinan mekanisme kerja *palmitic acid* dalam *Clinacanthus nutans* adalah sebagai agonis AMPK, tapi perlu dibuktikan dalam penelitian lebih lanjut secara *in vivo*. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme kerja senyawa lain dalam tanaman *Clinacanthus nutans* terhadap AMPK.

## 6.2. Kajian Integrasi Islam

Allah SWT telah menciptakan aneka ragam makhluk hidup, salah satunya yaitu tanaman. Tanaman memiliki berbagai jenis yang tersebar di seluruh wilayah dunia. Begitu banyak kandungan atau khasiat dalam tanaman yang dapat bermanfaat dalam kelangsungan hidup manusia dan sudah seharusnya dimanfaatkan sebaik-baiknya. Allah SWT telah berfirman dalam surah Asy-Syu'ara' Ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara':7).

Dalam kandungan ayat yang tertera diatas, jelas sekali bahwa Allah SWT menciptakan tumbuhan tidaklah sia-sia. Setiap tumbuhan memiliki manfaat dan khasiatnya masing-masing. Pada tafsir al-Mukhtashar

dijelaskan bahwasannya “*apakah mereka semua akan terus-terusan berada dalam kekafiran dan tidak mau memperhatikan bumi, berapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan, yang indah dipandang dan banyak manfaatnya?*” (Ahmad Syakir, 2014).

Salah satu makna kata كَرِيمٌ yang tertera pada ayat diatas yaitu baik atau mulia. Yang berarti segala sesuatu yang tumbuh di dunia ini memiliki manfaat yang baik apabila diteliti dan diperhatikan secara mendalam. Hal ini sejalan dengan arahan kepada manusia untuk terus melakukan percobaan ataupun penelitian yang berkaitan dengan khasiat dari tanaman yang akan diuji, sehingga bisa dikonsumsi baik sebagai makanan ataupun obat-obatan. Dalam hal ini, penelitian kandungan *palmitic acid* dilakukan dengan menggunakan metode *molecular docking* (QS. Asy-Syu'ara':7)

Di era peradaban, pemikiran manusia terus berevolusi, teknologi dan alat-alat semakin canggih, tak pernah berhenti layaknya perputaran jam yang terus berjalan. Hal itu berkaitan dengan anugerah yang Allah SWT berikan kepada manusia yaitu akal. Akal digunakan untuk berfikir, merenungi serta mengkaji apa yang telah diciptakan oleh Tuhan dapat dimanfaatkan sebaik-baiknya. Sama halnya dengan sebuah penelitian yang metodenya terus dikembangkan khususnya dibidang kedokteran, salah satunya ialah penelitian *in silico*, sebagaimana yang tersitat pada surah Ali Imran ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَبْصَارِ

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal*” (QS. Ali Imran: 190)

Dalam tafsir Al-Mishbah, makna ayat diatas adalah Allah SWT memerintahkan manusia untuk mensyukuri nikmat yang diberikan berupa akal dan pikiran untuk menganalisa, mengkaji dan merenungkan segala sesuatu, karena sesungguhnya dalam penciptaan, yakni benda-benda angkasa seperti matahari, bulan, dan jutaan gugusan bintang yang terdapat di langit atau dalam pengaturan sistem kerja langit yang sangat teliti serta kejadian dan perputaran bumi pada porosnya, yang melahirkan silih bergantinya malam dan siang perbedaannya, baik dalam masa maupun dalam panjang dan pendeknya terdapat tanda-tanda kemahakuasaan Allah bagi *ulul albab*, yakni orang-orang yang memiliki akal murni (Departemen Agama RI, 2010; Shihab, 2017). Oleh karenanya, kita sebagai manusia yang berakal diharapkan dapat terus memaksimalkan teknologi terus berkembang dalam mengkaji ciptaan-Nya.

Diabetes melitus tipe 2 merupakan salah satu gangguan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah dan sering dikaitkan dengan kondisi resistensi insulin. Hal tersebut dapat disebabkan oleh berbagai faktor resiko salah satunya yaitu pola gaya hidup yang tidak sehat. Di dalam al-Qur'an telah dijelaskan tentang larangan mengkonsumsi makanan berlebihan dan makan secukupnya saja sehingga hal itu bertentangan dengan kondisi gaya hidup yang tidak sehat bagi penderita DMT2. Sebagaimana yang tercantum di dalam Al-Qur'an Surah Thaha ayat 81:

كُلُوا مِنْ طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَلَا تَطْغَوْا فِيهِ فَيَحِلَّ عَلَيْكُمْ غَضَبِي ۖ وَمَنْ يَحِلَّ عَلَيْهِ  
غَضَبِي فَقَدْ هَوَىٰ



Artinya: “Makanlah di antara rezeki yang baik yang telah Kami berikan kepadamu, dan janganlah melampaui batas padanya, yang menyebabkan kemurkaan-Ku menimpamu. Dan barangsiapa ditimpa oleh kemurkaan-Ku, maka sesungguhnya binasalah ia.”

Pada surah diatas dijelaskan bahwa segala sesuatu baik mengkonsumsi makanan atau minuman haruslah sesuai dengan kebutuhan (porsi yang cukup) dan tidak berlebihan. Ketika kita lapar maka makanlah dan berhenti sebelum kenyang, jika dianalogikan, anggaplah kita sebagai tanaman padi yang mana akan layu ketika tidak diberi air yang cukup dan mati ketika diberi air yang berlebihan.

Sebagai manusia, apabila suatu saat kita diberi penyakit sudah seharusnya kita terus berusaha dan berikhtiar dalam menyembuhkan penyakit itu. Jangan menyerah ataupun “membiarkan” takdir tanpa ada usaha sedikitpun. Berusahalah karena Allah SWT menyukai hal itu. Mencari pengobatan adalah salah satu bentuk ikhtiar dalam mengobati suatu penyakit. Sebagaimana yang diriwayatkan oleh Imam Ahmad, sahabat Usamah bin Suraik, bahwasannya Nabi bersabda:

كُنْتُ عِنْدَ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ، وَجَاءَتِ الْأَعْرَابُ، فَقَالَ: يَا رَسُولَ اللَّهِ،  
أَتَتَدَاوَى؟ فَقَالَ: نَعَمْ يَا عِبَادَ اللَّهِ، تَدَاوَوْا، فَإِنَّ اللَّهَ عَزَّ وَجَلَّ لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ

شِفَاءً غَيْرَ دَاءٍ وَاجِدِ. قَالُوا: مَا هُوَ؟ قَالَ: الْهَرَمُ

Artinya: “Aku pernah berada di samping Rasulullah, Lalu datanglah serombongan Arab Badui. Mereka bertanya, ‘Wahai Rasulullah, bolehkah kami berobat?’ Beliau menjawab, ‘Iya, wahai para hamba Allah, berobatlah. Sebab, Allah tidaklah meletakkan sebuah penyakit melainkan

*meletakkan pula obatnya, kecuali satu penyakit.’ Mereka bertanya, ‘Penyakit apa itu?’ Beliau menjawab, ‘Penyakit tua.’” (HR.Ahmad).*

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit yang ada di dunia ini pasti memiliki penawarnya, kecuali penyakit tua. Jika kita pahami betul makna dari hadits diatas, Allah SWT menciptakan suatu penyakit untuk melihat dan menguji bagaimana manusia ketika ditimpa suatu penyakit apakah ia akan bersabar dan terus berusaha untuk menyembuhkannya ataukah hanya menerima takdir dan menunggu kematian menjemputnya. Namun yang pasti, semua kesembuhan itu tidak terlepas dari izin Allah SWT. Maka kita sebagai manusia, jangan pernah lupa untuk senantiasa berdoa kepada Tuhan yang maha Kuasa karena hanya kepada-Nya tempat memohon pertolongan. (HR. Ahmad).

## BAB VII

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa *palmitic acid* dari ekstrak tumbuhan *Clinacanthus nutans* memiliki potensi antidiabetik melalui pengikatan ligan reseptor pada sisi aktif AMPK secara *in silico*. Senyawa *palmitic acid* dari ekstrak tumbuhan *Clinacanthus nutans* juga dapat diabsorpsi dengan baik dalam tubuh serta dapat dijadikan sebagai obat oral melalui uji *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan uji Lipinski *Rule of five*.

#### 7.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, adapun saran yang dapat diberikan sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut baik secara *in vitro* maupun *in vivo* terkait potensi senyawa *palmitic acid* sebagai kandidat senyawa antidiabetik dalam skala laboratorium.
2. Perlu adanya uji potensi antidiabetik kandungan senyawa lain dalam tanaman *Clinacanthus nutans*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abad-Zapatero, C. (2007). A Sorcerer's apprentice and The Rule of five: from rule-of-thumb to commandment and beyond. *Drug Discovery Today*, 12(23–24), 995–997. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.10.022>
- Abdul-Ghani, M. A., Matsuda, M., Jani, R., Jenkinson, C. P., Coletta, D. K., Kaku, K., & DeFronzo, R. A. (2008). The relationship between fasting hyperglycemia and insulin secretion in subjects with normal or impaired glucose tolerance. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 295(2), 401–407. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00674.2007>
- Abugri, D. A., Tiimob, B. J., Apalangya, V. A., Pritchett, G., & McElhenney, W. H. (2013). Bioactive and nutritive compounds in Sorghum bicolor (Guinea corn) red leaves and their health implication. *Food Chemistry*, 138(1), 718–723. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.149>
- Aguayo-Mazzucato, C., Diaque, P., Hernandez, S., Rosas, S., Kostic, A., & Caballero, A. E. (2019). Understanding the growing epidemic of type 2 diabetes in the Hispanic population living in the United States. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 35(2). <https://doi.org/10.1002/dmrr.3097>
- Ahmad Syakir, S. (2014). *Mukhtashar Tafsir Ibnu Katsir (Jilid 1, C)*. Darus Sunnah Press.
- Alam, A., Ferdosh, S., Ghafoor, K., Hakim, A., Juraimi, A. S., Khatib, A., & Sarker, Z. I. (2016). Clinacanthus nutans: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(4), 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.03.011>

- Allouche, A. (2012). Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *Journal of Computational Chemistry*, 32, 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>
- Andreaeopsida, B. (2013). *Chapter 2-6 Chapter 2-6*. 1(June), 1–14. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1>
- Aw, D. K. L., Sinha, R. A., Xie, S. Y., & Yen, P. M. (2014). Differential AMPK phosphorylation by glucagon and metformin regulates insulin signaling in human hepatic cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 447(4), 569–573. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.04.031>
- Barros, L., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2010). Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1466–1472. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.012>
- Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., & Evangelou, E. (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PLoS ONE*, 13(3), 1–27. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194127>
- PERATURAN BADAN PENGAWAS OBAT DAN MAKANAN, BPOM 1 (2020).
- Buchanan, T. A., Xiang, A. H., Peters, R. K., Kjos, S. L., Marroquin, A., Goico, J., Ochoa, C., Tan, S., Berkowitz, K., Hodis, H. N., & Azen, S. P. (2002). Preservation of pancreatic  $\beta$ -cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in high-risk Hispanic

women. *Diabetes*, 51(9), 2796–2803.

<https://doi.org/10.2337/diabetes.51.9.2796>

Calabrese, M. F., Rajamohan, F., Harris, M. S., Caspers, N. L., Magyar, R., Withka, J. M., Wang, H., Borzilleri, K. A., Sahasrabudhe, P. V., Hoth, L. R., Geoghegan, K. F., Han, S., Brown, J., Subashi, T. A., Reyes, A. R., Frisbie, R. K., Ward, J., Miller, R. A., Landro, J. A., ... Kurumbail, R. G. (2014). Structural basis for AMPK activation: Natural and synthetic ligands regulate kinase activity from opposite poles by different molecular mechanisms. *Structure*, 22(8), 1161–1172. <https://doi.org/10.1016/j.str.2014.06.009>

Carling, D. (2005). AMP-activated protein kinase: Balancing the scales. *Biochimie*, 87(1 SPEC. ISS.), 87–91. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2004.10.017>

Caughey, A. B., Kaimal, A. J., & Gabbe, S. G. (2018). ACOG Practice Bulletin: Pregestational Diabetes. *The American College of Obstetricians and Gynecologists*, 132(60), 228–248.

