

**STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI ANTI DIABETES PADA RESEPTOR PPAR γ**

SKRIPSI

**Oleh:
RISMA APRIYANI
NIM.19630022**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

**STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia L.*) GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI ANTI DIABETES PADA RESEPTOR PPAR γ**

SKRIPSI

**Oleh:
RISMA APRIYANI
NIM.19630022**

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

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGRI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

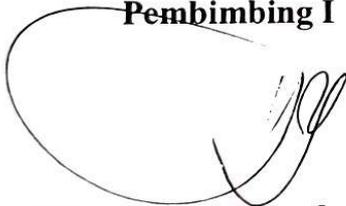
**STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia* L.) GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI ANTI DIABETES PADA RESEPTOR PPAR γ**

SKRIPSI

Oleh :
RISMA APRIYANI
NIM.19630022

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Dr. M. Makhlis Faruddin, M.S.I
NIPT. 201402011409

**Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia**



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

**STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF BUAH PARE
(*Momordica charantia L.*) GOLONGAN FLAVONOID
SEBAGAI ANTI DIABETES PADA RESEPTOR PPAR γ**

SKRIPSI

oleh:
RISMA APRIYANI
NIM.19630022

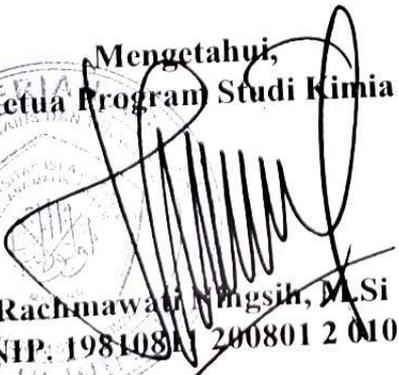
**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal : 30 November 2023**

Penguji Utama : **A. Ghanaim Fasya, M.Si**
NIP. 19820616 200604 1 002 

Ketua Penguji : **Nur Aini, M.Si**
NIP. 19840608 201903 2 009 

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

Anggota Penguji : **Dr. M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I**
NIPT. 201402011409 

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kimia

Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810801 200801 2 010


PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Risma Apriyani

NIM : 19630022

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Studi In Silico Senyawa Aktif Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Golongan Flavonoid Sebagai Anti Diabetes Pada Reseptor PPAR γ

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

Malang, 30 Agustus 2023

Yang membuat pernyataan,



Risma Apriyani
NIM.19630022

MOTTO

“ Libatkanlah Allah dalam Semua Urusanmu”

Ketika kamu melibatkan Allah dalam semua urusanmu maka hidupmu akan teratur rapih dan bahagia. Perbaiki apa yang mampu kamu perbaiki, ubah apa yang mampu kamu ubah, tidak usah memikirkan hasil yang memang bukan urusanmu, biarlah Rabbmu yang mengaturnya untukmu

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq, dan hidayah-Nya tiada henti dan tiada batas kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian yang berjudul “Studi In Silico Senyawa Aktif Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Golongan Flavonoid sebagai Antidiabetes pada Reseptor PPAR γ ” dengan tepat waktu dan semaksimal mungkin.

Shalawat beriringkan salam selalu kami haturkan pada junjungan nabi besar kita, Nabi Muhammad SAW yang telah membimbing kita ke jalan yang di ridhai Allah SWT. Proposal ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu tugas akhir studi yang harus di tempuh sebagai prasyarat menyelesaikan program Strata-1 Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Proposal ini diselesaikan tidak lepas dari dukungan, motivasi, serta bimbingan dari berbagai pihak. Tidak ada kata yang patut terucap untuk menguntai sedikit makna kebahagiaan ini. Oleh karena itu, ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini dengan baik.
2. Kedua orang tua, Bapak dan Inak yang telah memberikan dukungan moril maupun materil, perhatian, doa serta semangat kepada penulis hingga sampai saat ini.
3. Bapak Prof. Dr. M. Zainuddin, M.A., selaku Rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Ibu Himmatul Barroroh, M.Si. selaku dosen pembimbing yang senantiasa meluangkan waktunya dan dengan sabar memberikan ilmu, pengarahan, bimbingan, nasehat, waktu, tenaga, dan petunjuk selama penyusunan skripsi ini.
7. Bapak Dr. M. Mukhlis Fahrudin selaku dosen pembimbing agama yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga, ilmu, pengarahan dan nasihatnya

selama penyusunan skripsi ini.

8. Bapak A. Ghanaim Fasya M.Si dan Ibu Nur Aini M.Si selaku dosen penguji yang senantiasa meluangkan waktunya untuk membagikan ilmu, memberikan masukan serta pengarahannya dalam proses penyusunan skripsi ini.
9. Seluruh Dosen jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu dan pengetahuannya kepada penulis selama masa studi sebagai pedoman dan bekal bagi penulis. Teriring doa dan harapan semoga apa yang telah dilakukan diberikan balasan terbaik oleh Allah SWT Aamiin.
10. Semua teman-teman kimia 2019 dan semua pihak yang telah membantu dalam penulisan proposal ini, khususnya kakak tingkatku kak yadi, kak argo, kak holipah, kak safira serta teman-teman penelitian komputasi 19 tajul dan yustika yang telah meluangkan waktunya untuk mengajari banyak hal mengenai komputasi dan sering saya repotkan perihal penelitian ini.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
MOTTO	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xii
ABSTRACT.....	xiv
مستخلص البحث	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
1.6 Manfaat Penelitian	7
1.7 Hipotesis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Diabetes Melitus.....	8
2.2 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam.....	10
2.3 <i>Momordica charantia</i> Linn.....	12
2.4 Senyawa Aktif (<i>Momordica charantia</i> L.) golongan Flavonoid.....	14
2.5 Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR γ).....	17
2.6 Antidiabetik Oral Pioglitazone.....	19
2.7 Protein dan Asam Amino.....	22
2.8 Molecular Docking	23
2.9 Interaksi Ikatan Protein Ligan	27
2.9.1 Ikatan Van der Walls.....	28
2.9.2 Ikatan Hidrofobik	28
2.9.3 Ikatan Ionik (elektrostatik)	28
2.9.4 Ikatan Hidrogen	29
2.10 Optimasi Hasil Docking	29
2.11 Visualisasi Hasil Docking.....	30
2.12 Aplikasi Komputasi	30
2.12.1 Autodock	30
2.12.2 Yasara	31

2.12.3 Pymol.....	31
2.12.4 USCF Chimera	32
2.12.5 Discovery Studio Visualization.....	32
2.12.6 pkCSM.....	33
2.12.7 PASSOnline.....	33
BAB III METODELOGI PENELITIAN	34
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	34
3.2 Alat	34
3.3 Bahan	34
3.4 Rancangan Penelitian	35
3.5 Tahapan Penelitian	35
3.6 Prosedur Penelitian	36
3.6.1 Preparasi Protein Reseptor PPAR γ	36
3.6.2 Preparasi Struktur Ligan	37
3.6.3 Validasi Metode Molekular Docking (Redocking)	38
3.6.4 Penambatan Molekul dengan Autodock 4.2.....	39
3.6.4.1 Pembentukan File GLG	39
3.6.4.2 Pembentukan File DPF	39
3.6.4.3 Pembentukan File DLG	40
3.6.5 Optimasi Konformasi Hasil Docking	40
3.6.6 Visualisasi Interaksi Hasil Docking	41
3.6.7 Uji Sifat Farmakokinetika senyawa Uji dengan pkCSM	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	43
4.1 Preparasi Struktur PPAR γ	43
4.2 Preparasi Struktur Ligan	45
4.3 Validasi Metode Docking (Redocking)	47
4.4 Penambatan Molekul (Molekular Docking)	52
4.5 Optimasi Molekul Hasil Docking	53
4.6 Analisis Interaksi, Energi dan Visualisasi Hasil Docking	54
4.7 Hasil Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Senyawa	64
4.8 Prediksi Aktivitas Antidiabetes dengan PASSonline	68
4.9 Molekular Docking Senyawa Flavonoid dalam Perspektif Islam	70
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	76
5.1 Kesimpulan	76
5.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN	85

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Penelitian In Vivo dan In silico Kandungan Senyawa Flavonoid	15
Tabel 2.2 Kandungan Senyawa Flavonoid	16
Tabel 4.1 Daftar Ligan Pubchem	46
Tabel 4.2 Hasil Redocking PPAR γ dengan ligan alami	47
Tabel 4.3 Data residu ikatan hidrogen 8 ligan uji yang memiliki interaksi mirip dengan ligan redocking.....	56
Tabel 4.4 Energi interaksi hasil docking dan hasil optimasi senyawa uji golongan flavonoid	61
Tabel 4.5 Prediksi nilai parameter sifat Farmakokinetik menggunakan pkCSM Online	64
Tabel 4.6 Hasil Analisis Toksisitas.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman <i>Momordica charantia</i> L.	12
Gambar 2.2 Struktur Flavonoid C6-C3-C6.....	14
Gambar 2.3 Mekanisme Aktivasi PPAR γ	17
Gambar 2.4 Mekanisme Pensinyalan dan Metabolisme Pengikatan Reseptor PPAR γ dengan Thiazolinedion.....	20
Gambar 2.5 Struktur Antidiabetik Oral Golongan Thiazolinedion.....	21
Gambar 3.1 Grid Box Penambatan Reseptor dengan Ligan Pioglitazone	37
Gambar 4.1 Reseptor PPAR γ dengan Ligan alami dan tanpa ligan alami.....	44
Gambar 4.2 Visualisasi Interaksi Redocking	47
Gambar 4.3 Visualisasi Interaksi Pioglitazone Redocking Dengan Residu-Residu PPAR γ Menggunakan Pymol.....	50
Gambar 4.4 Perbandingan Posisi Antara Ligan Pioglitazone Asli Dengan Pioglitazone Redocking	52
Gambar 4.5 Pose 3D Liagan Flavonoid Terpilih Dengan Penyesuaian Pada Permukaan PPAR γ	58
Gambar 4.6 Visualisasi Posisi Dan Kesesuaian Ruang Ligan Uji	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Struktur 3D Makromolekul PPAR γ	69
Lampiran 2. Rancangan Penelitian	70
Lampiran 3. Diagram Alir.....	71
Lampiran 4. Struktur 3D Ligan Uji.....	75
Lampiran 5. Data Residu PPAR γ yang terdeteksi Berinteraksi dengan Ligan Uji	77
Lampiran 6. Nilai Pa dan Pi Uji PASSOnline Senyawa Flavonoid sebagai Aktivitas Antidiabetes	82
Lampiran 7. Proses Manual Docking	83
Lampiran 8. Data Lengkap Hasil Optimasi Yasara	86
Lampiran 9. Hasil Analisis Toksisitas	87
Lampiran 10. Visualisasi Interaksi Ligan Flavonoid	88

ABSTRAK

Apriyani, Risma. 2023. **Studi In Silico Senyawa Aktif Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Golongan Flavonoid Sebagai Antidiabetes Pada Reseptor PPAR γ** . Pembimbing I: Himmatul Barroroh, M.Si.; Pembimbing II: Dr.M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I

Kata Kunci: Diabetes Melitus, *Momordica charantia* L., PPAR γ , Molekular Docking, Flavonoid.

Diabetes melitus tipe II merupakan masalah kesehatan dikarenakan pankreas tidak mampu secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya. Tanaman Pare (*Momordica charantia* L.) memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid yang berpotensi sebagai antidiabetes. Salah satu reseptor yang menjadi target pengobatan diabetes adalah PPAR γ . Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi dan potensi senyawa flavonoid sebagai anti diabetes dengan kontrol positif pioglitazon.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu penambatan molekul (*molecular docking*), prediksi farmakokinetik dan toksisitas senyawa yang menginteraksikan 16 senyawa aktif buah pare golongan *Flavonoid* sebagai ligan dan PPAR γ sebagai reseptor dengan optimasi lanjutan menggunakan medan gaya NOVA.

Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa dari 16 senyawa golongan flavonoid setelah dilakukan optimasi diperoleh senyawa terbaik sebagai kandidat antidiabetes, yaitu Quercitrin dan 3'-4'-5'-Trihidroksil flavonol. Senyawa Quercitrin dengan nilai ΔG_{ikatan} -42,3614 Kkal/mol dengan aktivitas biologis yang mirip dengan ligan pioglitazone membentuk interaksi ikatan hidrogen asam amino Ser⁸³. Senyawa 3'-4'-5'-Trihidroksil flavonol dengan ΔG_{ikatan} -42,2591 Kkal/mol membentuk interaksi ikatan hidrogen asam amino Tyr²⁶⁷ dan Ser⁸³ sebelum optimasi dan Tyr²⁶⁷ setelah optimasi. Hasil prediksi farmakokinetik menggunakan pkCSM menunjukkan bahwa tidak semua senyawa flavonoid memenuhi aturan Lipinski, termasuk senyawa Quercitrin yang berpotensi secara interaksi dan energi namun sifat farmakokinetiknya tidak memenuhi. Pada hasil prediksi toksisitas senyawa Luteolin-7-O-glucoside positif Ames toxicity serta senyawa pioglitazone positif hepatoksik. Adapun Hasil prediksi aktivitas biologis dengan PASSonline semua senyawa uji memiliki aktivitas antidiabetes kecuali senyawa Naringenin-7-O-glucoside.

ABSTRACT

Apriyani, Risma. 2023. **Study In Silico The Active Compounds of *Momordica charantia L.* Flavonoid Group as Anti-Diabetes on PPAR γ Receptors.**
Supervisor I: Himmatul Barroroh, M.Sc., Supervisor II: Dr. M. Muchlis Fahrudin.

Keywords: Diabetes Melitus, *Momordica charantia L.*, PPAR γ , *Molecular Docking*, Flavonoid.

Type II diabetes mellitus is a health problem because the pancreas is unable to effectively use the insulin it produces. The bitter melon plant (*Momordica charantia L.*) contains active flavonoid compounds which have anti-diabetic potential. One of the receptors targeted for diabetes treatment is PPAR γ . The aim of this research is to determine the interactions and potential of flavonoid compounds as anti-diabetics with the positive control pioglitazone.

The methods used in this research are molecular docking, pharmacokinetic and toxicity predictions of compounds that interact with 16 active bitter melon compounds in the Flavonoid group as ligands and PPAR γ as receptors with further optimization using the NOVA force field.

The results of molecular docking showed that from 16 compounds in the flavonoid group, after optimization, the best compounds were obtained as antidiabetic candidates, namely Quercitrin and 3'-4'-5'-Trihydroxyl flavonol. The Quercitrin compound with a ΔG_{bind} value of -42.3614 Kcal/mol with biological activity similar to the pioglitazone ligand forms a hydrogen bond interaction for the amino acid Ser83. The 3'-4'-5'-Trihydroxyl flavonol compound with a ΔG_{bind} of -42.2591 Kcal/mol forms a hydrogen bond interaction between the amino acids Tyr267 and Ser83 before optimization and Tyr267 after optimization. The results of pharmacokinetic predictions using pkCSM show that not all flavonoid compounds meet Lipinski's rules, including the Quercitrin compound which has the potential for interactions and energy but its pharmacokinetic properties do not meet it. In the results of the toxicity prediction, the Luteolin-7-O-glucoside compound was positive for toxicity and the pioglitazone compound was positive for hepatotoxicity. As for the biological activity prediction results with PAssonline, all the test compounds had antidiabetic activity except for the Naringenin-7-O-glucoside compound.

مستخلص البحث

ابرياني، ريسما. ٣٢٠٢. دراسة الالتحام الجزيئي (الإرساء الجزيئي) (المركبات النشطة في فاكهة القرع المر (*Momordica charantia L.*) الفلافونويدات مضادة لمرض السكر في مستقبلات PPAR γ املشرف : محتول بروروه ، ماجستر ، دكتور م. مخلص فخر الدين ، ماجستر

: الكلمات المفتاحية. Momordica charantia L. ، PPAR γ ، داء السكري الالتحام الجزيئي الفلافونويدات

ينتجه الذي الأنسولين استخدام على قادر غير البنكرياس لأن صحية مشكلة الثاني النوع من السكري داء يعد النشطة الفلافونويد مركبات على (*Momordica charantia L.*) المر البطيخ نبات يحتوي بفعال بشكل PPAR γ . هو السكري مرض لعلاج المستهدفة المستقبلات أحد. السكري لمرض المضادة القدرة لها التي البيوجليتانزون مع للسكري كمضادات الفلافونويد مركبات وإمكانيات تفاعلات تحديد هو البحث هذا من الهدف الإيجابي التحكم ذو

مع تتفاعل التي للمركبات والسمية الدوائية والتنبؤات الجزيئي الالتحام هي البحث هذا في المستخدمة الطرق من مزيد مع كمستقبلات PPAR γ و الروابط مثل الفلافونويد مجموعة في المر البطيخ من نشطاً مركباً 16 NOVA. قوة مجال باستخدام التحسين

الحصول تم التحسين، بعد الفلافونويد، مجموعة في مركباً 16 بين من أنه الجزيئي الالتحام نتائج أظهرت هيدروكسيل ثلاثي-5'-4'-3' و Quercitrin وهي السكري، لمرض مضادة كمرشحة المركبات أفضل على مشابه بيولوجي نشاط مع مول/كالوري كيلو -42.3614. تبلغ ΔG_{bind} بقيمة كيرسيتين مركب. فلافونول فلافونول مركب يشكل Ser83 الأميني الحمض مع هيدروجينية رابطة تفاعل يشكل البيوجليتانزون لمركب بين هيدروجينية رابطة تفاعل مول/كالوري كيلو -42.2591 ΔG_{bind} مع 3'-4'-5' الهيدروكسيل ثلاثي الحركية التنبؤات نتائج تظهر. التحسين بعد Tyr267 و التحسين قبل Ser83 و Tyr267 الأمينية الأحماض مركب ذلك في بما ليبينسكي، قواعد تلبية الفلافونويد مركبات كل ليس أن pkCSM باستخدام الدوائية نتائج وفي ذلك تلبية لا الدوائية الحركية خصائصه ولكن والطاقة التفاعلات على القدرة لديه الذي كيرسيتين البيوجليتانزون ومركب بالأاميس للتسمم موجباً Luteolin-7-O-glucoside مركب كان بالسمية، التنبؤ لجميع كان فقد، PASSonline باستخدام البيولوجي بالنشاط التنبؤ لنتائج بالنسبة أما. الكيدي للتسمم موجباً Naringenin-7-O-glucoside مركب باستثناء السكر لمرض مضاد نشاط الاختبار مركبات

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus adalah penyakit metabolik kronis yang prevalensinya meningkat pesat di seluruh dunia. Diabetes melitus merupakan penyakit yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin ataupun ketika insulin tidak dapat digunakan secara efektif oleh tubuh. Insulin merupakan hormon yang mengatur glukosa dalam darah. Insulin yang tidak bekerja dengan kuat akan menyebabkan kadar glukosa dalam darah tinggi. Peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah ini dikenal dengan istilah hiperglikemia (WHO, 2014). International Diabetes Federation (IDF) pada akhir 2021 mengkonfirmasi bahwa diabetes diakui sebagai salah satu epidemi kegawatdaruratan kesehatan global dengan pertumbuhan paling cepat. Data studi global menerangkan pada tahun 2021 penderita diabetes melitus mencapai angka 537 juta orang. Jika tidak ada penanganan lebih lanjut, maka jumlah ini diproyeksikan akan mencapai angka 643 juta orang pada tahun 2030 dan 783 juta orang pada tahun 2045. Data menunjukkan diabetes melitus menjadi penyebab 6,7 juta kematian (IDF, 2021).

Salah satu tipe diabetes melitus yang prevalensinya terus meningkat dan menjadi perhatian global yaitu diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 2 ditandai dengan defisiensi insulin relatif yang disebabkan oleh disfungsi sel pankreas dan resistensi insulin (Widiasari, dkk., 2021). Resistensi insulin pada sel otot dan hati, serta kegagalan sel beta pankreas telah dikenal sebagai patofisiologi kerusakan sentral dari diabetes melitus tipe 2. Hasil Penelitian terbaru telah diketahui bahwa kegagalan sel beta terjadi lebih dini dan lebih berat dari yang sebelumnya diperkirakan. Beberapa organ lain yang terlibat dalam DM tipe 2

adalah jaringan lemak (Meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi incretin), sel alfa pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), dan otak (resistensi insulin) yang ikut berperan menyebabkan gangguan toleransi glukosa (PERKENI,2021).

Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan secara terapi farmakologi yang terdiri atas obat antidiabetik oral dan suntikan dalam bentuk obat anti hiperglikemik dan insulin (Widiasari, dkk., 2021). Salah satu obat oral menurunkan kadar glukosa darah yang diberikan pada pasien diabetes melitus tipe 2 adalah pioglitazon. Pioglitazon memiliki mekanisme sebagai full agonis dari *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma* (PPAR γ). Agonis merupakan obat ataupun bahan kimia yang mengaktifkan reseptor dengan cara berikatan untuk menghasilkan respon biologis. Ketika reseptor berikatan dengan ligan agonis maka akan menghasilkan efek obat. Efek obat tidak akan muncul jika jika tidak terjadi ikatan (Pramita, 2017). PPAR γ memiliki efek meningkatkan sensitifitas insulin dengan memodulasi metabolisme lemak dan homeostasis glukosa serta ekspresi dari faktor sekresi adiposa dengan mengatur kadar adipokin seperti adiponektin (Ahmadian, 2013). Pioglitazon merupakan obat oral yang lebih efektif meningkatkan sensitivitas insulin dibandingkan dengan obat oral metformin. Akan tetapi, obat ini jika digunakan dalam jangka waktu yang lama memiliki efek samping yaitu resistensi cairan sehingga meningkatkan resiko gagal ginjal kongestif (Masdianto, dkk, 2019). Dengan demikian, permasalahan yang muncul dapat diatasi dengan menggunakan obat herbal dari tumbuhan yang memiliki banyak khasiat dengan sedikit efek samping dan tidak membutuhkan biaya yang besar.

Terdapat beberapa jenis tumbuhan yang memiliki banyak khasiat yang dapat berpotensi sebagai obat. Keanekaragaman tumbuhan dengan beragam manfaatnya dikelompokkan menjadi tumbuhan hias, tumbuhan sandang dan tumbuhan obat (Martin,1998). Keragaman tumbuhan dengan jenis dan manfaatnya ini telah sesuai dengan firman Allah SWT dalam Al-Qur'an surah Thahaa (20) ayat 53.

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَّكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ
أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya: “Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berspesies-spesies dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam.” (Q.S: Thahaa[20]: 53).

Lafadz “nabattin syatta” dalam tafsir Ibnu Katsir merupakan lafadz yang memiliki makna “tumbuhan-tumbuhan yang beragam” dengan mengacu pada semua jenis tumbuhan yang dapat tumbuh. Ayat diatas menjelaskan kebesaran Allah SWT dengan menurunkan rahmat dari langit berupa air hujan, dimana dengannya bumi yang dihuni oleh manusia menjadi subur, kemudian darinya Allah SWT menumbuhkan tumbuh-tumbuhan berspesies-spesies dengan khasiat dan kebermanfaatan yang beranekaragam. Mempelajari potensi masing-masing tumbuhan yang dapat dimanfaatkan, sehingga dapat mengolahnya menjadi obat dengan mengetahui kandungan atau zat aktif dari tumbuhan tersebut.

Tumbuhan Pare (*Momordica charantia L.*) merupakan salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat herbal. Tumbuhan pare (*Momordica charantia L.*) secara tradisional dikenal khasiatnya dalam membantu mengobati berbagai penyakit. Pemanfaatan tanaman pare sebagai obat tradisional telah dikembangkan sejak lama. Pare mengandung senyawa-senyawa yang diduga memiliki efek antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi dan sitotoksik (Nagarani, dkk, 2014). Pare

terdiri dari komponen fitokimia seperti terpenoid, glikosida, flavonoid, fenolik, alkaloid, charatin dan tannin (Farhan et al., 2018). Senyawa metabolit yang terkandung dalam tumbuhan pare memiliki efek hipoglikemik yang bekerja dengan cara menurunkan kadar glukosa darah melalui proses penghambatan glukoneogenesis di hati, melindungi sel β -pankreas, sensitivitas insulin meningkat dan mengurangi stress oksidatif (Puspitasari & Nisrina, 2021). Sasmita dkk (2017) menyebutkan bahwa senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang berkaitan dengan diabetes. Penelitian Dewanti A. (2017) menyatakan bahwa pemberian pioglitazone 1.4 mg/kgBB yang dikombinasikan dengan *fruit pulp* buah pare sebesar 650 mg/kgBB pada enam kelinci jantan *New Zealand* berumur 8-10 minggu yang telah diinduksi alokan selama tujuh hari berturut-turut efektif menurunkan parameter farmakokinetika serta penurunan kadar gula darah akibat dari pemberian terapi secara bersamaan.

Ilmu komputasi dan bioinformatika memiliki potensi dalam proses penemuan dan pengembangan obat yang lebih efisien. Perancangan obat pada prosesnya melibatkan metode *molecular docking* (Biasini et al., 2014). Saat ini metode *Molecular Docking* sudah digunakan dalam mendesain obat-obatan maupun antiviral dan digunakan sebagai tahap seleksi awal dari berbagai substrat sehingga didapatkan senyawa yang berpotensi sebagai obat baru (Prasetyo, 2019; Puspaningtyas, 2013). *Molecular docking* merupakan salah satu metode komputasional untuk memprediksi ikatan non kovalen dari makromolekul (protein target) dengan molekul kecil (ligan) secara efisien dengan tujuan untuk memprediksi konformasi ikatan berupa posisi, jenis maupun afinitas berdasarkan energi ikatannya (Trott & Olson 2010; Leach 2001).

Proses molekular docking pada penelitian ini menggunakan program Autodock 4.2. Program ini terdiri atas dua program utama yaitu, proses penambatan ligan ke protein target dengan AutoDock dan proses perhitungan besaran energi yang dihasilkan ketika ligan telah selesai ditambatkan dengan menggunakan autogrid (Zuchrian, 2010). Hasil penambatan molekular dikatakan ideal ketika energi interaksi antara protein dengan ligan diperoleh nilai minimum. Skor docking yang semakin negatif dan minimum menunjukkan terbentuknya konformasi antara ligan dengan protein semakin stabil (Indreas et al., 2014). Fikry (2014) melakukan penelitian studi penambatan senyawa-senyawa flavonoid buah mengkudu pada *Peroxisome Proliferator Activated Reseptor Gamma* (PPAR γ) dengan menggunakan aplikasi Autodock Vina. Penelitian tersebut menunjukkan adanya nilai *binding affinity energy* hasil penambatan senyawa-senyawa flavonoid pada rentang -8,1 kkal/mol sampai -8,5 kkal/mol yang mendekati nilai penambatan rosiglitazone yaitu -8,9 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid yang ditambatkan memiliki potensi sebagai antidiabetik mendekati obat rosiglitazone.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dalam penelitian ini akan dilakukan studi *in silico* yang meliputi molecular docking, prediksi farmakokinetika dan toksisitas serta prediksi aktivitas antidiabetes yang mengkorelasikan antara reseptor PPAR γ dengan 16 ligan flavonoid dengan obat pioglitazon sebagai kontrol positif untuk mengetahui potensi obat baru antidiabetes yang berdasarkan pada energi bebas gibbs (ΔG), tetapan inhibisi, interaksi ikatan antara protein dengan ligan.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan permasalahan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil molekuler docking senyawa-senyawa aktif buah pare (*Momordica charantia* L.) yang ditambatkan pada reseptor PPAR γ dan dibandingkan dengan senyawa pioglitazone dengan parameter jenis interaksi, pose (dalam ruang 3D), energi interaksi ?
2. Bagaimana prediksi aktivitas antidiabetes dari senyawa flavonoid buah pare yang ditambatkan pada reseptor PPAR γ serta uji parameter farmakokinetika dan uji toksisitasnya?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui interaksi yang didapatkan dari penembatan molekul ligan 16 senyawa aktif buah pare (*Momordica charantia* L.) pada reseptor PPAR γ dan dibandingkan senyawa pioglitazone dengan parameter jenis interaksi, pose (dalam ruang 3D) dan energi interaksi?
2. Untuk mengetahui prediksi aktivitas antidiabetes, uji farmakokinetika serta uji toksisitas dari senyawa flavonoid buah pare (*Momordica charantia* L.) pada reseptor PPAR γ .

1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Molekuler docking menggunakan reseptor protein PPAR γ dari Protein Data Bank di *Research Collaboratory for Structural Bioinformatic (RCSB)* dengan kode 5Y2O.
2. Senyawa – senyawa aktif buah pare yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 senyawa golongan flavonoid.

3. Perangkat lunak yang digunakan untuk docking molekular yaitu Autodock 4.2, AutodockTools, Chimera 1.11.2 Open Babel, visualisasi hasil docking dengan Discovery Studio Visualization dan Pymol, optimasi dengan Yasara, uji farmakokinetik dan toksisitas menggunakan pkCSM dan PASSonline.
4. Studi in Silico meliputi: docking molekular teroptimasi dan kajian prediksi farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas antidiabetes.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai hasil penambatan molekul pada reseptor PPAR γ dengan ligan pioglitazone dan senyawa aktif buah pare.
2. Memberikan informasi dalam dunia kesehatan khususnya dalam bidang pengobatan diabetes terkait kesadaran alam dan target pengobatan yang lebih efektif dan aman.