Chabowski, A., Zendzian-Piotrowska, M., Konstantynowicz, K., Pankiewicz, W., Mikłosz, A., Łukaszuk, B., & Górski, J. (2013). Fatty acid transporters involved in the palmitate and oleate induced insulin resistance in primary rat hepatocytes. *Acta Physiologica*, 207(2), 346–357. <https://doi.org/10.1111/apha.12022>

Chagas, C. M., Moss, S., & Alisaraie, L. (2018). Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International Journal of Pharmaceutics*, 549(1–2), 133–149. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.046>

- Chellappan, D. K., Yap, W. S., Bt Ahmad Suhaimi, N. A., Gupta, G., & Dua, K. (2018). Current therapies and targets for type 2 diabetes mellitus. *Panminerva Medica*, 60(3), 117–131. <https://doi.org/10.23736/S0031-0808.18.03455-9>
- Chen, M., Huang, N., Liu, J., Huang, J., Shi, J., & Jin, F. (2021). AMPK: A bridge between diabetes mellitus and Alzheimer's disease. *Behavioural Brain Research*, 400(November 2020), 113043. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113043>
- Cheng, T., Pan, Y., Hao, M., Wang, Y., & Bryant, S. H. (2014). PubChem applications in drug discovery: A bibliometric analysis. *Drug Discovery Today*, 19(11), 1751–1756. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2014.08.008>
- Christian Baber, J., Thompson, D. C., Cross, J. B., & Humblet, C. (2009). GARD: A generally applicable replacement for RMSD. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49(8), 1889–1900. <https://doi.org/10.1021/ci9001074>
- de Beer, S., Vermeulen, N., & Oostenbrink, C. (2010). The Role of Water Molecules in Computational Drug Design. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(1), 55–66. <https://doi.org/10.2174/156802610790232288>
- Deacon, C. F., & Ahrén, B. (2011). Physiology of incretins in health and disease. *Review of Diabetic Studies*, 8(3), 293–306. <https://doi.org/10.1900/RDS.2011.8.293>
- Departemen Agama RI. (2010). *Al-Qur'an dan Tafsirnya, Jilid II*. Lentera Abadi.
- Dewinta, N. R., Mukono, I. S., & Mustika, A. (2020). Pengaruh Pemberian Ekstrak Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*) Terhadap Kadar Glukosa

- Darah pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus. *Jurnal Medik Veteriner*, 3(1), 76. <https://doi.org/10.20473/jmv.vol3.iss1.2020.76-81>
- Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. (2007). In silico pharmacology for drug discovery: Methods for virtual ligand screening and profiling. *British Journal of Pharmacology*, 152(1), 9–20. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0707305>
- Ekins, Sean, Nikolsky, Y., & Nikolskaya, T. (2005). Techniques: Application of systems biology to absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity. *Trends in Pharmacological Sciences*, 26(4), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2005.02.006>
- Ferdian. Et al. (2016). Potensi senyawa asam lemak rantai pendek sebagai aktivator langsung Ampk secara in silico untuk terapi sindrom metabolik. *Scientific Repository IPB*.
- Ferencz, L., & Muntean, D. L. (2015). Identification of new superwarfarin-type rodenticides by structural similarity. The docking of ligands on the vitamin K epoxide reductase enzyme's active site. *Acta Universitatis Sapientiae, Agriculture and Environment*, 7(1), 108–122. <https://doi.org/10.1515/ausae-2015-0010>
- Ferreira, L. L. G., & Andricopulo, A. D. (2019). ADMET modeling approaches in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 24(5), 1157–1165. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.03.015>
- Fu, X., Zhu, M., Zhang, S., Foretz, M., Viollet, B., & Du, M. (2016). Obesity impairs skeletal muscle regeneration through inhibition of AMPK. *Diabetes*, 65(1), 188–200. <https://doi.org/10.2337/db15-0647>
- Galic, S., Fullerton, M. D., Schertzer, J. D., Sikkema, S., Marcinko, K., Walkley,



- C. R., Izon, D., Honeyman, J., Chen, Z., Denderen, B. J. Van, Kemp, B. E., & Steinberg, G. R. (2011). *JCI58577.pdf*. *121*(12), 4903–4915. <https://doi.org/10.1172/JCI58577.lipid-induced>
- Galicia-Garcia, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H., & Martín, C. (2020). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(17), 1–34. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- Grossman, L. D., Roscoe, R., & Shack, A. R. (2018). Complementary and Alternative Medicine for Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*, *42*, S154–S161. <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.10.023>
- Hardie, D. G. (2008). AMPK: A key regulator of energy balance in the single cell and the whole organism. *International Journal of Obesity*, *32*, S7–S12. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.116>
- Hardie, D. Grahame. (2015). AMPK: Positive and negative regulation, and its role in whole-body energy homeostasis. *Current Opinion in Cell Biology*, *33*, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2014.09.004>
- Henning, R. J. (2018). Type-2 diabetes mellitus and cardiovascular disease. *Future Cardiology*, *14*(6), 491–509. <https://doi.org/10.2217/fca-2018-0045>
- Huang, C. C., Meng, E. C., Morris, J. H., Pettersen, E. F., & Ferrin, T. E. (2014). Enhancing UCSF Chimera through web services. *Nucleic Acids Research*, *42*(W1), 1–7. <https://doi.org/10.1093/nar/gku377>
- Iseli, T. J., Turner, N., Zeng, X. Y., Cooney, G. J., Kraegen, E. W., Yao, S., Ye, Y., James, D. E., & Ye, J. M. (2013). Activation of AMPK by Bitter Melon Triterpenoids Involves CaMKK $\beta$ . *PLoS ONE*, *8*(4), 1–9.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062309>

Ismail, N. Z., Md Toha, Z., Muhamad, M., Nik Mohamed Kamal, N., Mohamad Zain, N. N., & Arsad, H. (2020). Antioxidant Effects, Antiproliferative Effects, and Molecular Docking of *Clinacanthus nutans* Leaf Extracts. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(9), 2067.

<https://doi.org/10.3390/molecules25092067>

Jaghooori, M. M., Bleijlevens, B., & Olabarriaga, S. D. (2016). 1001 Ways to run AutoDock Vina for virtual screening. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 30(3), 237–249. <https://doi.org/10.1007/s10822-016-9900-9>

Janani, C., & Ranjitha Kumari, B. D. (2015). PPAR gamma gene - A review. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 9(1), 46–50. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015>

Jeong, H. W., Hsu, K. C., Lee, J. W., Ham, M., Huh, J. Y., Shin, H. J., Kim, W. S., & Kim, J. B. (2009). Berberine suppresses proinflammatory responses through AMPK activation in macrophages. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 296(4), 955–964. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90599.2008>

Jiang, H., Westerterp, M., Wang, C., Zhu, Y., & Ai, D. (2014). Macrophage mTORC1 disruption reduces inflammation and insulin resistance in obese mice. *Diabetologia*, 57(11), 2393–2404. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3350-5>

Johnson, M., & Abugri, D. A. (2014). Occurrence, Biochemical, Antimicrobial and Health Effects of Palmitic Acid. In L. F. Porto (Ed.), *Biochemistry Research Trends: Palmitic Acid Occurrence, Biochemistry, and Health Effect* (p. 27).

Nova Science Publishers, Inc. All.

Joshi, T., Singh, A. K., Haratipour, P., Sah, A. N., Pandey, A. K., Naseri, R., Juyal, V., & Farzaei, M. H. (2019). Targeting AMPK signaling pathway by natural products for treatment of diabetes mellitus and its complications. *Journal of Cellular Physiology*, 234(10), 17212–17231. <https://doi.org/10.1002/jcp.28528>

Kamarudin, M. N. A., Sarker, M. M. R., Kadir, H. A., & Ming, L. C. (2017). Ethnopharmacological uses, phytochemistry, biological activities, and therapeutic applications of *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau: A comprehensive review. *Journal of Ethnopharmacology*, 206(August 2016), 245–266. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.05.007>

Kaneto, H. (2015). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. *Nihon Rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*, 73(12), 2003–2007. <https://doi.org/10.1093/med/9780199235292.003.1336>

Kemenkes RI. (2020). *Infodatin-2020-Diabetes-Melitus.pdf*.

Khamzina, L., Veilleux, A., Bergeron, S., & Marette, A. (2005). Increased activation of the mammalian target of rapamycin pathway in liver and skeletal muscle of obese rats: Possible involvement in obesity-linked insulin resistance. *Endocrinology*, 146(3), 1473–1481. <https://doi.org/10.1210/en.2004-0921>

Komatsu, M., Takei, M., Ishii, H., & Sato, Y. (2013). Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. *Journal of Diabetes Investigation*, 4(6), 511–516. <https://doi.org/10.1111/jdi.12094>

Lankatillake, C., Huynh, T., & Dias, D. A. (2019). Understanding glycaemic

control and current approaches for screening antidiabetic natural products from evidence-based medicinal plants. *Plant Methods*, 15(1), 1–35. <https://doi.org/10.1186/s13007-019-0487-8>

Lascar, N., Brown, J., Pattison, H., Barnett, A. H., Bailey, C. J., & Bellary, S. (2018). Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 6(1), 69–80. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(17\)30186-9](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(17)30186-9)

Li, Y., Xu, S., Mihaylova, M., Zheng, B., Hou, X., Jiang, B., Luo, Z., Lefai, E., Shyy, J. Y., Gao, B., Wierzbicki, M., Tony, J., Shaw, R. J., Cohen, R. A., & Zang, M. (2012). AMPK Phosphorylates and Inhibits SREBP Activity to Attenuate Hepatic Steatosis and Atherosclerosis in Diet-induced Insulin Resistant Mice. *Cell Metabolism*, 13(4), 617–638. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.03.009>.AMPK

Lim, C. T., Kola, B., & Korbonits, M. (2010). AMPK as a mediator of hormonal signalling. *Journal of Molecular Endocrinology*, 44(2), 87–97. <https://doi.org/10.1677/JME-09-0063>

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2012). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64(SUPPL.), 4–17. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.019>

Littler, D. R., Walker, J. R., Davis, T., Wybenga-Groot, L. E., Finerty, P. J., Newman, E., MacKenzie, F., & Dhe-Paganon, S. (2010). A conserved mechanism of autoinhibition for the AMPK kinase domain: ATP-binding site

and catalytic loop refolding as a means of regulation. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 66(2), 143–151. <https://doi.org/10.1107/S1744309109052543>

Liu, H. W., Wei, C. C., Chen, Y. J., Chen, Y. A., & Chang, S. J. (2016). Flavanol-rich lychee fruit extract alleviates diet-induced insulin resistance via suppressing mTOR/SREBP-1 mediated lipogenesis in liver and restoring insulin signaling in skeletal muscle. *Molecular Nutrition & Food Research*, 60(10), 2288–2296. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201501064>

Liu, J., Zhang, J. F., Lu, J. Z., Zhang, D. L., Li, K., Su, K., Wang, J., Zhang, Y. M., Wang, N., Yang, S. T., Bu, L., & Ou-Yang, J. P. (2013). Astragalus polysaccharide stimulates glucose uptake in L6 myotubes through AMPK activation and AS160/TBC1D4 phosphorylation. *Acta Pharmacologica Sinica*, 34(1), 137–145. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.133>

Lu, X. J. (2020). DSSR-enabled innovative schematics of 3D nucleic acid structures with PyMOL. *Nucleic Acids Research*, 48(13), 1–8. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa426>

Lu, Y. H., Chang, Y. P., Li, T., Han, F., Li, C. J., Li, X. Y., Xue, M., Cheng, Y., Meng, Z. Y., Han, Z., Sun, B., & Chen, L. M. (2020). Empagliflozin attenuates hyperuricemia by upregulation of ABCG2 via AMPK/AKT/CREB signaling pathway in type 2 diabetic mice. *International Journal of Biological Sciences*, 16(3), 529–542. <https://doi.org/10.7150/ijbs.33007>

M. Cabarcas, S., M. Hurt, E., & L. Farrar, W. (2010). Defining the Molecular Nexus of Cancer, Type 2 Diabetes and Cardiovascular Disease. *Current Molecular Medicine*, 10(8), 741–755.