1.6 Hipotesis

Terdapat 16 Senyawa aktif buah pare (*Momordica charantia L.*) golongan flavonoid yaitu 5-3'-4-trihydroxy flavonol, Apigenin-7-O-glucoside, Kaempferol, Luteolin-7-O-glucoside, Naringenin-7-O-glucoside, Luteolin, Hesperidin, Apigenin, Biochanin A, Gallic acid gallate, Epigallocatechin, Catechin, Epicatechin, Isoquercitrin, Quercitrin dan Quercetin ketika ditambahkan pada reseptor *Peroxisome Proliferator Activator Gamma* (PPAR γ) memiliki interaksi ligan-protein.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus merupakan suatu gangguan metabolisme yang disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi atau menggunakan hormon insulin secara baik dan efektif. Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan karena kegagalan pankreas memproduksi insulin yang mencukupi untuk digunakan tubuh. Diabetes melitus ditandai dengan polyuria (sering kencing di malam hari), polydipsia (banyak minum), polifagia (banyak makan) yang diikuti dengan peningkatan glukosa darah. Hiperglikemia atau peningkatan gula darah merupakan efek utama dari diabetes melitus yang jika dibiarkan dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan kerusakan serius pada saraf dan pembuluh darah (Evi K, 2014). Dalam keadaan normal sekitar 50% glukosa yang dikonsumsi mengalami metabolisme sempurna menjadi CO₂ dan udara, sedangkan 5% lainnya diubah menjadi glikogendan dan 30-40% di ubah menjadi lemak. Pada penderita diabetes melitus semua proses tersebut terganggu, glukosa tidak dapat masuk ke sel hingga energi utama diperoleh dari metabolisme protein dan lemak (Nitin dkk, 2018). Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi sebagai berikut (Evi, 2014; Chaudary dan Tyagi,2018):

- a. Tipe 1: Diabetes melitus yang berkaitan dengan destruksi sel β pankreas penghasil insulin. Diabetes Melitus tipe 1 sering disebut sebagai insulin-dependen (IDDM) atau *juvenile-onset* diabetes.
- b. Tipe 2: Diabetes tipe ini dikenal sebagai diabetes *onset* dewasa. Cacat insulin progresif dengan latar belakang resistensi insulin. Tipe ini merupakan bentuk diabetes yang paling umum dan sangat terkait dengan

riwayat keluarga diabetes, usia tua, obesitas dan kurang olahraga.

- c. Tipe lain: Diabetes tipe ini dikarenakan oleh beberapa sebab, diantaranya defak genetic pada kerja insulin dan fungsi sel beta, endokrinopati, obat atau zat kimia lainnya ataupun sindrom genetik diabetes melitus lainnya.
- d. Gestasional : Diabetes tipe ini biasanya dialami oleh wanita hamil. Hormon hamil ini dapat mengurangi kerja insulin dalam tubuh dan menyebabkan resistensi insulin.

Diabetes melitus tipe 2 dikenal dengan sebutan *adult-onset* atau diabetes yang tidak bergantung pada insulin (*non-insulin-dependent diabetes melitus/NIDDM*) dimana produksi insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel beta pankreas namun tubuh kehilangan kemampuannya untuk memanfaatkannya dengan benar. Diabetes tipe 2 bertanggung jawab atas 95% kondisi yang secara signifikan berkaitan dengan usia yang lebih tua, disposisi genetik, obesitas dan gaya hidup yang tidak aktif secara fisik (Kolb, H. 2017). Adanya resistensi insulin pada sel otot dan hati serta kegagalan sel beta pankreas dikenal sebagai patofisiologi kerusakan sentral dari diabetes melitus tipe 2. Pada diabetes melitus tipe 2 terdapat organ lain yang ikut terlibat dan menyebabkan gangguan toleransi glukosa, yaitu jaringan lemak (lipolisis meningkat), ginjal (absorpsi glukosa meningkat), gastrointestinal (defisiensi inkretin) dan otak (terjadi resistensi insulin) (Restiyana, 2015).

Pada penyakit diabetes melitus terdapat beberapa cara dalam mengupayakan penyembuhan, yaitu dengan cara suntik insulin dan obat antidiabetik oral (Evi K, 2014). Suntik atau suplai insulin umumnya digunakan dalam pengobatan pasien diabetes melitus tipe 1 untuk mengontrol hiperglikemia sedangkan obat antidiabetik oral umumnya diberikan pada pengobatan diabetes tipe

2. Obat antidiabetik oral yang digunakan untuk diabetes diantaranya, *sulfonylurea*, *thiazolidinediones* (glitazon), *biguanide*, penghambat *DPP-4* dan *glucosidase-inhibitors* (Chaudray & Nidhi, 2018).

2.2 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan salah satu makhluk hidup yang diciptakan oleh Allah SWT yang beranekaragam dan banyak mengandung manfaat di dalamnya. Keanekaragaman tersebut merupakan iradah Allah SWT. Terdapat hikmah dan tujuan tersendiri dibalik keanekaragaman tersebut. Sebagaimana firman Allah SWT dalam Q.s Luqman ayat 10:

كُلِّمْنَا فِيهَا وَبَتَّ بِكُمْ تَمِيدَ أَنْ رَوَّاسِي الْأَرْضِ فِي وَأَلْقَى تَرَوْنَهَا عَمَدٍ بَعِيرِ السَّمَوَاتِ خَلَقَ
كَرِيمٍ زَوْجٍ كُلِّ مِنْ فِيهَا فَأَنْبَتْنَا مَاءَ السَّمَاءِ مِنْ وَأَنْزَلْنَا دَابَّةً

Artinya : “ *Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi) tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik*”

Ayat di atas mengisyaratkan tentang kuasa Allah SWT yang menciptakan kehidupan alam dengan berbagai keanekaragaman hayati sebagai nikmat dalam kehidupan manusia, yang didalamnya terkandung berbagai macam manfaat. Allah SWT telah menciptakan beranekaragam tumbuhan dimuka bumi ini agar manusia dapat mengambil manfaatnya dalam berbagai aspek kehidupan. Salah satu contoh pemanfaatan tumbuhan adalah digunakan sebagai tumbuhan obat. Rasyidi (1999) menjelaskan bahwa Allah SWT menjadikan kehidupan alam dengan keanekaragaman hayati yang menjadi berkah bagi kehidupan manusia yang memiliki banyak manfaat, misalnya dapat dimanfaatkan untuk penyembuhan. Hal

ini sejalan dengan sabda Nabi Muhammad Saw.:

شِفَاءٌ لَهُ أَنْزَلَ إِلَّا دَاءً اللَّهُ أَنْزَلَ مَا

Artinya : *“Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Dia juga menurunkan penawarnya”* (H.R Bukhari).

Hadis di atas mengisyaratkan tentang wujud kesempurnaan rahmat Allah SWT yaitu al-adl. Tumbuhan obat merupakan ayat kauniyah Allah SWT yang dalam Al-Qur’an terdapat ayat- ayat yang menyebutkan nama-nama tumbuhan dan buah-buahan secara eksplisit. Hal tersebut tentu bertujuan agar umat manusia dapat memanfaatkan berbagai macam tumbuhan yang memiliki khasiat tertentu dalam mengobati suatu penyakit yang berdasarkan pada Al-Qur’an serta merenungi dan mengambil ibrah dari ciptaan Allah SWT sehingga manusia selalu mengagungkan ciptaan Allah SWT serta semakin bertambah rasa syukur kepada Allah SWT (Munnirotul,2019). Inilah acuan umat manusia agar selalu melakukan pengkajian ilmu melalui penelitian dalam upaya menemukan alternatif penyembuhan penyakit yang diderita oleh manusia dan makhluk hidup lainnya. Seperti halnya pada penelitian ini dilakukan pengkajian ilmu pada tumbuhan pare yang diduga berpotensi sebagai antidiabetes. Tanaman Pare dengan rasa pahit yang diilikinya merupakan suatu tanda kekuasaan Allah, dimana rasa pahit tersebut dapat menurunkan efek hipoglikemik pada penderita diabetes melitus. Hal inilah yang mendasari bahwa penelitan ini perlu untuk dilakukan.

2.3 *Momordica Charantia* Linn.

Pare atau labu pahit (*Momordica charantia* L.) merupakan tanaman merambat berbunga dengan genom Cucurbitaceae. Pare adalah tanaman tropis yang banyak dibudidayakan di Asia, India, Afrika Timur dan Afrika Selatan dengan rasa buahnya yang sangat pahit dan biasanya digunakan sebagai masakan. *Momordica charantia* L. merupakan tanaman merambat yang tumbuh hingga 5 m yang berguna untuk kesehatan manusia dan salah satu tanaman yang menjanjikan untuk pengobatan diabetes (Lee SY et al., 2009).



Gambar 2.1 (Tanaman *Momordica charantia* L.)
Sumber: *Asian Pac Journal Tropis* 2013; 3(2):93-102

Pare merupakan tanaman padat nutrisi yang terdiri dari susunan kompleks senyawa bahan kimia bioaktif. Pare memiliki nilai kalori untuk daun, buah dan biji masing – masing adalah 213,26, 241,66 dan 176,61 Kcal/100 g. Buah pare kaya akan mineral seperti potasium, kalium, seng, magnesium, fosfor dan zat besi (Lee SY et al., 2009). Pare adalah tanaman alami yang memiliki berbagai kandungan fungsional yang ditemukan dalam pare terdiri dari komponen fitokimia diantaranya terpenoid, glikosida, flavonoid, fenolik, alkaloid, charatin, dan tanin. Adanya komponen fungsional ini menyebabkan pare memiliki berbagai aktivitas farmakologis yaitu, antioksidan, antijamur, antidiabetes, anti obesitas, anti kanker,

hipotensi dan efek penurunan kolestrol darah (Farhan S et al., 2018). Komponen fungsional dalam buah pare memberikan sensasi rasa pahit. Secara umum, rasa pahit memiliki perspektif hipoglikemik dengan cara kerja yang berbeda, yaitu memperbaiki sel yang rusak, meningkatkan kadar insulin dan sensitifitasnya, menghambat penyerapan glukosa dan menekan aktivitas disakarida (Tsai, CH et al., 2012).

Momordica charantia L. memiliki klasifikasi sebagai berikut (Farhan, S et al., 2018):

Kingdom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Cucurbitales
Family	: Cucurbitaceus
Genus	: Momordica
Species	: Momordica charantia

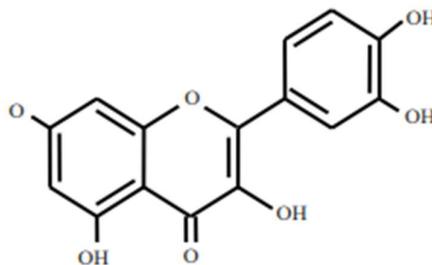
Terdapat berbagai macam obat herbal tradisional yang dikembangkan untuk mengobati diabetes di Asia dan negara berkembang lainnya. *Momordica charantia* L. merupakan salah satu tanaman yang banyak diteliti secara menyeluruh oleh ilmuwan sebagai alternatif pengobatan diabetes. Penelitian *Momordica charantia* L. di India mengungkapkan bahwa tanaman ini berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah pada pasien diabetes (Keller et al., 2011). Beberapa penelitian in vivo mengkonfirmasi bahwa tanaman pare terbukti efektif dalam memproduksi insulin dan dapat menjadi pelindung hepato-ginjal. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mahwish et al. (2021) yang dilakukan dengan pemberian suplemen pare pada tikus hiperglikemik sebanyak 300 mg/kg dapat mengakibatkan

penurunan kadar glukosa darah 31,64 % dengan peningkatan kadar insulin sebesar 27,35% (Mahwish et al.,2021).

2.4 Senyawa Aktif (*Momordica charantia* L.) golongan Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok metabolit skunder dengan struktur polifenol yang banyak ditemukan pada jaringan tanaman (Rajalakshmi dan S. Narasimhan, 1985). Di alam, senyawa flavonoid merupakan prodak yang diekstrak dari tanaman dan terdapat pada beberapa bagian tanaman (Panche, et al., 2016). Flavonoid merupakan golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ yang terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B dan cincin tengah berupa heterosiklik (Maslarova, 2001; Abdi, 2010). Flavonoid memiliki beberapa subkelompok yang sering dijumpai meliputi chalcones, flavon,flavanon, dan isoflavones (Panche, 2016). Struktur flavonoid adalah sebagai berikut (Abdi, 2010);

Gambar 2.2 Struktur Flavonoid $C_6-C_3-C_6$



Senyawa Flavonoid memiliki peran penting sebagai antioksidan. Senyawa ini bekerja dengan cara mendonorkan atom, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau berada dalam bentuk aglikon (Widyanto, 2015). Berbagai hasil penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan yang beragam pada berbagai jenis sereal, sayuran dan buah-buahan (Abdi, 2010).

Senyawa flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang berkaitan dengan anti diabetes. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β pankreas sebagai penghasil insulin serta dapat mengembalikan sensitivitas reseptor insulin pada sel dan bahkan meningkatkan sensitivitas insulin (Sasmita dkk., 2017). Flavonoid memiliki aktivitas antidiabetes, dimana ketika berikatan dengan reseptor berpotensi meningkatkan perangsangan insulin oleh GLUT-4 serta penyerapan glukosa. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Raghad K, et al. (2019) salah satu senyawa flavonoid yaitu Quercetin yang diekstraksi dari buah beri menginduksi jalur protein kinase teraktivasi adenosin monofosfat (AMPK) 5' independen insulin yang memperlambat konsumsi oksigen adenosin difosfat dengan merangsang translokasi GLUT 4 yang menghasilkan peningkatan rangsangan insulin.

Adapun beberapa penelitian *invivo* dan *in silico* kandungan senyawa flavonoid pada buah pare disajikan dalam Tabel 2.1;

Tabel 2.1. Penelitian *in vivo* dan *in silico* kandungan senyawa flavonoid buah pare

Penulis	Judul	Hasil	Kandungan Senyawa
Hayat, S., Iqbal M. dan Siti A. (2009)	Kajian Efek Hipoglikemia Fraksi dan Komponen aktif Buah Paria (<i>Momordica charantia</i> Linn) Serta Penentuan Kadar Komponen Aktif Menggunakan Metode (HPLC).	Ekstrak dan fraksi dari buah dan biji <i>M Charantia L.</i> pada dosis 250 mg/ Kg bb memiliki efek antihiperlikemia lebih kecil dibandingkan dengan glibenklamida. Namun terdapat beberapa hasil fraksi yang memperlihatkan adanya kadar penurunan gula darah yang cukup signifikan, yaitu pada hasil fraksi heksan.	Flavonoid dan terpenoid.
Afifah, U. N. 2017	Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol 96% buah pare (<i>Momordica charantia</i> Linn) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar	Pemberian ekstrak buah pare dengan pelarut etanol 96% dengan dosis 150 mg/Kg BB selama 14 hari secara peroral pada tikus jantan galur wistar yang telah disuntik aloskan memberikan hasil penurunan	Saponin, flavonoid, polifenol dan alkaloid.