<https://doi.org/10.2174/156652410793384187>

- 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*. *Current Computer Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cad/2011/00000007/00000002/art00008%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
- Mukesh, B., & Rakesh, K. (2011). ISSN 2229-3566 Review Article MOLECULAR DOCKING : A REVIEW Bachwani Mukesh \*, Kumar Rakesh. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(6), 1746–1751.
- Müller-Wieland, P. D. med D., Nauck, M., Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Schleicher, E., Müller, U. A., Landgraf, R., Freckmann, G., & Heinemann, L. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetologe*, 15(2), 128–134. <https://doi.org/10.1007/s11428-019-0460-1>
- Murugesu, S., Khatib, A., Ahmed, Q. U., Ibrahim, Z., Uzir, B. F., Benchoula, K., Yusoff, N. I. N., Perumal, V., Alajmi, M. F., Salamah, S., & El-Seedi, H. R. (2019). Toxicity study on Clinacanthus nutans leaf hexane fraction using Danio rerio embryos. *Toxicology Reports*, 6(February), 1148–1154. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.020>
- Nandipati, K. C., Subramanian, S., & Agrawal, D. K. (2017). Protein kinases: mechanisms and downstream targets in inflammation-mediated obesity and insulin resistance. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 426(1–2), 27–45. <https://doi.org/10.1007/s11010-016-2878-8>

- Nerkar, A. G., Kudale, S. A., Joshi, P. P., & Chikhale, H. U. (2012). In silico screening, synthesis and pharmacological evaluation of novel quinazolinones as NMDA receptor inhibitors for anticonvulsant activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(SUPPL.3), 449–453.
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2015). Type 2 Diabetes: a Review of Current Trends -. *International Journal of Current Research and Review*, 7(18), 61–66.
- P'ng, X. W., Akowuah, G. A., & Chin, J. H. (2013). Evaluation of the sub–acute oral toxic effect of methanol extract of *Clinacanthus nutans* leaves in rats. *Journal of Acute Disease*, 2(1), 29–32. [https://doi.org/10.1016/s2221-6189\(13\)60090-6](https://doi.org/10.1016/s2221-6189(13)60090-6)
- Palomer, X., Pizarro-Delgado, J., Barroso, E., & Vázquez-Carrera, M. (2018). Palmitic and Oleic Acid: The Yin and Yang of Fatty Acids in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 29(3), 178–190. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.11.009>
- Panggabean Efta; Yunita, Ema Pristi, F. K. T. (2014). Uji Aktivitas Peningkatan Sensitivitas Insulin Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) melalui Pengukuran Konsentrasi Tirosin Terfosforilasi Insulin Reseptor Substrat-1 (terhadap Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus Tipe 2). *Majalah Kesehatan FKUB*, 1(Vol 1, No 1 (2014)), pp.53-59. <http://majalahfk.ub.ac.id/index.php/mkfkub/article/view/23>
- Platform, A. E. (2005). *Introduction to the Discovery Studio Visualizer* (pp. 10–23).
- Pratama, M. R. F. (2015). *Molecular Docking of Anticancer Agent : Artemisin and*

*Derivates s HER2 Inhibitor.*

- Prentki, M., Matschinsky, F. M., & Madiraju, S. R. M. (2013). Metabolic signaling in fuel-induced insulin secretion. *Cell Metabolism*, 18(2), 162–185. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.05.018>
- Pu, J., Peng, G., Li, L., Na, H., Liu, Y., & Liu, P. (2011). Palmitic acid acutely stimulates glucose uptake via activation of Akt and ERK1/2 in skeletal muscle cells. *Journal of Lipid Research*, 52(7), 1319–1327. <https://doi.org/10.1194/jlr.M011254>
- Putra, R. J. S., Achmad, A., & Rachma P, H. (2017). Kejadian Efek Samping Potensial Terapi Obat Anti Diabetes Pada Pasien Diabetes Melitus Berdasarkan Algoritme Naranjo | Achmad | Pharmaceutical Journal of Indonesia. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*, 2(2), 45–50. <https://pji.ub.ac.id/index.php/pji/article/view/49/23>
- Rehman, K., & Akash, M. S. H. (2017). Mechanism of Generation of Oxidative Stress and Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus: How Are They Interlinked? *Journal of Cellular Biochemistry*, 118(11), 3577–3585. <https://doi.org/10.1002/jcb.26097>
- Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60(9), 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Rourke, J. L., Hu, Q., & Srean, R. A. (2018). AMPK and Friends: Central Regulators of  $\beta$  Cell Biology. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 29(2), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.11.007>
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N.,



- Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A. A., Ogurtsova, K., Shaw, J. E., Bright, D., & Williams, R. (2019). Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *157*, 107843. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.107843>
- Sag, D., Carling, D., Stout, R. D., & Suttles, J. (2008). Adenosine 5'-Monophosphate-Activated Protein Kinase Promotes Macrophage Polarization to an Anti-Inflammatory Functional Phenotype. *The Journal of Immunology*, *181*(12), 8633–8641. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.12.8633>
- Sahuleka, F. F., Bessy, N. N., & Mapanawang, A. L. (2018). *IDENTIFICATION OF PALMITIC ACID COMPOUNDS IN LEAVES OF DRAGON TAIL LEAVES*. *3*(04), 1115–1119. <https://doi.org/10.22301/IJHMCR.2528-3189.1115>
- Shihab, M. Q. (2017). *Tafsir al-Mishbah: pesan, kesan, dan keserasian al-Qur'an, volume 2* (Edisi Revi). Lentera Hati.
- Siswodihardjo, S. (2016). *KIMIA MEDISINAL 1, Edisi Kedua, 2016* (2nd ed., Issue March). Airlangga University Press.
- Skyler, J. S., Bakris, G. L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R. H., Groop, L., Groop, P. H., Handelsman, Y., Insel, R. A., Mathieu, C., McElvaine, A. T., Palmer, J. P., Pugliese, A., Schatz, D. A., Sosenko, J. M., Wilding, J. P. H., & Ratner, R. E. (2017). Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes*, *66*(2), 241–255.

<https://doi.org/10.2337/db16-0806>

- Soelistijo, S., Novida, H., Rudijanto, A., Soewondo, P., Suastika, K., Manaf, A., Sanusi, H., Lindarto, D., Shahab, A., Pramono, B., Langi, Y., Purnamasari, D., & Soetedjo, N. (2015). Konsensus Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe2 Di Indonesia 2015. In *Perkeni*.  
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2019/01/4.-Konsensus-Pengelolaan-dan-Pencegahan-Diabetes-melitus-tipe-2-di-Indonesia-PERKENI-2015.pdf&ved=2ahUKEwjy8KOs8cfoAhXCb30KHQb1Ck0QFjADegQIBhAB&usg=AOv>
- Steinberg, G. R., Michell, B. J., van Denderen, B. J. W., Watt, M. J., Carey, A. L., Fam, B. C., Andrikopoulos, S., Proietto, J., Görgün, C. Z., Carling, D., Hotamisligil, G. S., Febbraio, M. A., Kay, T. W., & Kemp, B. E. (2006). Tumor necrosis factor  $\alpha$ -induced skeletal muscle insulin resistance involves suppression of AMP-kinase signaling. *Cell Metabolism*, 4(6), 465–474.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.11.005>
- Suhardi, M. P. (2016). *Guru pembelajar*. 1–19.
- Szkudelski, T., & Szkudelska, K. (2019). The relevance of AMP-activated protein kinase in insulin-secreting  $\beta$  cells: a potential target for improving  $\beta$  cell function? *Journal of Physiology and Biochemistry*, 75(4), 423–432.  
<https://doi.org/10.1007/s13105-019-00706-3>
- Tang, H. C., & Chen, C. Y. C. (2014). In silico design for adenosine monophosphate-activated protein kinase agonist from traditional Chinese medicine for treatment of metabolic syndromes. *Evidence-Based*

*Complementary and Alternative Medicine*, 2014.

<https://doi.org/10.1155/2014/928589>

Tanrikulu, Y., Krüger, B., & Proschak, E. (2013). The holistic integration of virtual screening in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 18(7–8), 358–364. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.01.007>

Tao, R., Gong, J., Luo, X., Zang, M., Guo, W., Wen, R., & Luo, Z. (2010). AMPK exerts dual regulatory effects on the PI3K pathway. *Journal of Molecular Signaling*, 5, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1750-2187-5-1>

Tian, S., Wang, J., Li, Y., Li, D., Xu, L., & Hou, T. (2015). The application of in silico drug-likeness predictions in pharmaceutical research. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 86, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2015.01.009>

Viollet, B., Horman, S., Leclerc, J., Lantier, L., Foretz, M., Billaud, M., Giri, S., & Andreelli, F. (2010). AMPK inhibition in health and disease. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 45(4), 276–295. <https://doi.org/10.3109/10409238.2010.488215>

Wallace, A. C., Laskowski, R. A., & Thornton, J. M. (1995). Ligplot: A program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Engineering, Design and Selection*, 8(2), 127–134. <https://doi.org/10.1093/protein/8.2.127>

Wang, J., Yang, X., & Zhang, J. (2016). Bridges between mitochondrial oxidative stress, ER stress and mTOR signaling in pancreatic  $\beta$  cells. *Cellular Signalling*, 28(8), 1099–1104. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2016.05.007>

WHO. (2016). (No Title). [https://www.who.int/diabetes/country-profiles/idn\\_en.pdf](https://www.who.int/diabetes/country-profiles/idn_en.pdf)

- WHO. (2020). *Diabetes*. WHO. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Woolley, A. (2008). Introduction to Toxicology. *A Guide to Practical Toxicology*, 1–35. <https://doi.org/10.1201/9781420043150-2>
- Xiao, B., Sanders, M. J., Carmena, D., Bright, N. J., Haire, L. F., Underwood, E., Patel, B. R., Heath, R. B., Walker, P. A., Hallen, S., Giordanetto, F., Martin, S. R., Carling, D., & Gamblin, S. J. (2013). Structural basis of AMPK regulation by small molecule activators. *Nature Communications*, 4, 1–10. <https://doi.org/10.1038/ncomms4017>
- Yuan, D., Xiao, D., Gao, Q., & Zeng, L. (2019). PGC-1 $\alpha$  activation: a therapeutic target for type 2 diabetes? *Eating and Weight Disorders*, 24(3), 385–395. <https://doi.org/10.1007/s40519-018-0622-y>
- Zeng, T., Zhou, J., He, L., Zheng, J., Chen, L., Wu, C., & Xia, W. (2016). Blocking Nuclear Factor-Kappa B Protects against Diet-Induced Hepatic Steatosis and Insulin Resistance in Mice. *PLoS ONE*, 11(3), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149677>
- Zhang, Q., Kong, X., Yuan, H., Guan, H., Li, Y., & Niu, Y. (2019). Mangiferin improved palmitate-induced-insulin resistance by promoting free fatty acid metabolism in HepG2 and C2C12 cells via PPAR $\alpha$ : Mangiferin improved insulin resistance. *Journal of Diabetes Research*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/2052675>
- Zhu, T., Cao, S., Su, P. C., Patel, R., Shah, D., Chokshi, H. B., Szukala, R., Johnson, M. E., & Hevener, K. E. (2013). Hit identification and optimization in virtual screening: Practical recommendations based on a critical literature

analysis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(17), 6560–6572.


<https://doi.org/10.1021/jm301916b>




## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Hasil Uji *Human Intestinal Absorbtion*

#### a. *Palmitic acid*

	HIA	98.297110
ID:	HIA	
Title:	Human intestinal absorption (HIA, %)	
Description:	Human intestinal absorption	
Value:	98.297110	

#### b. Metformin

	HIA	45.666887
ID:	HIA	
Title:	Human intestinal absorption (HIA, %)	
Description:	Human intestinal absorption	
Value:	45.666887	

### Lampiran 2. Hasil Uji Lipinski rule of five

#### a. *Palmitic Acid*

##### Result

```
mass: 256.000000
hydrogen bond donor: 1
hydrogen bond acceptors: 2
LOGP: 5.552299
Molar Refractivity: 77.947777
```

#### b. Metformin

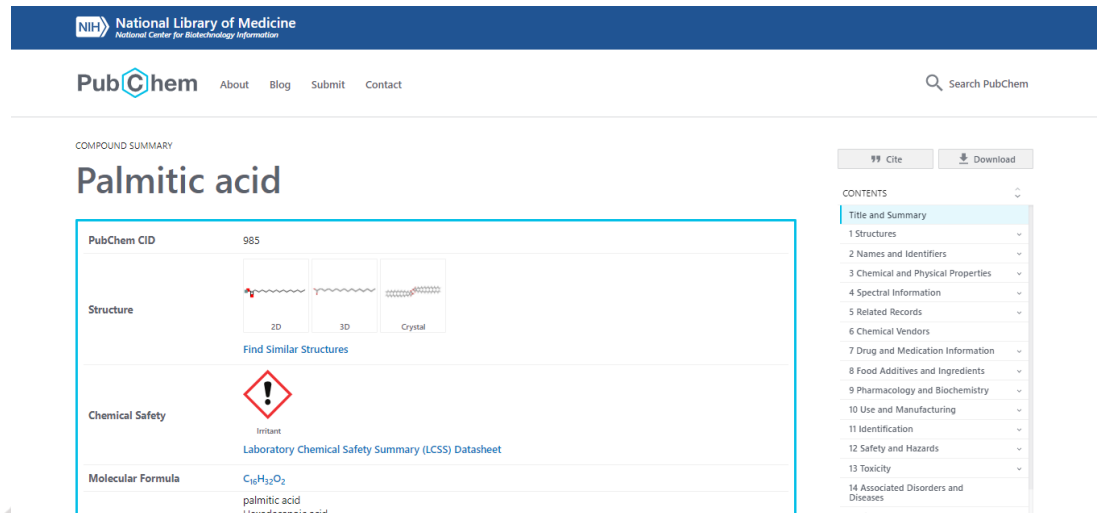
##### Result

```
mass: 129.000000
hydrogen bond donor: 5
hydrogen bond acceptors: 5
LOGP: -1.243830
Molar Refractivity: 37.223495
```

### Lampiran 3. Preparasi Ligan

1. Ligan yang akan digunakan diunduh melalui website

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>



NIH National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

PubChem About Blog Submit Contact

Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

## Palmitic acid

PubChem CID: 985

Structure: 2D, 3D, Crystal

Find Similar Structures

Chemical Safety: Irritant  
Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

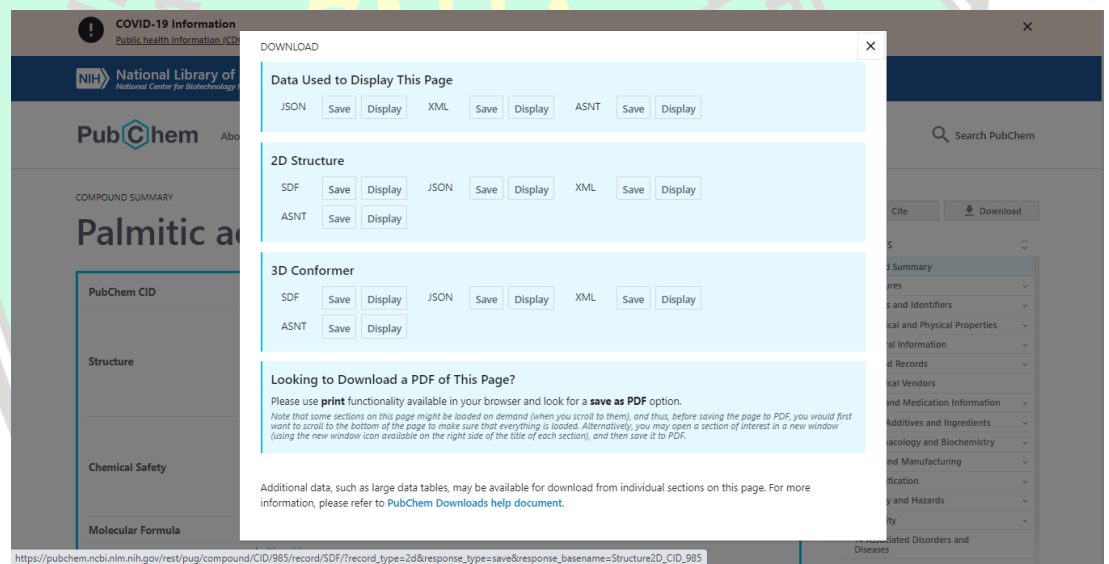
Molecular Formula:  $C_{16}H_{32}O_2$   
palmitic acid  
Monocarboxylic acid

Cite Download

CONTENTS

- Title and Summary
- Structures
- Names and Identifiers
- Chemical and Physical Properties
- Spectral Information
- Related Records
- Chemical Vendors
- Drug and Medication Information
- Food Additives and Ingredients
- Pharmacology and Biochemistry
- Use and Manufacturing
- Identification
- Safety and Hazards
- Toxicity
- Associated Disorders and Diseases

2. Ligan yang diunduh berbentuk 3D dengan format SDF



COVID-19 Information  
Public health information (CDC)

NIH National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

PubChem About Blog Submit Contact

Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

## Palmitic acid

PubChem CID: 985

Structure: 2D, 3D, Crystal

Find Similar Structures

Chemical Safety: Irritant  
Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

Molecular Formula:  $C_{16}H_{32}O_2$   
palmitic acid  
Monocarboxylic acid

Cite Download

CONTENTS

DOWNLOAD

Data Used to Display This Page

JSON Save Display XML Save Display ASNT Save Display

2D Structure

SDF Save Display JSON Save Display XML Save Display

ASNT Save Display

3D Conformer

SDF Save Display JSON Save Display XML Save Display

ASNT Save Display

Looking to Download a PDF of This Page?

Please use **print** functionality available in your browser and look for a **save as PDF** option.

Note that some sections on this page might be loaded on demand (when you scroll to them), and thus, before saving the page to PDF, you would first want to scroll to the bottom of the page to make sure that everything is loaded. Alternatively, you may open a section of interest in a new window (using the new window icon available on the right side of the title of each section), and then save it to PDF.

Additional data, such as large data tables, may be available for download from individual sections on this page. For more information, please refer to [PubChem Downloads help document](#).

[https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/rest/pug/compound/CID/985/record/SDF?record\\_type=2&response\\_type=save&response\\_basename=Structure2D\\_CID\\_985](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/rest/pug/compound/CID/985/record/SDF?record_type=2&response_type=save&response_basename=Structure2D_CID_985)

## Lampiran 4. Preparasi Reseptor

1. Struktur 3D reseptor AMPK diunduh dari Protein Data Base (PDB)

melalui website <https://www.rcsb.org> dengan kode 2Y8L.

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn More Documentation Careers MyPDB

Structure Summary 3D View Annotations Experiment Sequence Genome Ligands Versions

Biological Assembly 1

## 2Y8L

Structure of the regulatory fragment of mammalian AMPK in

DOI: 10.2210/pdb2Y8L/pdb

Classification: **TRANSFERASE**

Organism(s): Rattus norvegicus, Homo sapiens

Expression System: Escherichia coli

Mutation(s): No

Deposited: 2011-02-07 Released: 2011-03-16

Deposition Author(s): Xiao, B., Sanders, M.J., Underwood, E., Heath, R., M.P.A., Eccleston, J.F., Haire, L.F., Saiu, P., Howell, S.A., Aasland, R., Martin, S.

Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION

Resolution: 2.50 Å

R-Value Free: 0.253

R-Value Work: 0.228

R-Value Observed: 0.229

wwPDB Validation

Metric

Clashscore

Ramachandran outliers

Sidechain outliers

RSRZ outliers

Biological Assembly 1

Structure Factors (CIF)

Structure Factors (CIF - gz)

Validation Full PDF

Validation XML

1o-fc Map (DSN6)

2fo-fc Map (DSN6)

Map Coefficients (MTZ format)

3D View: Structure | Electron Density | Ligand Interaction

Global Symmetry: Asymmetric - C1

Global Stoichiometry: Hetero 3-mer - A1B1C1

tsb.org/download/2Y8L.pdb.mblies

2. Cek terlebih dahulu pada software notepad apakah ada *missing residues*.

```

440 REMARK 350 BIOMT3 1 0.000000 0.000000 1.000000 0.000000
441 REMARK 465
442 REMARK 465 MISSING RESIDUES
443 REMARK 465 THE FOLLOWING RESIDUES WERE NOT LOCATED IN THE
444 REMARK 465 EXPERIMENT. (M=MODEL NUMBER; RES=RESIDUE NAME; C=CHAIN
445 REMARK 465 IDENTIFIER; SSSEQ=SEQUENCE NUMBER; I=INSERTION CODE.)
446 REMARK 465
447 REMARK 465 M RES C SSSEQI
448 REMARK 465 MET A 378
449 REMARK 465 SER A 379
450 REMARK 465 HIS A 380
451 REMARK 465 HIS A 381
452 REMARK 465 HIS A 382
453 REMARK 465 HIS A 383
454 REMARK 465 HIS A 384
455 REMARK 465 HIS A 385
456 REMARK 465 SER A 386
457 REMARK 465 GLY A 387
458 REMARK 465 LEU A 388
459 REMARK 465 VAL A 389
460 REMARK 465 PRO A 390
461 REMARK 465 ARG A 391
462 REMARK 465 GLY A 392
463 REMARK 465 ILE A 470
464 REMARK 465 THR A 471
465 REMARK 465 GLU A 472
466 REMARK 465 ALA A 473
467 REMARK 465 LYS A 474
468 REMARK 465 SER A 475
469 REMARK 465 GLY A 476
470 REMARK 465 THR A 477
471 REMARK 465 ALA A 478
472 REMARK 465 THR A 479
473 REMARK 465 PRO A 480
474 REMARK 465 GLN A 481
475 REMARK 465 ARG A 482
476 REMARK 465 SER A 483
477 REMARK 465 GLY A 484
478 REMARK 465 SER A 485
479 REMARK 465 ILE A 486
  
```

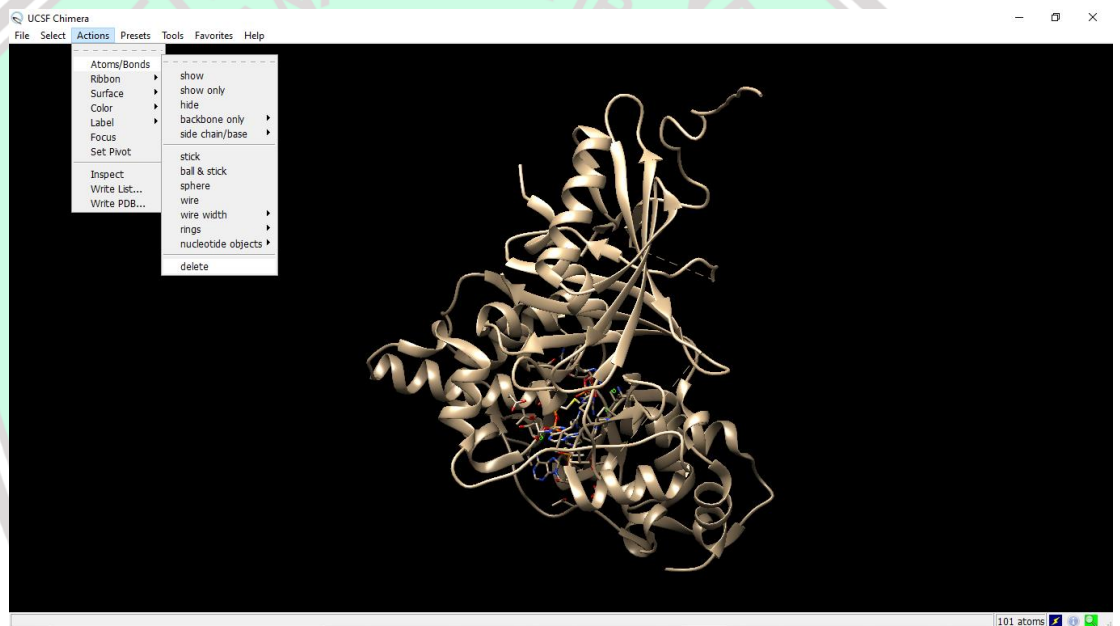
Normal text file length: 728,514 lines: 8,995 Ln: 1 Col: 1 Pos: 1 Unix (LF) UTF-8 INS