Yang Diinduksi kadar glukosa darah sebesar
Aloskan. 70%.

Fikry, M.A., 2014	Studi Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid dari Buah Mengkudu (<i>Morinda citrifolia</i> L.) Pada Peroxisome Proliferator-Activated Receptor – Gamma (PPAR- γ)	Penambatan molekuler senyawa flavonoid yang terkandung pada buah mengkudu dengan menggunakan Autodock Vina pada reseptor PPAR- γ dan control positif Rosiglitazone. Dari hasil penelitian didapatkan energi ikatan -8,1 kkal/mol sampai -8,5 kkal/mol yang dibandingkan dengan nilai energi rosiglitazone yaitu -8,9 menunjukkan adanya potensi sebagai antidiabetik mendekati rosiglitazon.	Senyawa Golongan Flavonoid, yaitu Kaempferol, Quersetin, Narkisin Flavonol, Nikotiflorin dan Rutin.
-------------------------	---	---	---

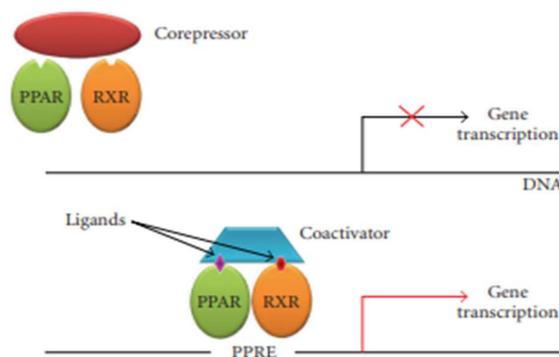
Adapun kandungan senyawa flavonoid buah pare dilaporkan sebagai berikut;

Tabel 2.2. Kandungan senyawa flavonoid buah pare

Sumber	Senyawa
Erlita, V. M. dan Achmad Wildan, 2014.	5, 3', 4' – trihidroksi flavonol.
Mozaniel, S. de O., Wanessa, A. da C., Fernanda, W. F. B., Marilena, E. A., Gracialda, C. F., & Raul, N. de C. J. (2018).	Apigenin-7-O-glycoside Naringenin-7-O-glycoside Kaemferol Luteolin Luteolin-7-O-glycoside Hesperidin Apigenin Biochanin A Gallocatechin gallate Epigallocatechin Catechin Epicatechin Isoquercitrin Quercitrin. Quercetin

2.5 Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR- γ)

Peroxisom Proliferator-Activated Receptor (PPARs) merupakan faktor transkripsi yang diaktifkan ligan dari hormon reseptor inti yang terdiri dari tiga sub tipe, yaitu PPAR α , PPAR γ dan PPAR β/δ . Peroxisom Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) adalah suatu faktor transkripsi ligan reseptor inti protein yang berperan dalam adipogenesis, homeostasis glukosa dan lipid serta sensitivitas insulin (Wu et al., 2020). Struktur tiga dimensi PPAR γ terdiri dari domain ikatan DNA dan domain ikatan ligan. PPAR bekerja pada elemen respons DNA sebagai heterodimer dengan reseptor retinoid X (RXR). (Tyagi, et al.,2011). PPAR terlibat dalam berbagai jalur molekuler dan enzimatik independent dan DNA-dependen di jaringan adiposa, hati dan otot rangka. Beberapa penyakit akan mempengaruhi jalur ini dan juga akan berakibat pada sentimen energi metabolik. Dengan demikian, intervensi PPAR dapat memberikan target terapi untuk banyak penyakit seperti dislipidemia, diabetes, obesitas, peradangan, gangguan neurodegenerative dan kanker (Tyagi, et al., 2011).



Gambar 2.3 Mekanisme aktivasi PPAR γ

Sumber : Anna Leonardini, et al., 2009 PPAR Research

Salah satu sub tipe PPAR yang banyak di pelajari adalah PPAR γ . Reseptor PPAR γ diekspresikan dalam jaringan adiposa, usus besar dan limpa (Janani C. et

al., 2014). Dalam penelitian Janani C. et al., 2014 menyatakan bahwa reseptor ini banyak diekspresikan dalam jaringan adiposa dengan peran sentral dalam adipogenesis dan terlibat dalam pengaturan metabolisme lipid. PPAR γ dalam beberapa waktu lalu dikenal sebagai pengatur diferensiasi adiposit, penyimpanan asam lemak (*Fatty acid*), metabolisme glukosa dan merupakan target obat antidiabetes. Agonis PPAR γ meningkatkan resistensi insulin dengan melawan efek TNF- α pada adiposit (Ferre P, 2004). PPAR γ adalah reseptor nuklir yang bertindak sebagai faktor transkripsi pada saat aktivasi, dengan mengatur transkripsi dan ekspresi gen tertentu.

Proses Aktivasi PPAR γ yang diaktifkan ketika berikatan dengan ligan akan menyebabkan PPAR γ membentuk kompleks dengan faktor transkripsi reseptor asam retinoat 9-cis (Retinoid X Reseptor [RXR]) untuk membentuk heterodimer. Setelah pengikatan ligan pada heterodimer PPAR/RXR, terjadi perubahan konformasi penahanan koreseptor dan pengikatan koaktivator. Dengan tidak adanya ligan, heterodimer ini terkait dengan kompleks koreseptor yang akan memblokir transkripsi gen. Ikatan heterodimer ini menjadikan DNA mengatur transkripsi genetik serta menerjemahkan berbagai protein yang terlibat dalam diferensiasi sel dan metabolisme lipid dan glukosa (DrugBank, 2019; Schwinghammer & DiPiro, 2015). Adapun aktivasi PPAR γ pada tingkat sel telah terbukti mempengaruhi proses pensinyalan insulin melalui efek modulasi langsung pada fosforilasi molekul pensinyalan. Aktivitas PPAR γ diatur fosforilasi melalui jalur MEK/ERK. Modifikasi ini akan menurunkan aktivitas transkripsi PPAR γ dan mengarah pada modifikasi gen diabetes dan menyebabkan berkurangnya sensitivitas insulin (Suwaki et al., 2007).

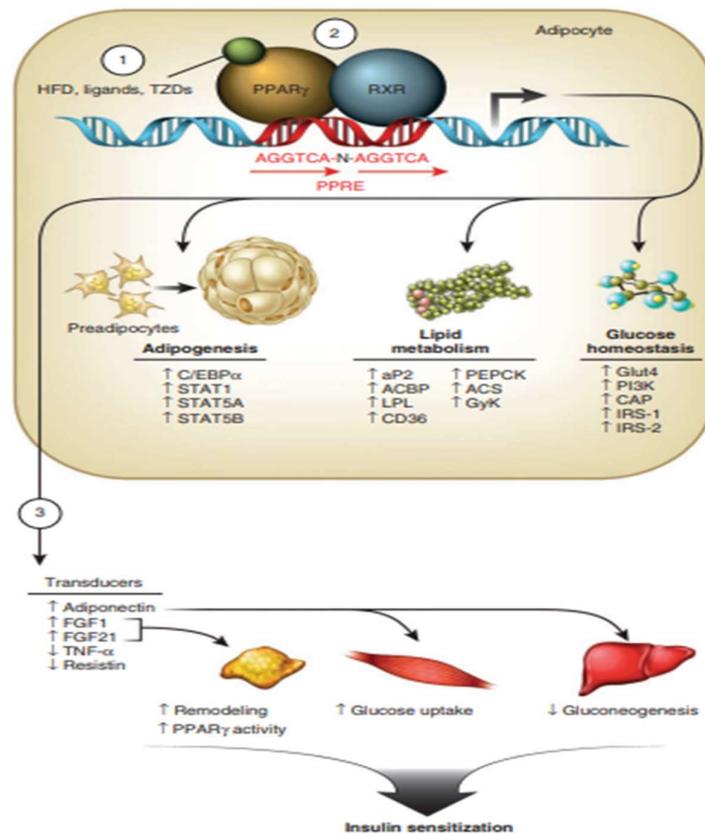
Jalur penelitian yang berbeda juga mengungkapkan reseptor PPAR γ yang teraktivasi akan memodulasi transkripsi gen yang terlibat dalam metabolisme lipid dan meningkatkan penyerapan dan penyimpanan asam lemak dalam jaringan adiposa. Aktivasi PPAR γ oleh *Thiazolidinediones* (TZD) telah terbukti mengurangi jumlah asam lemak bebas yang bersirkulasi dalam tubuh melalui diferensiasi adiposit dan apoptosis dengan cara meningkatkan penjeratan asam lemak bebas (Leonardini et al., 2009)

Golongan *Thiazolidinediones* (TZD) merupakan ligan untuk *Peroxisome Proliferators Activated Receptor Gamma* (PPAR γ) yang saat ini aktif dikembangkan. Troglitazone merupakan agen pertama dari golongan *Thiazolidinediones* (TZD) yang disetujui, efektif dalam mengendalikan glikemia tetapi dikeluarkan dari pasaran karena toksisitas hati yang serius. Golongan *Thiazolidinediones* (TZD) yang aktif dijadikan agonis PPAR γ adalah Pioglitazone dan Rosiglitazone yang saat ini dilisensikan untuk pengelolaan hiperglikemia pada diabetes mellitus tipe 2 (T2DM) (Tyagi, et al., 2011).

2.6 Antidiabetik Oral Pioglitazone

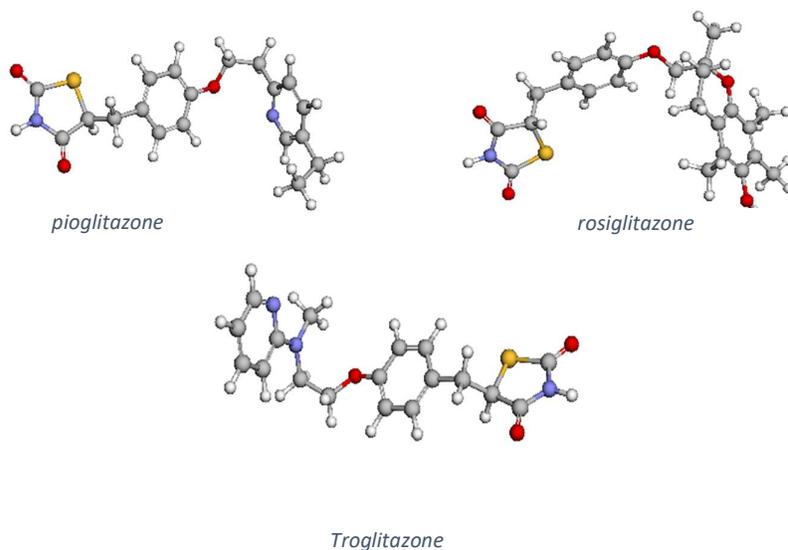
Pioglitazone merupakan turunan dari thiazolidinediones (TZD) yaitu agen sensitifikasi insulin yang digunakan untuk mengobati diabetes melitus tipe 2. Pioglitazone merupakan agen antidiabetes yang dapat meningkatkan hiperglikemia dan hiperlipidemia pada hewan obesitas dan diabetes melalui penurunan resistensi insulin hati dan perifer (Bogacka et al., 2004). Pioglitazone dengan rumus molekul C₁₉H₂₀N₂O₃S adalah anti hiperglikemik yang digunakan sebagai tambahan untuk diet, olahraga dan obat diabetes lainnya untuk mengelola diabetes melitus tipe 2.

Thiazolidinediones (TZD) memberikan efek farmakologis terutama dengan meningkatnya sensitifitas insulin dan peningkatan penyerapan insulin dan peningkatan penyerapan glukosa darah melalui agonis pada *Reseptor Peroksisom Proliferasi Aktif* (*PPAR*) yang saat ini banyak digunakan untuk terapi (Drug Bank online). Antidiabetik oral golongan *Thiazolidinediones* (TZD) yang umum dipasarkan adalah troglitazone, resiglitazone dan pioglitazone. Troglitazone, agen pertama dari kelas ini yang efektif dalam mengendalikan glikemia tetapi dikeluarkan dari pasaran karena toksisitas hati yang serius. Adapun mekanisme pensinyalan dan metabolisme pengikatan reseptor *PPAR γ* dengan ligan *Thiazolidinediones* (TZD) yang memberikan efek farmakologis adalah sebagai berikut;



Gambar 2.4 Mekanisme Pensinyalan dan Metabolisme Pengikatan Reseptor PPAR γ dengan *Thiazolidinediones* (TZD) (Ahmadian, 2013).

Thiazolidinediones (TZD) memberikan efek farmakologis terutama dengan meningkatnya sensitifitas insulin dan peningkatan penyerapan insulin dan peningkatan penyerapan glukosa darah melalui agonis pada reseptor *Peroksisom Proliferasi Aktifasi Reseptor* (PPAR) yang saat ini banyak digunakan untuk terapi (Drug Bank online). Ligan atau TZD akan mengaktifasi heterodimer fungsional ikatan PPAR γ -RXR dan mempertahankan homeostasis metabolik melalui regulasi langsung gen yang terlibat dalam diferensiasi adiposit, metabolisme lipid, homeostasis glukosa serta ekspresi dari faktor sekresi adiposa (Ahmadian, 2013). Pada jaringan adiposa, aktivasi PPAR γ oleh TZD memodulasi metabolisme lemak dan glukosa serta mengatur kadar adipokin seperti adiponektin, TNF- α , MCP-1 dan resistin. Sebagai hasil dari penurunan asam lemak, sensitivitas insulin meningkat yang juga dimediasi oleh penekanan produksi glukosa di hati, merangsang pengambilan glukosa di otot rangka dan adiposa serta meningkatkan sekresi insulin di jaringan pankreas.



Gambar 2.5 Struktur Antidiabetik Oral Golongan Thiazolidinedions

(Nicholas Rego and David Koes 3Dmol.js: molecular visualization with WebGL Bioinformatics)

(2015) 31 (8): 1322-1324 doi:10.1093/bioinformatics/btu829)

Antidiabetik oral golongan *Thiazolidinediones* (TZD) yang umum dipasarkan adalah troglitazone, resiglitazone dan pioglitazone. Troglitazone, agen pertama dari kelas ini yang efektif dalam mengendalikan glikemia tetapi dikeluarkan dari pasaran karena toksisitas hati yang serius. Pioglitazone dan Rosiglitazone adalah agonis PPAR γ yang saat ini dilisensikan untuk pengelolaan hiperglikemia pada diabetes melitus. Peningkatan glikemik yang diinduksi TZD disertai dengan penurunan insulin puasa yang signifikan. Besarnya perbaikan tergantung pada banyak faktor seperti indeks massa tubuh (BMI), kadar glukosa basal, tingkat resistensi insulin dan tingkat kegagalan sel. Pioglitazon lebih efektif meningkatkan sensitivitas insulin dibandingkan dengan metformin. Namun, obat ini memiliki efek samping yaitu retensi cairan sehingga meningkatkan resiko gagal jantung kongestif. Pioglitazon bekerja menurunkan resistensi insulin, mengaktifkan reseptor inti spesifik yang akan meningkatkan sensitivitas insulin di hati, jaringan lemak dan sel-sel otot skeletal (Boughman et al.,2004).

2.7 Protein dan Asam Amino

Protein merupakan makromolekul yang terdiri dari satu atau lebih rantai polipeptida. Rantai protein merupakan jenis polipeptida yang terdiri dari L- α -asam amino. Terdapat 300 lebih asam amino di alam, namun hanya 20 jenis asam amino yang menjadi penyusun protein. Protein memiliki beberapa fungsi diantaranya, yaitu sebagai katalisator, pengangkut dan penyimpan molekul seperti oksigen, mendukung kekebalan tubuh, transmittor gerakan syaraf, mengendalikan pertumbuhan dan perkembangan (Katili, 2009).

Protein memiliki urutan dan jumlah asam amino yang khas. Struktur dan

sifat asam amino bergantung oleh sekuens dari asam amino dalam polipeptida. Asam amino memiliki struktur yang terdiri dari dua gugus fungsi yaitu -NH_2 (amino primer) dan -COOH (asam karboksilat). Pada keadaan zwitter ion, biasanya gugus tersebut menjadi -NH_4^+ dan -COO^- . Berdasarkan strukturnya, 20 jenis asam amino membentuk protein, 19 diantaranya membentuk amina primer dan 1 amina sekunder (prolin). Berdasarkan rantai samping penyusunnya, asam amino diklasifikasikan menjadi 4 kelas utama, yaitu gugus R nonpolar atau hidrofobik, gugus R netral (tidak bermuatan) polar, gugus R bermuatan positif, gugus R bermuatan negatif (Haammes dan Hooper, 2005).

2.8 Molekular Docking

Molekular Docking atau penambatan molekular merupakan metode berbasis genetika yang digunakan untuk mencari pola interaksi yang paling tepat dan melibatkan antara dua molekul yaitu reseptor dengan ligan (Setiawan dan Muhammad, 2017). Penambatan Molekular dilakukan dengan prinsip melakukan penambatan ligan pada bagian aktif reseptor sehingga menghasilkan interaksi untuk dianalisis (Kroemer, 2003). Tujuan dari *molekular docking* adalah untuk mencapai konformasi yang optimal dari protein dan ligan yang dioptimasi sehingga energi bebas dengan keseluruhan sistem diminimalkan. Proses komputasi akan mencari ligan yang bekerja aktif pada sistem aktif protein target secara energi maupun orientasinya.

Penambatan molekular merupakan dasar penemuan obat secara simulasi komputasi. *Molekular docking* sering kali diterapkan untuk memprediksi kandidat obat baru pada target protein dengan hasil berupa prediksi terhadap afinitas dan aktifitas obat. Metode ini memerankan peran penting dalam desain dan penemuan

obat karena lebih fleksibel, sinergis dan efektif (Chandhary dan Mishra, 2016). Hasil Docking molekular dengan protein target kemudian dilakukan analisis. Prinsip analisis dari hasil molekular docking salah satunya adalah pada jenis ikatan yang terbentuk. Ikatan suatu molekul memiliki jenis interaksi yang tidak sama dan akan memiliki nilai ikatan yang berbeda. Adapun beberapa jenis ikatan yang terbentuk adalah diantaranya, interaksi ikatan antar molekul seperti ikatan ion, ikatan hidrogen, ikatan van der waals, dan ikatan antar dipol – dipol (patrick, 2001). Berhasil atau tidaknya program docking dapat dilihat dari dua komponen yaitu algoritma dan fungsi *scoring*. Pada metode *docking* proses pencarian energi dapat dilakukan melalui interaksi yang terjadi antara dua molekul yang dibagi menjadi dua tahapan, yaitu:

a. *Algorithm*

Algorithm merupakan konsep matematika yang dirancang untuk mensimulasikan kondisi yang mempengaruhi evolusi biologis. *Algorithm* berfungsi menentukan kemungkinan konformasi yang optimal pada kompleks (protein-ligan). Terdapat berbagai macam jenis *algorithm* diantaranya, *simulated annealing* (SA), *genetic algorithm* (GA) dan *lamarckian genetic algorithm* (LGA) (Jones et al, 1997). Model algoritma yang digunakan dalam penambatan molekular adalah *genetic algorithm* (GA) yang terdapat pada aplikasi Autodock. Model algoritma ini dipilih karena sudah banyak digunakan untuk penambatan ligan–protein. Pada model algoritma GA menerapkan pendefinisian ligan sebagai gen. Seiring dengan perkembangan sains dan teknologi, GA dimodifikasi dan dinamakan *lamarckian genetic algorithm* (LGA). Model algoritma ini memungkinkan digunakan untuk mengontrol besarnya nilai dari derajat kebebasan (*degree of freedom*).

Pencarian energi pada software Autodock yaitu LA-GA yang menggunakan algoritma gabungan antara GA dan LS. Algoritma GA berfungsi untuk optimasi global, sedangkan LS untuk optimasi lokal sehingga perhitungan yang terjadi lebih efisien atau tidak membutuhkan waktu yang lama, hal tersebut disebabkan karena cekungan yang cukup dalam dilakukan dengan perhitungan yang cukup dan yang tidak terlalu dalam tidak perlu diperhitungkan (Mardhiyah, 2009). LA-GA merupakan algoritma genetika yang berdasarkan pada bahasa genetika Mendel dan evolusi Darwin. Susunan ligan dan protein tertentu didefinisikan oleh sekelompok nilai yang menjelaskan duplikat, orientasi, dan konformasi dari ligan dan protein (keadaan variable ligan). Kondisi ini disesuaikan dengan gen dimana keadaan variable ligan berhubungan dengan genotipe, sedangkan koordinat atomnya berhubungan dengan fenotipe (Morris dkk., 1998).

b. Fungsi Scoring atau *Scoring Function*

Fungsi *Scoring* merupakan perhitungan komputasi untuk mengetahui kekuatan ikatan yang dihasilkan dari interaksi gugus – gugus fungsi ligan dengan residu protein reseptor. Fungsi scoring merupakan salah satu komponen keberhasilan dari program docking. *Scoring function* memiliki tiga aspek utama yaitu menentukan mode pengikatan dan lokasi ligan pada protein target, memprediksikan affinitas ikatan antara ligan-protein target dan mengidentifikasi potensi suatu ligan pada protein target (skrining virtual database). Pada umumnya fungsi *Scoring* yang ideal dapat memberikan peringkat pada orientasi yang terbentuk dari hasil eksperimen ketika skrining virtual database dan penentuan mode ikatan elektron. Disamping itu, fungsi

Scoring juga dapat meningkatkan efisiensi optimasi ketika dilakukannya proses docking (Huang et al, 2010).

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

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

Ket:

L = Ligan
P = Protein

V = Evaluasi pasangan
 ΔS_{conf} = Entropi konformasi

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

evaluasi (V) ditunjukkan pada Persamaan 2.2

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

Dimana,

V	= fungsi scoring	H _{bound}	= ikatan hydrogen
V _{dw}	= energi Van der Waals	elec	= elektrostatik
W	= Faktor bobot	sol	= desolvasi.
i,j	= lambang Atom		

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

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

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

2.9 Interaksi Ikatan Protein Ligan

Penemuan obat dalam bidang ilmu dan teknologi menggunakan proses komputasi diperlukan adanya interaksi antara ligan dengan protein. Obat dalam proses docking bekerja sebagai ligan. Reseptor dalam proses docking bertindak sebagai protein target bagi molekul obat yang bekerja secara reversible dan memberikan respon biologis spesifik. Ketika berinteraksi dengan protein targetnya, obat bertindak sebagai ligan yang akan menghasilkan suatu interaksi ligan-protein.. Interaksi ini berlangsung karena adanya kekuatan ikatan kimia. Adapun ikatan kimia yang terlibat dalam interaksi protein-ligan yaitu diantaranya

ikatan Van der Waals, ikatan hydrogen, ikatan dipol-dipol, ikatan hidrofobik, ikatan ion dan ikatan kovalen (siswando,2016).

2.9.1 Ikatan Van der Waals

Ikatan Van der Waals adalah gaya tarik menarik yang terjadi antar molekul atau atom yang tidak bermuatan. Interaksi Van der Waals terbentuk ketika dua buah atom dalam keadaan dekat satu sama lain dan membentuk gaya Tarik lemah non-spesifik dan hanya terjadi ketika atom berada dalam keadaan sangat dekat (Luanphaisarnont, 2009). Interaksi ligan dan reseptor, ikatan Van der Waals terlibat dalam interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan reseptor (Siswandono, 2016).

2.9.2 Interaksi Hidrofobik

Interaksi hidrofobik adalah interaksi yang terjadi antara molekul non-polar yang tidak memiliki kemampuan untuk membentuk suatu ikatan hydrogen dengan molekul air. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang tergolong lemah namun lebih kuat jika dibandingkan dengan interaksi Van der Waals (Arunan et al.,2011). Interaksi hidrofobik terjadi antara sisi nonpolar reseptor dengan sisi nonpolar obat. Daerah non polar molekul obat yang tidak dapat larut dalam molekul air akan menyebabkan air di sekelilingnya membentuk ikatan hydrogen membentuk iceberg. Iceberg akan berhimpit dan mengalami penekanan ketika daerah non polar obat bertemu dengan daerah non polar reseptor. Iceberg yang yang terhimpit akan pecah dan menghasilkan peningkatan entropi yang mengisolasi struktur non polar sehingga molekul air menjadi stabil dan tidak berinteraksi dengan daerah non polar (Siswandono dan soekardjo,2000).

2.9.3 Ikatan Ionik (elektrostatik)

Ikatan ion merupakan ikatan yang terbentuk karena adanya muatan yang berlawanan antara gugus – gugus senyawa. Ikatan ion terjadi karena adanya gaya tarik elektrostatik antara atom yang memiliki ion-ion dan muatannya berlawanan. Biasanya pesan kimia alami dalam tubuh berinteraksi melalui ikatan ionik (Siswandono, 2016).

2.9.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan gaya antarmolekul yang paling kuat dan stabilitas tinggi dibandingkan gaya antarmolekul yang lainnya. Ikatan hidrogen terjadi ketika atom hidrogen terikat oleh dua atom yang memiliki keelektronegatifan tinggi yaitu atom N, O dan F. Hidrogen donor mengandung gugus fungsi yang memiliki proton terikat pada atom elektron. Ikatan hidrogen lebih lemah dari ikatan ion. (Patrick, 2001). Ikatan hidrogen memiliki Panjang ikatan yang lebih kecil dari jari-jari van der Waals namun lebih panjang daripada ikatan kovalen (Effendy, 2006).

Tipe Ikatan	Energi
Hidrofobik	<10 Kkal/mol
Ikatan hidrogen	2-30 Kkal/mol
Elektrostatic	1-20 Kkal/mol
Ikatan π - π aromatik	0-10 Kkal/mol
Van der Waals	0.1-1 Kkal/mol

2.10 Optimasi Hasil Docking

Optimasi (rescoring) docking secara signifikan dapat meningkatkan hasil docking molekuler. Pada rescoring docking dilakukan perhitungan ulang hasil docking dengan memposisikan ligan berinteraksi dalam pelarut (Santoso, 2019 dan Roldan dkk, 2018). Metode perhitungan yang digunakan dalam optimasi hasil docking adalah medan gaya NOVA (*Protein + nucleotide Optimization in*

Vacuo). Dalam mengurangi kebutuhan komputasi, algoritma minimasi mencari minimum terdekat NOVA yang mendekati struktur protein nyata. Medan gaya ini telah diterapkan sebagai bagian dari program dinamika molekul real-time YASARA yang baru- baru ini dikembangkan (Krieger dkk., 2002).

2.11 Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil docking bertujuan untuk mengetahui interaksi ligan asam-asam amino pada makromolekul protein. Residu asam amino yang berinteraksi dengan ligan dapat menentukan jenis ikatan yang terjadi antara ligan dan protein. Interaksi yang terlibat menjadi salah satu bentuk validasi terhadap ligan yang terdocking bekerja sesuai dengan *reference*. Hal ini dikarenakan ligan yang tertambat diharapkan memiliki interaksi yang sama dengan ligan referensi ketika didalam makromolekul protein. Adapun visualisasi hasil docking dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa program, yaitu Discovery Studio Visualizer, AutodockTools (ADT) dan Pymol untuk melihat kecocokan bentuk, volume dan energi antara ligan dengan situs tambatannya.

2.12 Aplikasi Komputasi

2.12.1 Autodock

Autodock merupakan perangkat lunak simulasi pemodelan molekul yang efektif untuk memprediksi energi dan konformasi ikatan antara ligan dengan protein target. Autodock terdiri atas dua program utama, yaitu Autodock dan Autogrid. Autodock digunakan untuk menambatkan antara molekul ligan dengan protein target dengan setgrid yang sebelumnya telah terdeskripsi oleh AutoGrid (Morris et al., 2009). Autogrid merupakan suatu program yang digunakan sebagai perhitungan awal energi interaksi yang terbentuk dari peta grid untuk berbagai

jenis atom. Peta grid digunakan untuk menentukan total energi interaksi untuk ligan dengan makromolekul.

Prinsip dari program Autodock adalah mengevaluasi dari energi bebas, torsional bebas dari konformasi ikatan yang terbentuk antara enzim dan ligan berdasarkan energi force field pada algoritma, kekuatan kompleks ligan protein yang terbentuk secara kuantitatif dengan melihat tetapan inhibisi (Idrees et al., 2014). Autodock memerlukan ruang pencarian dalam system koordinat dimana posisi ligan akan dianggap terikat untuk memungkinkan pencarian konformasi. Output dari Autodock adalah *pose* dan ΔG (energi ikatan) dari setiap *pose* (Morris et al., 2009). Versi terbaru dari program autodock yaitu Autodock 4.2., yang menerapkan kombinasi dari fungsi scoring *force-field based* dengan *empirical* sehingga membentuk fungsi scoring *semi empirical free energy force-field*.