3. Membuka file AMPK \*.pdb dalam software chimera ataupun pymol.

Kemudian dilakukan pemisahan molekul air

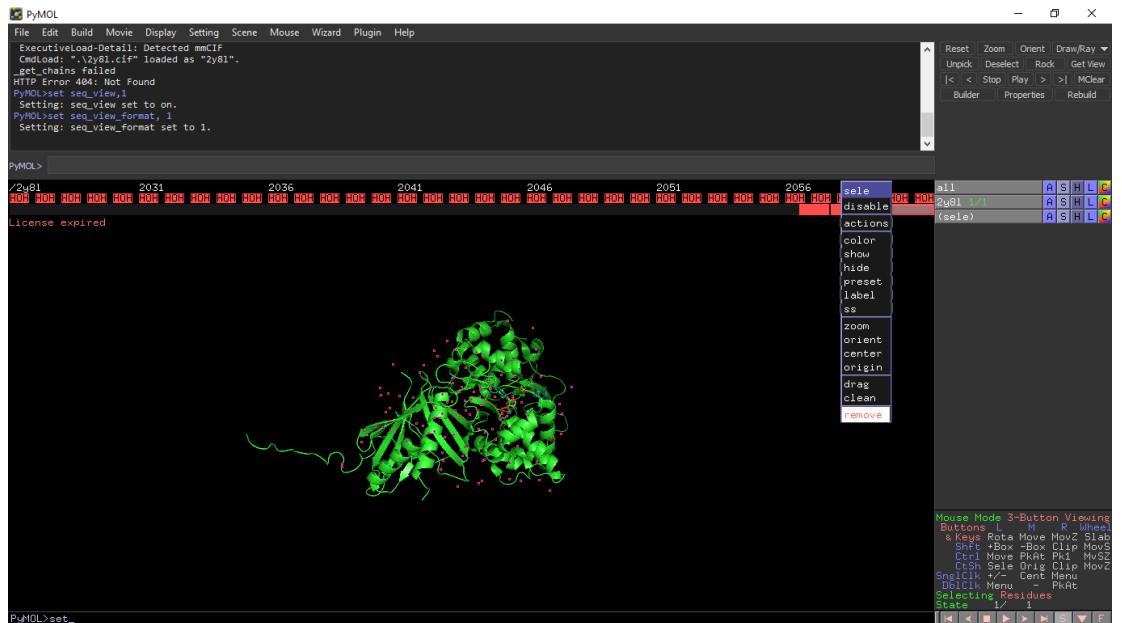
a. Chimera





Pilih select → Residues → HOH, dan Actions → Atom/Bonds → Delete

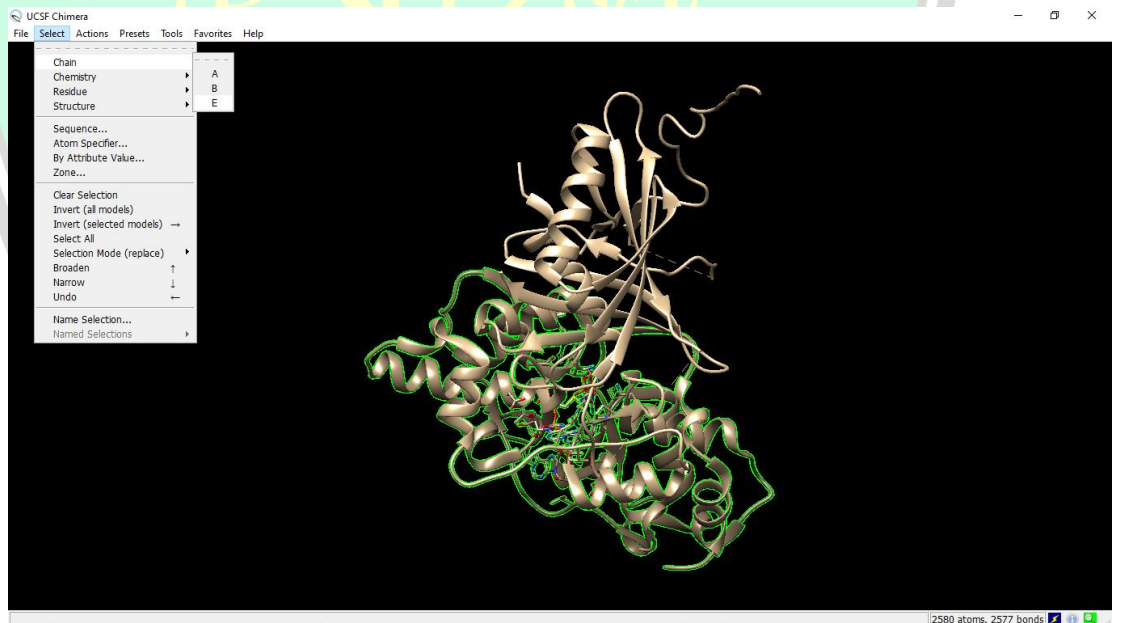
b. Pymol



Klik segmen HOH → klik kanan → remove

4. Dilakukan juga pemisahan chains (rantai) yang akan digunakan dan pemisahan *native ligand*. selanjutnya disimpan dalam format \*.pdb.

a. Chimera

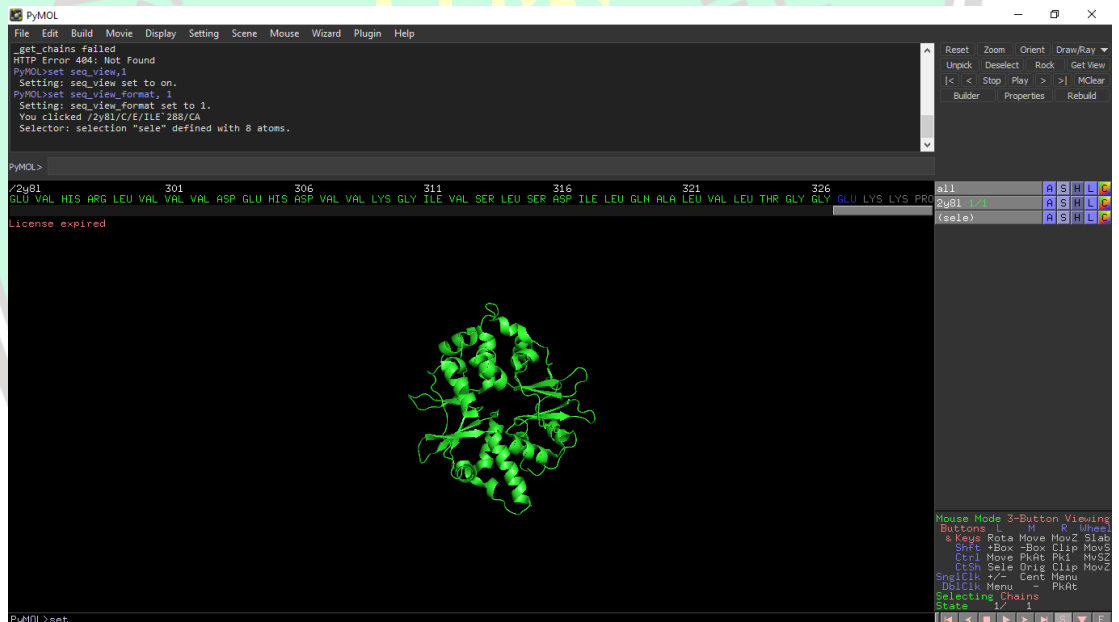


Pilih select → Chain → A,B, dan Actions → Atom/Bonds → Delete



Pilih *select* → *Chain* → *E* dan *File* → *save PDB*

## b. Pymol



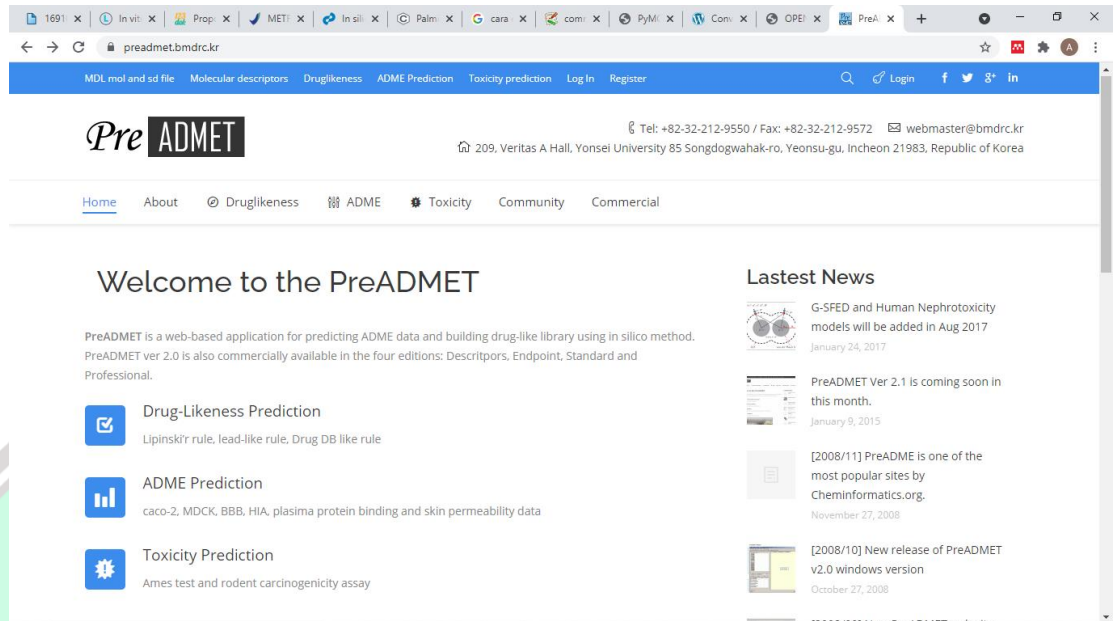
Klik *Selecting* → *Chains* → delete chain dan residu yang tidak dibutuhkan

→ *Save As \*.pdb*

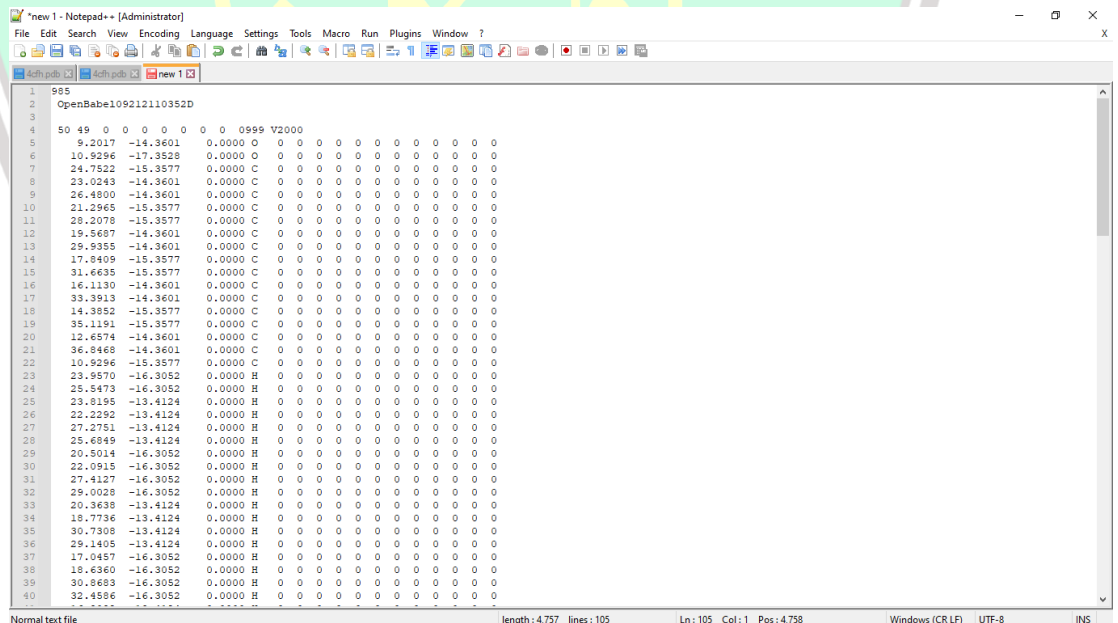
## Lampiran 5. Uji *Human Intestinal Absorption* (HIA)

1. Buka situs Pre ADMET online di website <https://preadmet.bmdrc.kr/>

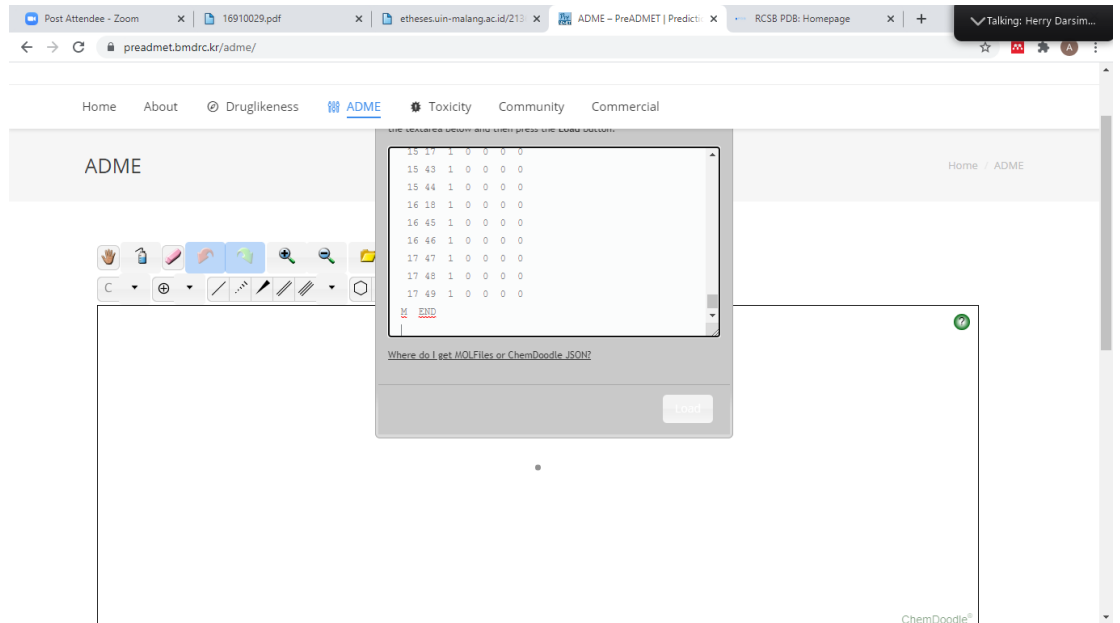
kemudian pilih ADME prediction



2. File ligan yang sebelumnya dalam bentuk format SDF dirubah menjadi MOL, lalu file ligan tersebut dicopy ke notepad



3. Masukkan file ligan \*MOL yang telah dicopy di notepad ke Load Molecule pada website pre ADMET online



#### 4. Hasil prediksi *Human Intestinal Absorption (HIA)*

The screenshot shows the PreADMET prediction results. The table below lists the predicted values for various ADMET parameters:

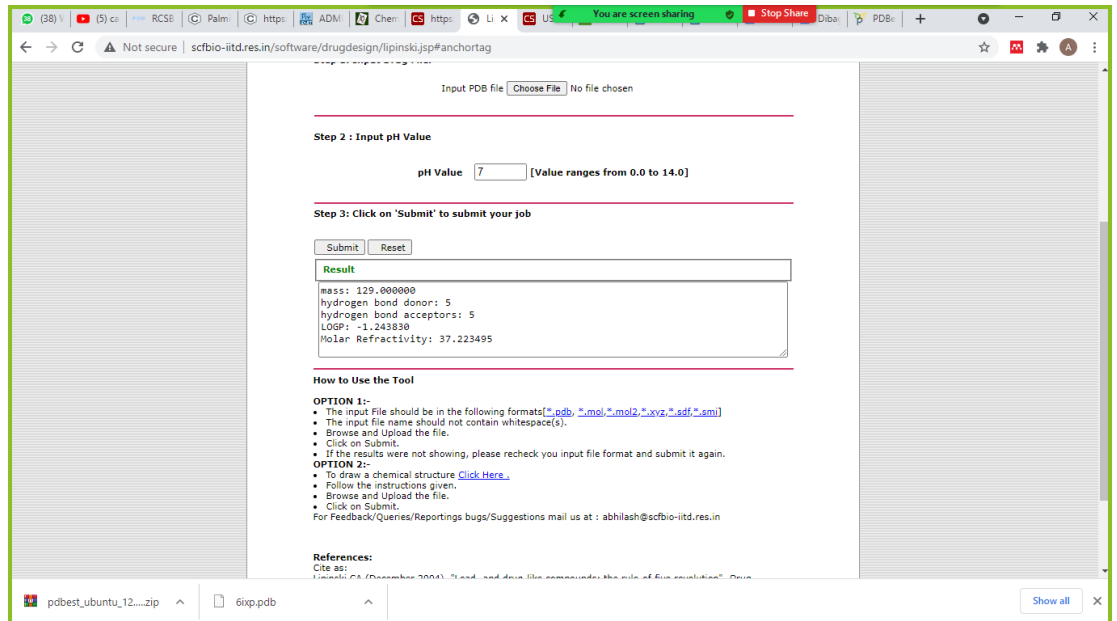
ID	Value
BBB	8.21885
Buffer_solubility_mg_L	136.24
Caco2	26.0735
CYP_2C19_inhibition	Inhibitor
CYP_2C9_inhibition	Inhibitor
CYP_2D6_inhibition	Non
CYP_2D6_substrate	Non
CYP_3A4_inhibition	Inhibitor
CYP_3A4_substrate	Non
HIA	98.297110
MDCK	70.5083*
Pgp_inhibition	Inhibitor
Plasma_Protein_Binding	100.000000
Pure_water_solubility_mg_L	1.70214

### Lampiran 6. Uji Lippinski Rule of five (Rof)

1. Buka situs uji Lippinski *Rule of five* online yaitu <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/Lipinski.jsp>

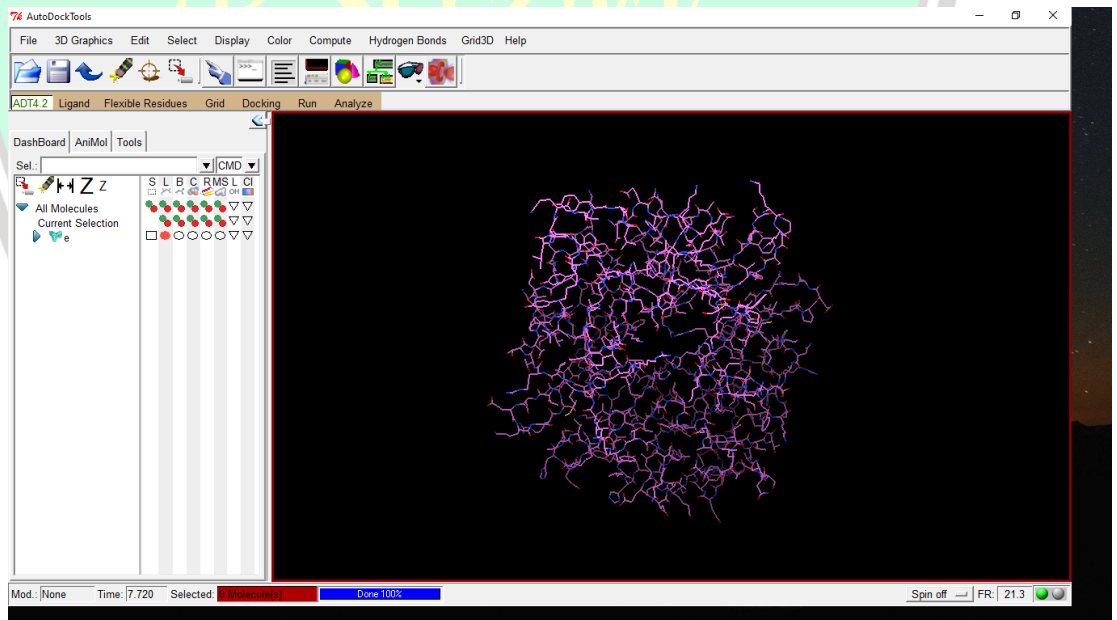
2. Masukkan senyawa ligan bentuk 3D dalam format sdf lalu submit

3. Hasil uji Lippinski *Rule of five* (Rof)

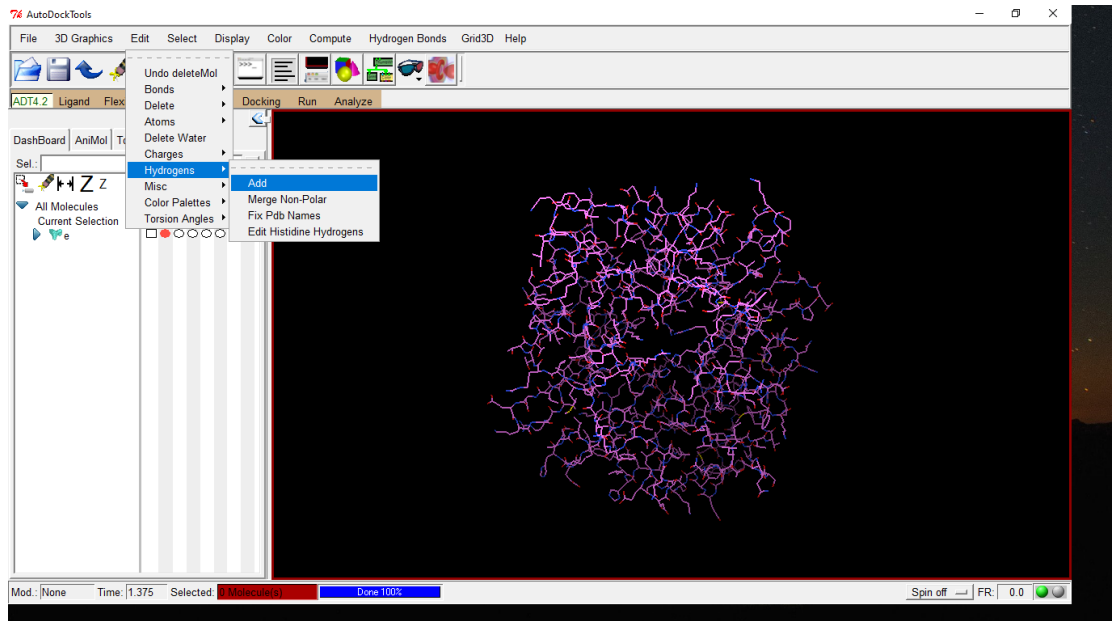


## Lampiran 7. Uji Molecular Docking

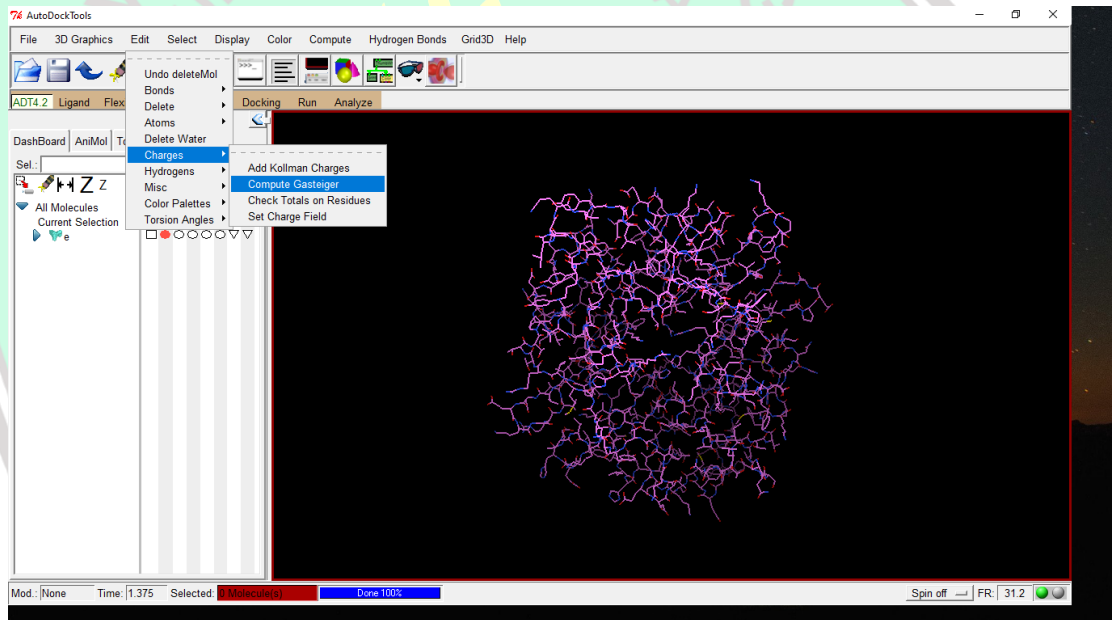
1. Membuka software Autodock kemudian memasukkan file reseptor AMPK yang sudah dipreparasi dalam format \*.pdb