2.12.2 YASARA

YASARA (*Yet Another Scientific Artificial Rality Application*) merupakan program molekul grafis, modelling dan simulasi struktur tiga dimensi yang mencakup pada analisis protein dan asam nukleat. Yasara (<http://www.yasara.com/nova>) meminimasi protein dengan medan gaya AMBER yaitu NOVA (Protein + Nukleotida Optimization in Vacuo). Medan gaya Assisted Model Building with Energy Refinement (AMBER) merupakan program mekanika molekuler yang didesain untuk perhitungan asam nukleat dan peptida. Parameter digunakan dalam optimasi berupa interaksi tak berikatan dengan pelarut dan penggunaan metode atom kelompok (Krieger, dkk., 2002).

2.12.3 Pymol

Pymol merupakan suatu program yang dikembangkan untuk memvisualisasikan konformasi dari suatu struktur tunggal atau gabungan ligan

hasil tambat. Pymol merupakan program yang dapat dijalankan dalam program Windows ataupun Linux untuk visualisasi yang baik ataupun digunakan dalam mempersiapkan publikasi hasil penambatan. Pymol menawarkan beberapa pilihan tampilan, menyediakan fungsi 3D viewing yang dapat dimanfaatkan untuk mendesain obat berdasarkan struktur (Seilenger et al., 2010).

2.12.4 UCSF Chimera

UCSF (University of California at San Francisco) Chimera adalah suatu program yang secara luas digunakan untuk visualisasi interaktif dan analisis struktur molekul, serta data terkait, termasuk peta densitas, pertemuan supramolekul, penjajaran sekuens, hasil penambatan, dan trajektori. Chimera dapat menghasilkan gambar dan animasi kualitas tinggi. Dokumentasi dan beberapa tutorial dari Chimera dapat diunduh secara gratis untuk kepentingan akademik, pemerintahan, non-profit, dan untuk penggunaan pribadi. Chimera dikembangkan oleh Resource for Bioinformatics, Visualization, and Informatics, dan didanai oleh National Center for Research Resources (UCSF CHIMERA: An Extensible Molecular Modelling System, 2010).

2.12.5 Discovery Studio Visualization

Discovery studio (<https://discover.3ds.com/discoveryy-studio-visualizer-download>) merupakan perangkat view gratis yang dapat digunakan untuk membuka, mengedit dan menganalisis data hasil dari perangkat lunak lain. Discovery studio merupakan perangkat lunak paling komprehensif, terukur, dan kolaboratif untuk penelitian dalam bidang ilmu hayati. Perangkat ini dibangun oleh *BIOVA Pipeline Pilot* yang dapat mempresentasikan visualisasi molekul kecil dan molekul besar. Visualisasi dapat berupa molekul 2D maupun 3D dalam

menampilkan interaksi antara ligan dengan protein (Ahkam, dkk., 2020).

2.12.6 pkCSM

Pendekatan komputasi untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas molekul kecil menggunakan pendekatan baru pkCSM yang menggunakan tandatangan berbasis grafik untuk pengembangan model prediktif properti ADMET pusat untuk pengembangan obat. pkCSM bekerja dengan baik atau lebih baik dari metode saat ini. Server web yang dapat diakses secara bebas (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsml>) yang merupakan platform terintegrasi untuk mengevaluasi sifat farmakokinetik dan toksisitas dengan cepat.

2.12.7 PASSOnline

PASS Online (Prediction of Activity Spectra for Substances) adalah salah satu program berbasis komputer yang bisa digunakan sebagai alat untuk memprediksikan aktivitas biologi dari suatu senyawa (Jamkhande et al., 2014).⁴⁵ PASS melakukan analisis berdasarkan pada hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas yang dimilikinya atau SAR (Structure Activity Relationship). PASS sudah banyak melakukan percobaan yang dilakukan yakni lebih dari 205.000 senyawa yang diuji dan ternyata memiliki lebih dari 3.750 aktivitas biologi (Pramely & Raj, 2012). Hasil prediksi dari PASS akan menunjukkan sejumlah aktivitas biologi kemungkinan aktif (P_a = probable activity) dan kemungkinan tidak aktif (P_i = probable inactivity). Nilai P_a dan P_i bermacam-macam dari 0,000 hingga 1,000 dan secara umum $P_a + P_i \neq 1$. Interpretasi dari hasil prediksi PASS adalah, (i) hanya senyawa dengan nilai $P_a > P_i$ yang memiliki kemungkinan sebagai senyawa yang baik.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Komputasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Maret 2023 hingga Juni 2023.

3.2 Alat

Alat yang digunakan pada proses penelitian ini yaitu seperangkat laptop Asus (A42JC series) prosesor intel Celeron N4060 dengan program aplikasi yang digunakan yaitu Sistem Operasi Windows 11, spesifikasi 32-bit dan SSD 128 GB. Adapun perangkat lunak yang digunakan yaitu *Autodock Tools (ADT)*, *Discovery Studio*, *UCSF Chimera 1.11.2*, *Autodock 4.2*, *Open Babel*, *Pymol*, *Yasara*, (<http://www.rcsb.org/pdb/>) dan Pubchem (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>).

3.3 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah berupa struktur tiga dimensi dari protein reseptor dan struktur tiga dimensi dari ligan. Protein reseptor yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Peroxisome Poliferator Activator Reseptor Gamma* (PPAR γ) yang diunduh dari Data Bank Protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Adapun protein reseptor yang dipilih adalah PPAR γ pada manusia yang didapatkan dari metode kristalografi X-ray diffraction resolusi 1.801 Å yang tertambat dengan pioglitazone. Identitas reseptor tersebut adalah 5Y2O yang di unduh dengan format Pdb. Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah pioglitazone dan senyawa flavonoid dari pare yang dapat diunduh dari situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format sdf.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan menggunakan metode *molecular docking* senyawa aktif buah pare golongan flavonoid terhadap protein target berupa PPAR γ . Struktur 3D reseptor dan ligan yang digunakan diunduh pada Bank Data Protein yang selanjutnya dilakukan validasi simulasi *docking* dengan melakukan proses *redocking* terlebih dahulu antara ligan penambat PPAR γ yaitu pioglitazone. Proses *redocking* dikatakan telah sesuai dan memenuhi standar validasi jika diperoleh nilai RMSD $\leq 2\text{\AA}$ (Kartasasmita,2009). Proses penambatan molekular menggunakan aplikasi Autodock 4.2 dengan beberapa tahapan yaitu seperti persiapan ligan dan reseptor, preparasi makromolekul, penentuan *Grid box*, *docking* dan *running*. Penambatan molekul dilakukan dengan semua senyawa flavonoid buah pare secara satu per satu. Setiap satu kali proses *docking* dilakukan pengulangan sebanyak 200 kali untuk pencarian konformasi ligan. Parameter *docking* yang dipilih pada penelitian ini adalah *Genetic Algorithm* dan *Lamarckian GA*. Hasil proses *docking* dianalisis dengan aplikasi *Autodock Tools*, *Discovery Studio Visualizer*, *Pymol* dan *Yasara* untuk menentukan kesesuaian jenis ikatan dan energi ikatan yang diperoleh melalui interaksi antara ligan dengan reseptor.

3.5 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut

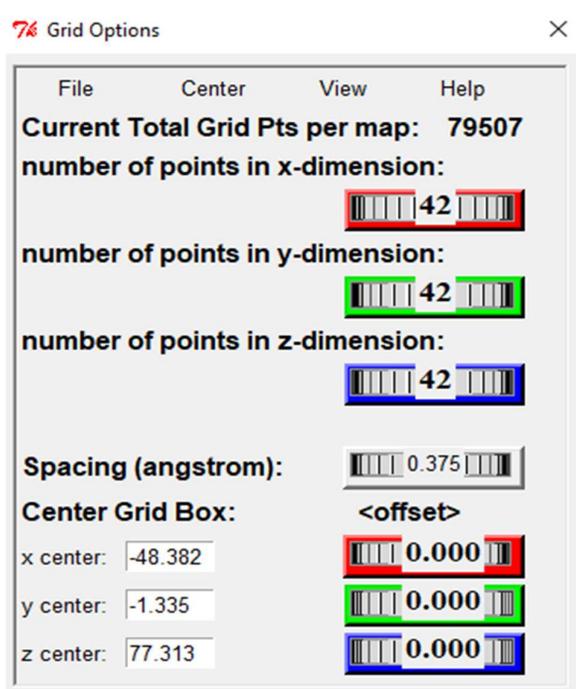
- a) Preparasi struktur ligan dan reseptor
- b) Validasi metode *molecular docking/redocking*
- c) Proses penambatan molekul (*Docking*)
- d) Analisis dan visualisasi hasil *docking*
- e) Analisis data
- f) Prediksi aktivitas antidiabetes

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Preparasi Protein Reseptor PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma)

Makromolekul PPAR γ diunduh pada situs <http://www.rcsb.org/pdb>. Makromolekul di unduh dengan format pdb. dengan identitas 5Y2O dari Bank Data Protein. Makromolekul protein dibuka menggunakan program USCF Chimera 1.11.2. untuk dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu non standar yang tidak diperlukan. Selanjutnya dilakukan pemisahan ligan alami yang terikat pada makromolekul. Pemisahan ligan alami dari makromolekul ditujukan untuk menyediakan ruang yang akan menjadi tempat berikatan ligan uji pada protein target. Pada struktur protein target yang diperoleh, senyawa air (H₂O) dihilangkan karena air dapat mempengaruhi proses dalam menemukan posisi pengikatan dan perhitungan affinitas ikatan antara ligan dan protein target (Rumata dkk, 2022).

Selanjutnya dilakukan perbaikan struktur yang meliputi penambahan atom hydrogen, penambahan muatan dan perbaikan missing residu/missing atom menggunakan program USCF Chimera dengan bantuan aplikasi modeller. Penambahan atom hydrogen bertujuan untuk menyesuaikan suasana docking agar mendekati suasana pH di dalam tubuh dan ikatan hydrogen yang terbentuk dapat teramati (Drie, 2005; Sastry et al.,2013). Struktur PPAR γ yang telah di preparasi kemudian disimpan dalam format pdbqt. Protein yang telah dipreparasi akan dilakukan penentuan grid docking yang bertujuan untuk pembatasan area ikatan antara ligan dengan protein. Pengaturan gridbox parameter disesuaikan dengan situs aktif dari ikatan ligan sebelumnya, yaitu ligan pioglitazone.



Gambar 3.1 Jendela Dialog penambatan reseptor dengan ligan pioglitazone.

3.6.2 Preparasi Struktur Ligan

Ligan yang digunakan adalah pioglitazone yang sudah terikat secara langsung dengan protein reseptor yang dapat diunduh dari situs PDB (<http://www.rcsb.org>) yang digunakan sebagai kontrol positif atau pembanding. Ligan pioglitazone dipisahkan dengan protein reseptor menggunakan program USCF Chimera dan disimpan dengan format .pdb. Adapun ligan senyawa-senyawa aktif buah pare golongan flavonoid yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 senyawa yang diunduh dari situs (<http://PubChem.ncbi.nlm.gov>) dengan memilih format penyimpanan .sdf. yang kemudian akan dikonversi menjadi format .pdb dengan bantuan program *Open Babel*. Struktur ligan telah tersimpan dalam format .pdb kemudian dioptimasi dengan menggunakan program 4.2 meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan dan pengaturan torsi. File kemudian disimpan dengan format .pdbqt untuk dilakukan proses docking.

3.6.3 Validasi Metode Molecular Docking (Redocking)

Sebelum proses docking, dilakukan validasi metode docking dengan cara *redocking*. *Redocking* merupakan suatu proses penambatan ulang antara reseptor dengan ligan penambat atau biasa disebut dengan ligan alami yaitu pioglitazone pada sisi aktif reseptor. Validasi parameter docking dievaluasi berdasarkan nilai *Root Mean Squared Deviation* (RMSD). Parameter dinyatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$, sehingga ditampilkan ligan copy dengan posisi atom yang tidak jauh berbeda dengan posisi ligan asli (Aswad et al., 2020).

Tahapan awal dilakukan dengan memisahkan reseptor dari ligan dan residu lain menggunakan program USCF Chimera yang kemudian dipreparasi menggunakan AutoDock 4.2 yang meliputi penghilangan air, penambahan atom hydrogen dan penambahan muatan. Dalam proses validasi metode *molecular docking* menggunakan *Autodock Tools* dilakukan juga penentuan *grid box*. *Grid box* akan menjadi ruang untuk ligan alami membentuk konformasi ketika di *docking* dengan protein target. Penentuan *grid box* untuk mengetahui koordinat pada *binding site* suatu protein. Pengaturan *grid box* meliputi, pengaturan koordinat *grid center* dan pengaturan *grid size*. Hasilnya kemudian disimpan dalam format *pdbqt*. Hasil *redocking* yang didapatkan selanjutnya dijadikan sebagai acuan pada proses penambatan senyawa-senyawa aktif buah pare golongan flavonoid dengan protein target menggunakan posisi dan koordinat *grid box* yang sama.

Tahapan selanjutnya dilakukan penambatan ulang menggunakan AutoDock 4.2 yang mencakup proses pembuatan peta map oleh Autogrid yang dijalankan menggunakan program *command prompt* hingga diperoleh file *dlg* (*docking log file*) yang berisikan data hasil docking. Data konformasi dengan

nilai ΔG_{ikatan} yang terendah dengan nilai RMSD $\leq 2\text{\AA}$ akan digunakan sebagai acuan pada proses docking ligan uji selanjutnya, yaitu senyawa-senyawa aktif buah pare golongan flavonoid.

3.6.4. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*) dengan Autodock 4.2

3.6.4.1 Pembentukan File GLG (*Grid Log File*)

Protein dan ligan dengan format .pdbqt disimpan dalam satu folder yang sama. File gpf (*grid parameter file*) serta file dari Autodock Tolls yaitu Autogrid4.exe juga disimpan dalam satu folder yang sama. Selanjutnya dijalankan Autogrid4 melalui cmd (command prompt) dengan kata perintah sebagai berikut:

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

Pada ranning ini akan dihasilkan file map, file xyz, file fld dan file glg. (file log grid) yang berisi ringkasan dari running Autogrid4.

3.6.4.2 Pembentukan file DPF (*Docking Parameter File*)

Pembentukan file ini bertujuan untuk menjalankan docking karena berisi parameter-parameter yang digunakan untuk docking molekul. Dipilih PPAR γ sebagai makromolekul target dan senyawa flavonoid sebagai ligan. Pada pembentukan file ini dilakukan pemilihan parameter, yaitu genetic algorithm sebagai algoritma docking. Algoritma yang digunakan dalam docking berfungsi untuk mencari struktur konformasi protein-ligan dengan kesesuaian ruang 3D dan energi interaksi terbaik. Pemilihan algoritma disesuaikan dengan hasil yang diinginkan. Output yang dihasilkan yaitu berupa file dpf.