2. Tambahkan muatan parsial (*hydrogen polar*), compute Gasteiger, selanjutnya save as \*.pdbqt

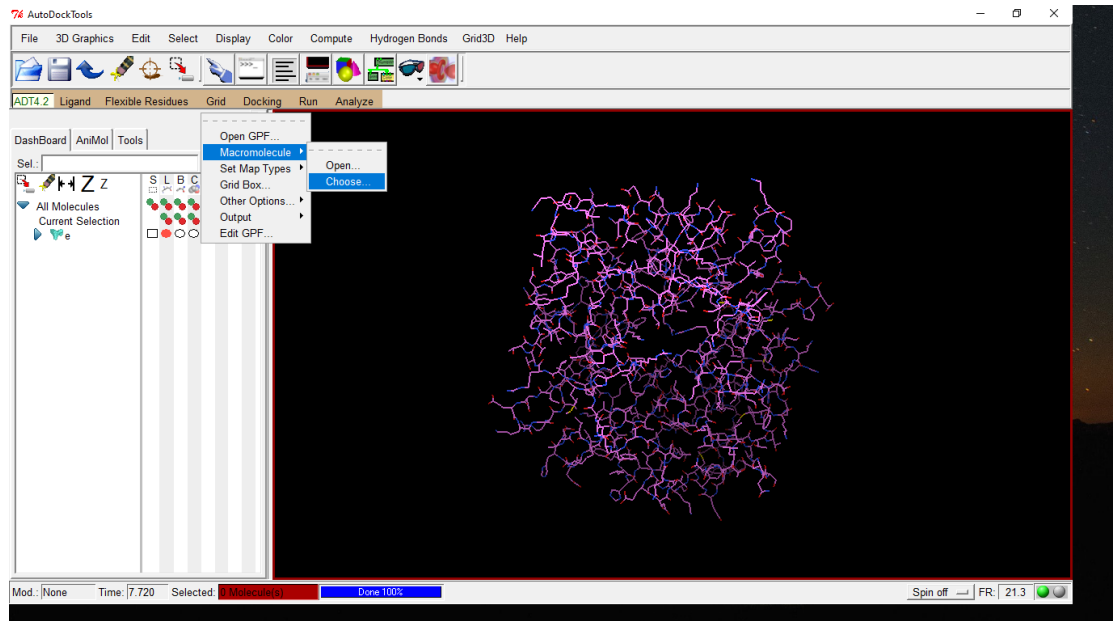


*Pilih Edit → Hydrogens → Add → Polar only → Ok*



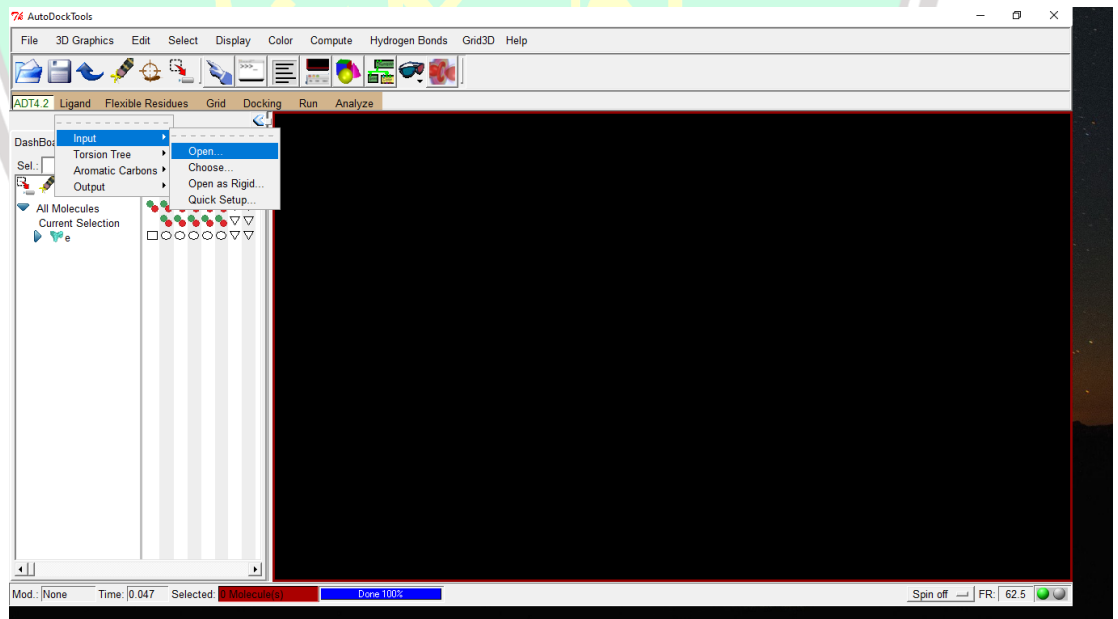
*Pilih Edit → Charges → Compute Gasteiger*



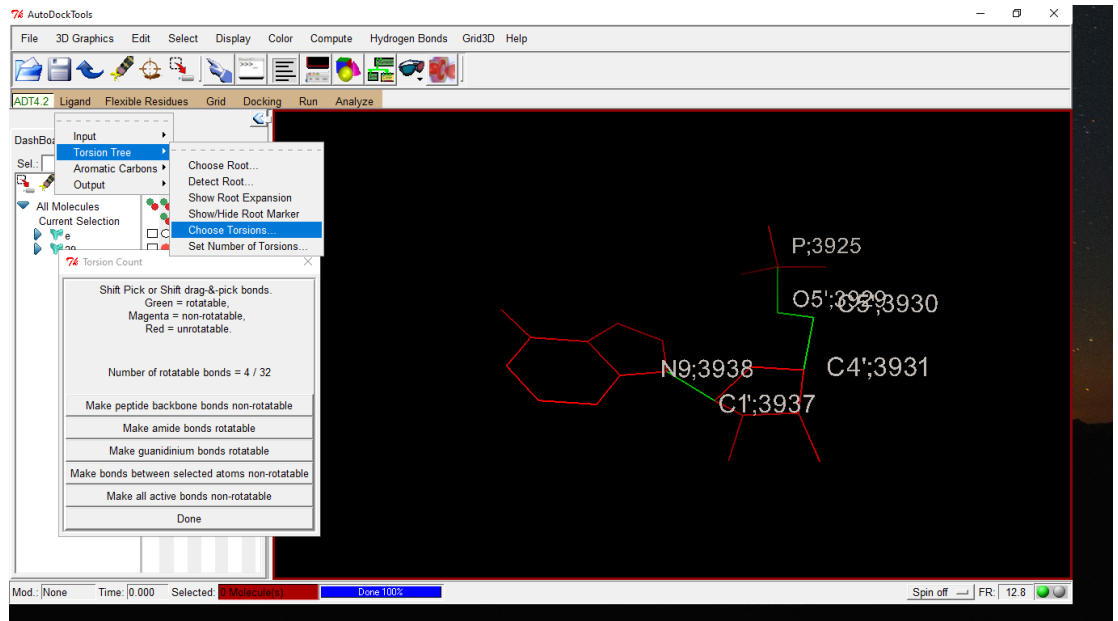


Pilih *Grid* → *Macromolecules* → *Select Molecules*

- Memasukkan senyawa uji serta senyawa pembanding kedalam *software Autodock* agar dapat dilakukan preparasi tahap selanjutnya yaitu *torsion tree*, *aromatic carbons*, *select grid* selanjutnya file di save dengan format *\*pdbqt*

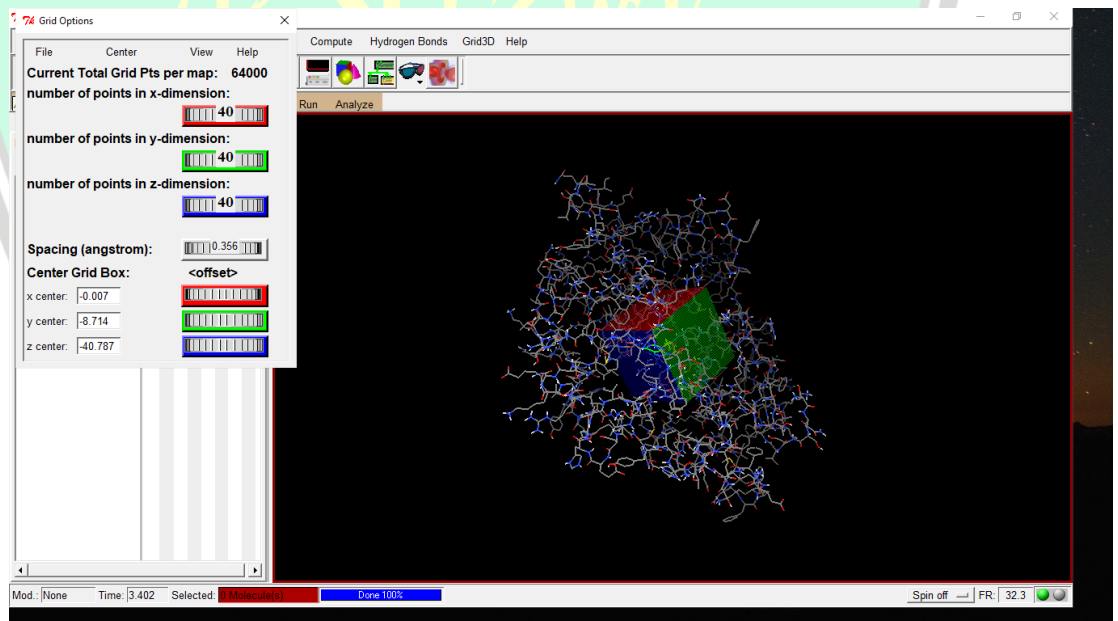


Pilih *Ligand* → *Input* → *Open*



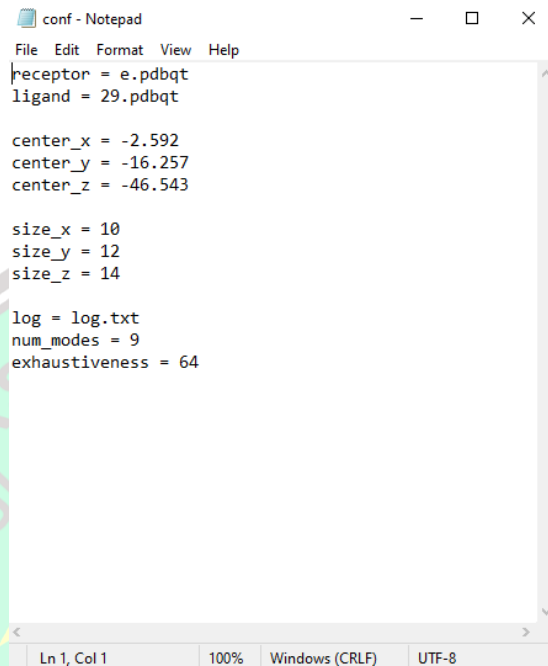
Pilih *Ligand* → *Torsion tree* → *Choose Torsions* → *Set Number of Torsions* →  
*Done*

- Pilih menu *gridbox* untuk menentukan target docking pada reseptor AMPK yang telah dimasukkan kedalam *software Autodock*