3.6.4.3 Pembentukan file DLG (*Docking Log Grid*)

Protein.pdbqt, ligan.pdbqt, file dpf., dan Autodock4.exe diletakkan dalam satu folder yang sama sebagai Langkah awal pembentukan file dlg. Proses docking antara protein dengan senyawa- senyawa flavonoid buah pare dapat dilakukan setelah file glg. terbentuk. Selanjutnya dijalankan Autodock4 melalui cmd (command prompt) dengan perintah sebagai berikut:

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

Hasil dari proses running Autodock4 adalah file dlg yang berisikan nilai ΔG_{ikatan} , informasi seluruh nilai RMSD atas setiap konformasi, hasil energi dari setiap konformasi yang terbentuk, afinitas ikatan serta peringkat dari konformasi yang terbentuk.

3.6.5 Optimasi Konformasi Hasil Docking

Optimasi konformasi energi pada kompleks hasil docking reseptor dengan ligan yang dipilih berdasarkan energi ikatan terendah pada 16 senyawa ligan uji flavonoid dengan menggunakan program YASARA (<http://www.yasara.org/minimizationserver.htm>) sehingga diperoleh energi dihasilkan file YASARA scene. Adapun langkah yang dapat dilakukan dalam menghitung energi menggunakan YASARA force field (NOVA) adalah;

1. Nilai single point YASARA : Analyze → energy → potential → object → pilih objek. Objek yang digunakan pada penelitian ini adalah data 5Y2O dari PDB sebelum diminimasi. Selanjutnya klik OK. Semua komponen energi yang digunakan dipilih dan klik OK. Kemudian akan diperoleh hasil.
2. Minimization : Option → choose experiment → minimization. Minimisasi

energi selesai.

3. Hitung energi single point struktur setelah minimasi: analyze → energy → Potential → object → pilih objek yang digunakan. Diperoleh hasil energi setelah optimasi.

3.6.6 Prediksi Aktivitas Antidiabetes dengan PASSOnline

Tahap awal prediksi melalui SMILES pada pubchem untuk mencari senyawa aktif flavonoid. Selanjutnya SMILES dari senyawa dicopy dan dilakukan prediksi aktivitas (Get Prediction). Analisis PASSOnline berdasarkan pada SAR (Structure Activity Relationship) atau hubungan antara struktur senyawa dengan aktivitas biologisnya.

3.6.7 Visualisasi Interaksi Hasil *Docking*

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

Analisis nilai energi terendah dilakukan pada tahap akhir dikarenakan nilai energi ikatan menjadi tidak bermakna jika ligan tambat tidak memiliki aktivitas biologis yang sama dengan ligan referensi karena yang diharapkan adalah ligan tambat memiliki interaksi yang sama dengan ligan referensi saat di dalam makromolekul protein. Posisi dan orientasi ligan pada makromolekul PPAR γ dan residu asam-asam amino yang berinteraksi dengan ligan divisualisasikan

menggunakan perangkat lunak AutodockTools (ADT) dan Discovery Studio (DS) untuk melihat kecocokan bentuk dan volume antara ligan dan situs tambatnya.

3.6.8 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa Uji dengan pkCSM

Prediksi *in silico* nilai parameter sifat fisikokimia senyawa uji golongan flavonoid buah pare dengan senyawa pembanding obat turunan Thiazolinedion yaitu pioglitazone. Lipinski et al. pada tahun 1971 telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *World Drugs Index*. Hasil analisis menyatakan bahwa suatu senyawa akan sulit untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang rendah jika memiliki: berat molekul lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) lebih besar dari +5; nilai ikatan H-Donor (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar dari 5 dan nilai ikatan H-aseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar 10. Analisis tersebut dikenal dengan hukum lima Lipinski, dikarenakan semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima (Kesuma, dkk., 2018).

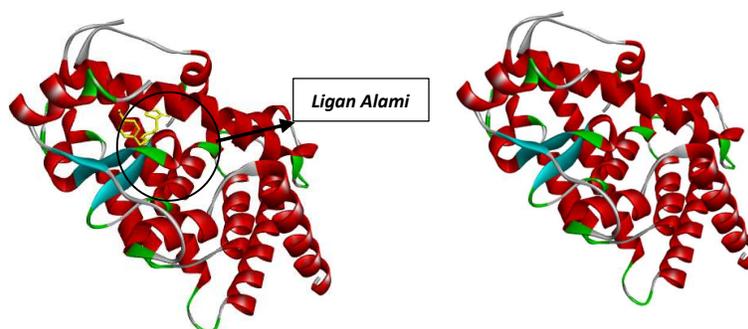
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Struktur PPAR γ

Tahapan awal dalam penelitian ini sebelum dilakukan proses penambatan molekul adalah preparasi struktur makromolekul protein. Tahapan ini bertujuan untuk memisahkan makromolekul protein dari residu-residu non standar yang mengganggu pada proses penambatan molekul. Struktur makromolekul protein yang digunakan merupakan *Peroxisome Prolifelator Activated Receptor Gamma* (PPAR γ) pada manusia (*Homo sapiens*) yang diperoleh melalui difraksi sinar-X dengan resolusi 1.80 Å. Makromolekul ini terdiri dari dua subunit rantai, rantai A dan rantai B dengan satu ligan kompleks yang terikat pada rantai A, yaitu pioglitazone. Ligan pioglitazone memiliki kode PDB 8N6 (Atmanjani, dkk.,2019). Preparasi struktur protein dimulai dengan mengunduh struktur makromolekul protein *Peroxisome Prolifelator Activated Receptor Gamma* (PPAR γ) dengan format .pdb melalui situs web Protein Data Bank dengan alamat <http://www.rcsb.org/pdb/>. Struktur PPAR γ diunduh dengan PDB ID yaitu 5Y2O.

Makromolekul yang telah diunduh kemudian dipreparasi dengan memisahkan protein PPAR γ dari ligan yang terikat, penghilangan molekul air dan residu-residu non standar dengan menggunakan aplikasi USCF Chimera 1.16. Molekul air perlu dihilangkan karena molekul air akan memediasi interaksi ligan dengan reseptor, sehingga proses penambatan antar protein dengan ligan yang akan berlangsung lebih kompleks. Hal ini menyebabkan proses penambatan akan memerlukan waktu semakin lama dikarenakan semakin banyaknya variable persamaan matematika *docking* yang harus diselesaikan (Cole, Nissink and Taylor, 2005). Disamping itu, pemisahan ligan alami dari protein target ditujukan untuk

menyediakan ruang yang akan menjadi tempat berikatan ligan uji pada protein target (Rahma, R.N. dkk.,2021). Selanjutnya dilakukan perbaikan missing residu dari makromolekul sebelum digunakan dalam proses docking. Perbaikan *missing residues* dilakukan dengan bantuan program *modeller*. Perbaikan missing residues bertujuan untuk memperbaiki residu yang hilang yang dimungkinkan berada pada situs aktif protein. Adanya missing residues dikhawatirkan dapat berdampak pada hasil docking (Harir, F., 2022).



Gambar 4.1 Reseptor PPAR γ dengan ligan alami dan tanpa ligan alami

Makromolekul protein kemudian dioptimasi menggunakan AutodockTools. Tahap optimasi yang dilakukan yaitu penambahan atom hydrogen (protonasi) yang bertujuan untuk menyesuaikan kondisi makromolekul protein saat *docking* mendekati pH di dalam tubuh seperti didalam sel (pH 7), dikarenakan PPAR γ termasuk reseptor inti (*nuclear receptor*) (Habor, 2010). Adanya penambahan atom hidrogen akan memaksimalkan proses penambatan molekul. Atom hidrogen yang dimaksudkan adalah yang bersifat polar, karena atom ini terlibat dalam ikatan hidrogen (Yanuar, 2012). Perbaikan muatan makromolekul juga perlu dilakukan, yaitu dengan penambahan muatan *gasteiger* untuk menyesuaikan dengan lingkungan docking sehingga perhitungan docking dapat dilakukan dengan benar (Huey et al., 2012).

Tahap optimasi makromolekul protein selanjutnya adalah pengaturan *grid box* yang bertujuan untuk menentukan ukuran ruang tambat ligan yang akan ditambatkan pada sisi aktif protein (Sellinger and Bert, 2010). Ruang tambat ligan ditentukan dengan merujuk pada penelitian terdahulu berdasarkan validasi ligan yang sudah tertambat dengan makromolekul protein, yaitu dalam hal ini pioglitazone. Tahapan ini meliputi pengaturan *grid box* *x_center*, *y_center* dan *z_center* untuk mengatur posisi *box* parameter dari makromolekul protein. Selanjutnya diatur *size_x*, *size_y* dan *size_z* serta *spacing* (angstrom) untuk mengatur besar kecilnya ruang penambatan ligan. Setelah pengoptimasian makromolekul selesai, selanjutnya file disimpan dengan format *.pdbqt*.

4.2 Preparasi Struktur Ligan

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan 16 senyawa aktif buah pare golongan flavonoid yaitu 5-3'-4-trihydroxy flavonol, Apigenin-7-O-glucoside, Luteolin-7-O-glucoside, Naringenin-7-O-glucoside, Kaempferol, Luteolin, Hesperidin, Apigenin, Biochanin A, Gallocatechin gallate, Epigallocatechin, Catechin, Epicatechin, Isoquercitrin, Quercitrin dan Quercetin serta ligan alami pioglitazone sebagai senyawa pembanding dari hasil penambatan senyawa flavonoid. Struktur 3D yang digunakan dalam proses penambatan ini diunduh melalui situs <http://PubChem.ncbi.nlm.gov> dengan format *.sdf*. Tahapan selanjutnya adalah dikonversi format ligan dari *.sdf* menjadi *.pdb* menggunakan bantuan aplikasi Open Babel sehingga format file dapat dibaca oleh AutodockTools dan dapat dilakukan optimasi sebelum dilakukan penambatan.

Tabel 4.1 Daftar ligan (Pubchem)

Ligan	Torsi Aktif	ID Senyawa*
Pioglitazone	7	4829
3'-4'-5'-Trihidroksiflavonol	11	10517292
Apigenin-7-O-glucoside	4	12304093
Naringenin-7-O-glucoside	7	553981
Kaempferol	4	5280863
Luteolin	5	5280445
Luteolin-7-O-glucoside	10	45933934
Hesperidin	5	10621
Apigenin	4	5280443
Biochanin A	15	5250373
Gallocatechin gallate	4	5276890
Epigallocatechin	6	65064
Catechin	12	9064
Epicatechin	6	72276
Isoquercitrin	6	5280804
Quercitrin	12	5280459
Quercetin	10	5280343

*Nomor ID dari Pubchem

Tahapan selanjutnya adalah pengoptimasian ligan dengan menggunakan aplikasi AutodockTools. Pengoptimasian ligan meliputi penambahan nilai (charge assignment) muatan gasteiger, penambahan atom hidrogen dan pengaturan torsi. Penambahan muatan gasteiger terjadi secara otomatis ketika ligan diinput dalam program Autodocktools. Kemudian dilakukan pengaturan torsi aktifnya atau *Torsdof*. *Torsdof* (*Torsion degrees of freedom*) merupakan jumlah derajat kebebasan torsi yang terdeteksi untuk dapat berotasi dalam suatu molekul (Vlamos, 2022). Pengaturan torsi ini bertujuan untuk menentukan ikatan aktif yang dapat diputar selama proses penambatan berlangsung. Torsi aktif hanya dimiliki oleh molekul yang memiliki ikatan sigma saja (Morris, 2011; Fikry, 2014). Output optimasi selanjutnya disimpan dengan format .pdbqt.

4.3 Validasi Metode Docking (Redocking)

Validasi metode docking (*redocking*) merupakan suatu proses penambatan ulang antara reseptor PPAR γ dengan ligan penambat atau ligan alami yaitu pioglitazone pada sisi aktif (*binding site*) reseptor. Penambatan ulang dengan ligan alami berfungsi sebagai acuan bagi ligan yang akan diujikan serta sebagai pembanding untuk konformasi 3D dan jenis interaksi ligan reseptor. Validasi metode docking dilakukan sebelum proses *docking*. Proses validasi ini dilakukan untuk menentukan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). *Root Mean Squared Deviation* (RMSD) merupakan nilai yang digunakan sebagai evaluasi dari parameter docking. Parameter docking dinyatakan valid jika nilai RSMD $\leq 2\text{\AA}$, sehingga ditampilkan ligan copy dengan posisi atom yang tidak jauh berbeda dengan posisi ligan asli (Aswad et al., 2020). RMSD digunakan untuk menentukan apakah prediksi dari modus ikatan yang terbentuk berhasil dan penting untuk validasi program docking yang ditentukan dengan membandingkan antara posisi atom-atom ligan secara eksperimental dan posisi berdasarkan pada prediksi algoritma (Sousa et al., 2006).

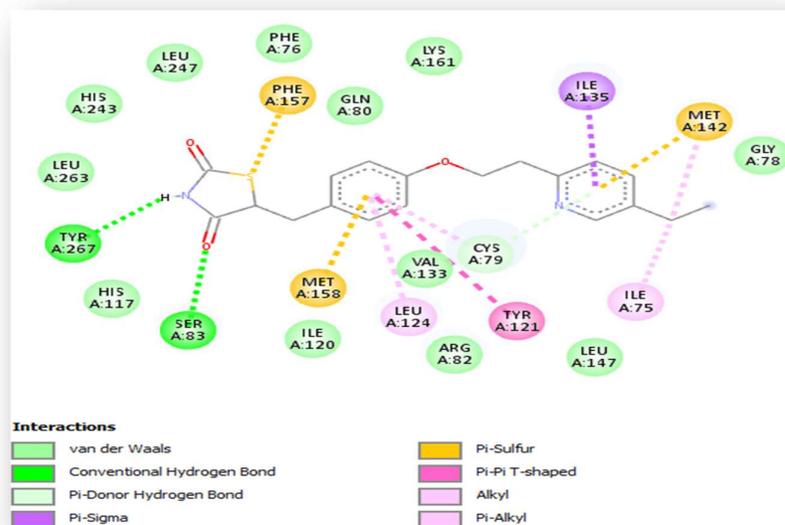
Tabel 4.2 Hasil redocking PPAR γ dengan ligan alami

Konformasi*	Energi Ikatan	Referensi RMSD
172	-9.55	0.62



* warna hijau merupakan konformasi ligan asli yang terikat pada reseptor dan warna kuning merupakan konformasi hasil redocking

Berdasarkan tabel 4.2 hasil redocking antara PPAR γ dengan ligan alami pioglitazone membentuk kluster pada Run 200, dengan nilai dimensi xyz sebesar 42,42,42 menghasilkan energi docking sebesar -9.55 kcal/mol dan dengan nilai *reference* RMSD sebesar 0,62 Å. Nilai RMSD dari hasil redocking pioglitazone berfungsi untuk mengetahui keberhasilan pioglitazone redocking menempati posisi sebagaimana keadaan awal terikat dengan reseptor PPAR γ . Hasil dari validasi internal tersebut membuktikan bahwa parameter penambatan molekul yang digunakan memenuhi syarat dan dapat digunakan dalam analisis proses *molekular docking* terhadap protein dengan ligan uji lainnya. Semakin kecil nilai RMSD, maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk proses *molekular docking* (Noviardi dan Fachrurrazie, 2015). Adapun jenis ikatan yang dihasilkan dari proses redocking disajikan pada gambar 4.2.