Pilih *Gridbox* → Atur area *docking* → *File* → *Save As \*txt*

5. Masukkan data yang telah diperoleh dari hasil preparasi ligan, protein reseptor, serta *grid parameter* ke dalam *software notepad* yang sesuai dengan format docking *Autodock Vina* menggunakan *command prompt*.



```
conf - Notepad
File Edit Format View Help
receptor = e.pdbqt
ligand = 29.pdbqt

center_x = -2.592
center_y = -16.257
center_z = -46.543

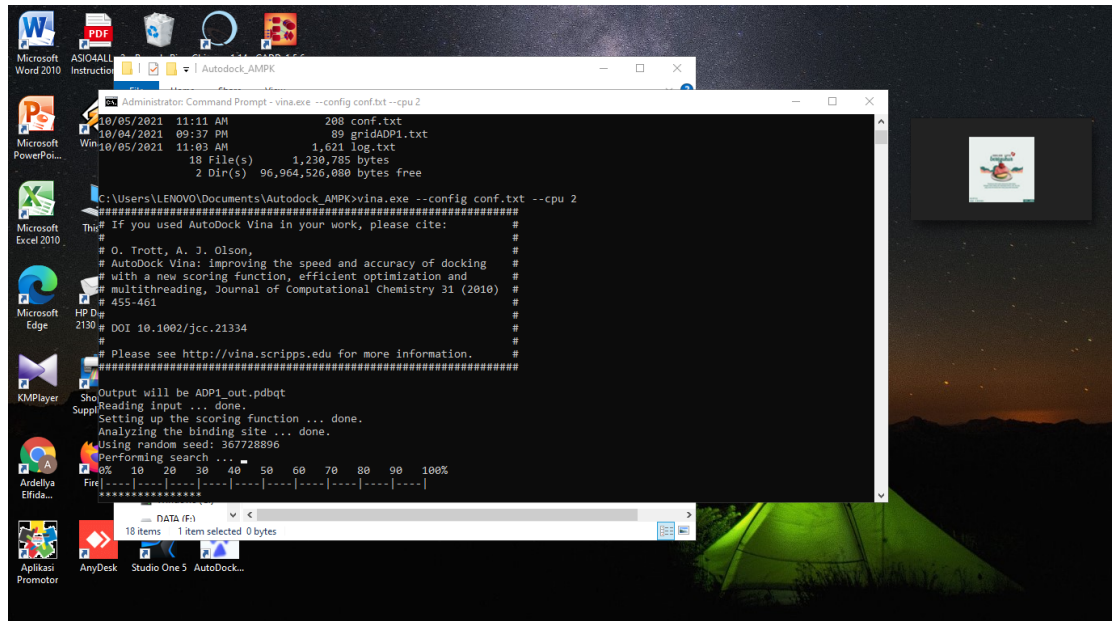
size_x = 10
size_y = 12
size_z = 14

log = log.txt
num_modes = 9
exhaustiveness = 64

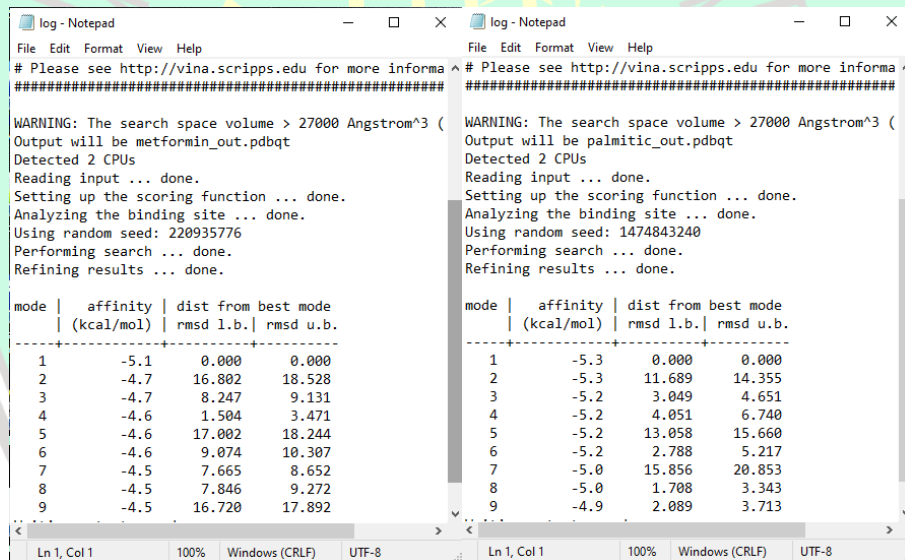
Ln 1, Col 1 100% Windows (CRLF) UTF-8
```

Buka *software notepad* → masukan format docking yang telah di save → *Save As* \*txt

6. Buka *software command prompt* kemudian masukan perintah algoritma untuk memulai proses simulasi *docking* menggunakan *Autodock Vina* dalam *command prompt*.

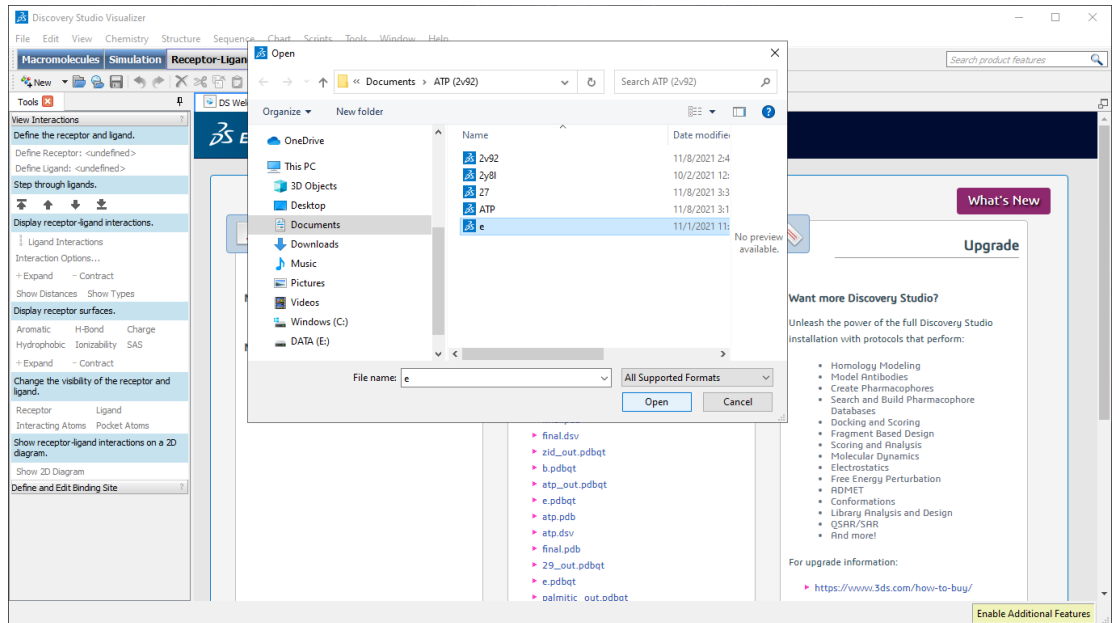


- Setelah selesai, hasil validasi docking dapat dibuka menggunakan *software notepad* dengan file nama *log.txt*

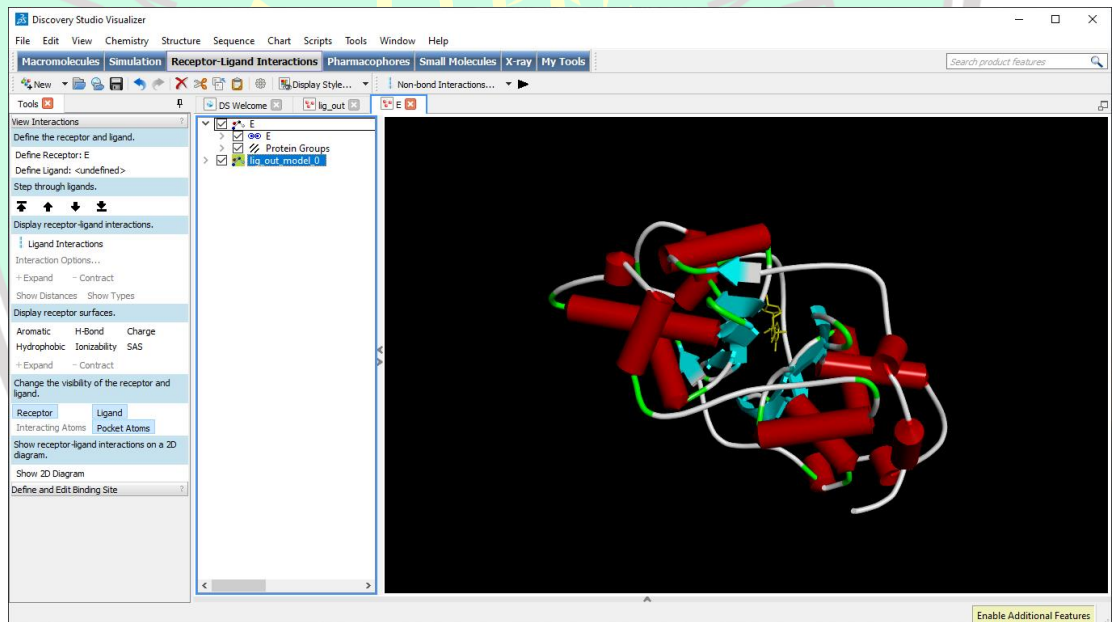


## Lampiran 8. Visualisasi Hasil Molecular Docking

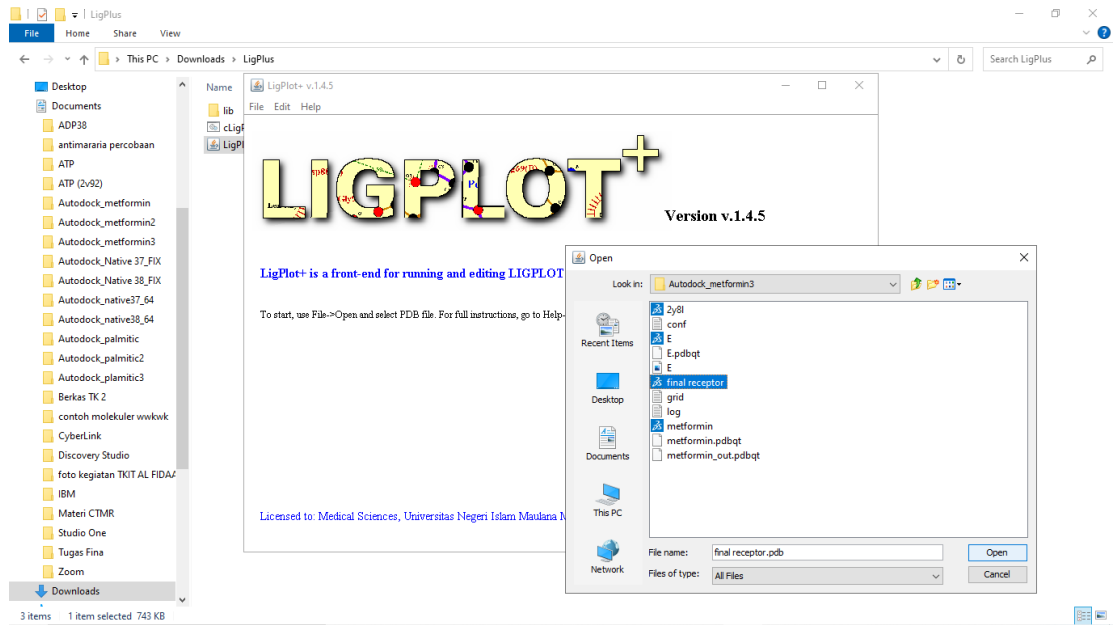
- Buka *software Discovery Studio*, masukkan file reseptor yang sudah dipreparasi sebelumnya dan output ligan hasil *docking* yang didapat.



2. Gabungkan kedua file tersebut, kemudian di save dalam bentuk format \*pdb



3. Buka LigPlot+ 1.4.5 kemudian masukan file yang tadi telah di save dalam bentuk format \*pdb



#### 4. Tunggu dan hasil visualisasi molecular docking akan keluar