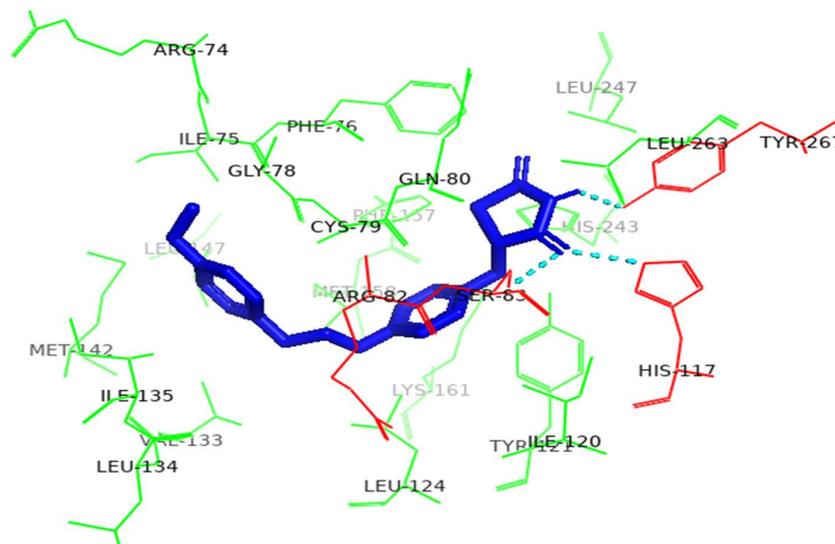
Gambar 4.2 Visualisasi interaksi *redocking*

Parameter lain dalam analisis visualisasi hasil *redocking* merupakan interaksi ligan dengan makromolekul serta posisi ligan. Visualisasi interaksi ligan

dan reseptor pada penelitian ini menggunakan program Discovery Studio (Dsv), sedangkan untuk melihat kecocokan bentuk dan posisi digunakan program Pymol. Visualisasi interaksi ligan dengan makromolekul protein menggunakan Dsv menghasilkan parameter urutan warna untuk menentukan kekuatan interaksi ligan terhadap protein. Interaksi yang memiliki pengaruh yang paling dominan ditunjukkan oleh interaksi ikatan hidrogen dengan visualisasi parameter warna hijau, interaksi hidrofobik dengan parameter warna ungu.

Berdasarkan Gambar 4.1 diketahui hasil redocking pioglitazone dengan makromolekul protein PPAR γ berinteraksi dengan residu asam amino yang bekerja pada sisi aktif yaitu pada ikatan Van der Waals Lys¹⁶¹, Gln⁸⁰, Phe⁷⁶, Leu²⁴⁷, His²⁴³, Leu²⁶³, His¹¹⁷, Ile¹²⁰, Val¹³³, Arg⁸², Leu¹⁴⁷, Gly⁷⁶ dan ikatan hidrogen konvensional bekerja pada sisi aktif Tyr²⁶⁷, Ser⁸³ dengan Pi-donor ikatan hidrogen pada residu Arg⁸², His¹¹⁷, untuk interaksi Pi-sigma pada Ile¹³⁵ dan *Alkyl/Pi-Alkyl* pada Tyr¹²¹, Ile⁷⁵, Leu¹²⁴, Cys⁷⁹.

Interaksi antara ligan dengan reseptor terjadi karena adanya koordinasi oleh ikatan hidrogen, ikatan van der Waals dan interaksi elektrostatik lainnya (Purwanto, dkk., 2021). Hasil visualisasi interaksi docking pada gambar 4.2 didapatkan gugus samping NH₂ membentuk ikatan hidrogen konvensional dengan oksigen dari pioglitazone pada residu Tyr²⁶⁷, Ser⁸³ dan membentuk pi donor ikatan hidrogen pada residu Arg⁸² dan His¹¹⁷. Adapun interaksi yang terjadi antara gugus samping residu reseptor PPAR γ dengan pioglitazone dapat dilihat pada Gambar 4.3.

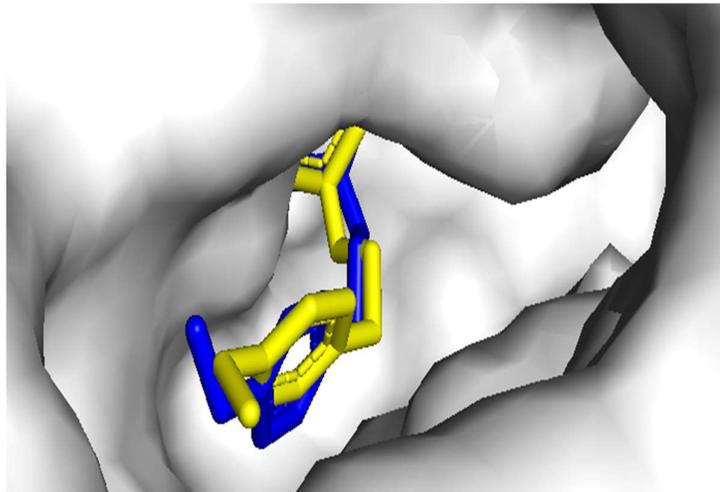


Gambar 4.3 Visualisasi interaksi pioglitazone redocking dengan residu-residu PPAR γ menggunakan *Pymol*. (warna merah: residu polar yang membentuk interaksi ikatan hidrogen, warna biru: ligan pioglitazone redocking, warna hijau: residu non polar yang membentuk interaksi selain ikatan hidrogen, garis titik-titik menunjukkan adanya ikatan polar).

Pengamatan interaksi residu asam amino pada sisi aktif reseptor bertujuan mengidentifikasi adanya interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang berkontribusi dalam menstabilkan ikatan ligan dengan reseptor. Interaksi melalui ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama dengan ligan alami menunjukkan kemiripan jenis interaksi, dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitas (Syahputra,2014). Dalam penelitian ini ditunjukkan oleh interaksi dari gugus samping NH₂ residu Tyr²⁶⁷dengan atom oksigen milik ligan *pioglitazone*. Residu Ser⁸³ berkontribusi dalam interaksinya dengan reseptor membentuk ikatan hidrogen melalui gugus (O-H), dimana selanjutnya akan berinteraksi dengan

molekul air yang berperan dalam reaksi hidrolisis substrat. Adapun residu Arg⁸², His¹¹⁷ membentuk ikatan hidrogen dengan interaksi pi-donor.

Analisis visualisasi selanjutnya adalah membandingkan posisi ligan *pioglitazone* alami dengan ligan *pioglitazone* hasil redocking. Analisis ini bertujuan untuk mengetahui posisi kedua ligan tersebut saat berada dalam reseptor yang sama yaitu PPAR γ .



Gambar 4.4 Perbandingan posisi antara ligan *pioglitazone* alami (kuning) dan *pioglitazone* redocking (biru).

Berdasarkan Gambar 4.4 dapat diketahui bahwa hasil *pioglitazone* redocking dengan *pioglitazone* alami memiliki posisi yang tidak signifikan berbeda. Terdapat beberapa perbedaan posisi pada titik-titik tertentu pada sisi ligan *pioglitazone* alami dengan *pioglitazone* redocking. Perbedaan ini dapat terjadi karena pada proses docking digunakan metode fleksibel docking yang menyebabkan ligan menjadi fleksibel dan memungkinkan terjadinya penyesuaian struktur ligan, sehingga tercapai konformasi yang stabil saat berikatan pada sisi aktif reseptor (Muttaqin et al, 2019). Adanya perbandingan posisi ini menunjukkan bahwa penambatan ulang *pioglitazone* pada reseptor PPAR γ berhasil dilakukan.

4.4 Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Studi *in silico* interaksi ligan senyawa aktif buah pare golongan flavonoid dengan protein target PPAR γ dilakukan menggunakan metode *molecular docking* dengan menggunakan program Autodock 4.2. Program ini terdiri dari dua program utama yaitu autogrid dan autodock. Autogrid merupakan modul yang digunakan untuk menentukan ukuran kotak *grid*. *Grid* merupakan daerah tempat terjadinya interaksi ligan dengan sisi aktif protein pada proses docking, yang berbentuk kubus atau balok dengan titik pusat x,y,z dan dimensi x,y,z (Noviardi, H & Fachrurrazie, 2015). Nilai *gridbox* yang diperoleh pada penelitian ini, yaitu x=-48.382, y= -1.335, z= 77.313 dengan ukuran box 42 x 42 x 42 dan spacing 0,375Å (gambar 6). Nilai *gridbox* tersebut ditentukan berdasarkan posisi letak senyawa ligan alami dalam protein PPAR γ yang terdapat pada file Protein Data Bank (PDB). Selanjutnya disimpan dengan format *gpf* untuk masuk ke tahap docking. Tahapan selanjutnya pembentukan file *.glg* dengan running pada terminal *command promt* (cmd) Windows dengan baris perintah;

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

File *.glg* yang terbentuk akan siap digunakan sebagai parameter *grid* yang memuat informasi persamaan *scoring function* untuk tipe-tipe atom pada ligan dan *gridbox* yang dibuat. Selain itu, terdapat dua file lain yang dihasilkan dari Autogrid, yaitu file dengan ekstensi *fld* dan *xyz*. File *fld* memuat ringkasan peta *grid* yang sesuai dengan Autodock. Adapun file *xyz* merupakan file yang memuat batasan nilai minimal dan maksimal *gridbox* untuk masing-masing dimensi x, y dan z (Morris et al., 2012).

Pembentukan file dpf (docking parameter file) dilakukan sebelum proses docking dengan Autodock. File ini berisi parameter *docking* berisikan kordinat ligan, peta map *docking* dan beberapa parameter untuk pencarian konformasi ligan. Adapun algoritma docking yang digunakan dalam Autodock adalah *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Proses docking berlangsung dengan menempatkan file pdbqt, file .glg, dan file .dpf dalam satu folder yang sama. Selanjutnya proses *docking* dijalankan dengan running terminal *command promt* (cmd) windows dengan baris perintah;

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

Proses *docking* berlangsung 1 sampai 2 jam untuk satu kali running. Durasi *docking* dipengaruhi oleh jumlah konformasi ligan *docking* yang diinginkan saat pemilihan parameter *docking*. Pada peneitian ini dipilih 200 kali running dengan 200 konformasi ligan *docking* yang terbentuk. Hal tersebut dilakukan untuk mendapatkan hasil *docking* yang lebih spesifik dengan hasil penambatan terbaik dan nilai ikatan rendah. Running *docking* akan menghasilkan file dengan format .dlg yang memuat informasi nilai *Root Mean Square Derivation* (RMSD), skor *docking* dan energi bebas ikatan serta informasi konformasi ligan dalam reseptor. File dlg digunakan sebagai analisis lanjutan untuk melihat posisi, kesesuaian bentuk ligan yang ditambatkan pada makromolekul dan residu asam amino yang ikut berinteraksi dengan ligan menggunakan program AutodockTools, Pymol dan Discovery Studio.

4.5 Optimasi Molekul Hasil *Docking*

Optimasi hasil docking dilakukan menggunakan aplikasi Yasara dengan medan gaya NOVA sebagai parameter perhitungannya. Optimasi energi pada hasil

docking dilakukan dengan tujuan untuk mencari energi paling rendah dengan konformasi paling stabil. Energi yang dihasilkan digunakan sebagai validasi simulasi pose ligan yang berinteraksi dengan reseptor target. Aplikasi Yasara untuk minimalisasi protein dengan medan gaya *Assisted Model Building with Energy Refinement* (AMBER), yaitu NOVA merupakan medan gaya atom yang ditujukan untuk optimasi protein dengan nukleotida. Energi interaksi ligan dengan reseptor sebelum minimasi adalah hasil docking dari Autodock, sedangkan energi interaksi ligan dan reseptor sesudah minimasi merupakan hasil optimasi dari Yasara.

4.6 Analisis Interaksi, Energi dan Visualisasi Hasil *Docking*

Molekular docking merupakan metode komputasional yang berperan dalam memahami interaksi ligan reseptor dalam perancangan obat. Hasil kalkulasi *docking* dapat dilihat pada output hasil *docking* dalam format file dlq. Analisis dan visualisasi hasil dari proses *docking* pada penelitian ini dilakukan dengan memilih konformasi ligan uji yang memiliki kesamaan interaksi dengan referensi ligan atau ligan alami yang meliputi ikatan hidrogen, ikatan van der Waals dan ikatan elektrostatik lainnya. Bentuk 3D ligan tambat diamati untuk mengetahui kesesuaian ruang, posisi dan orientasi ligan, residu makromolekul protein yang berinteraksi dengan ligan tambat, serta analisis nilai energi terendah yang dihasilkan. Adapun ligan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah 16 senyawa tanaman pare golongan flavonoid.

Identifikasi interaksi antara ligan flavonoid dengan makromolekul PPAR γ pada sisi aktifnya dapat dilihat dari residu asam amino. Sisi aktif (*binding site*) merupakan daerah pengikatan protein dengan ligan yang akan mempengaruhi fungsi ataupun konformasi dari makromolekul protein. Sisi aktif memperlihatkan

residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan. Adanya interaksi tersebut akan menunjukkan beberapa ikatan, diantaranya ikatan hidrogen, ikatan pi, interaksi elektrostatik dan beberapa ikatan hidrofobik. Adapun data lengkap residu protein PPAR γ yang terdeteksi berinteraksi dengan 16 ligan uji pada program discovery studio sebelum dan setelah optimasi disajikan pada lampiran 5.

Berdasarkan hasil yang tertera pada lampiran 5 terdapat perbedaan residu hasil docking (sebelum optimasi) dengan residu setelah optimasi. Optimasi yang dilakukan diketahui mempengaruhi jumlah residu yang berinteraksi dengan ligan flavonoid. Setelah optimasi, jumlah residu yang berinteraksi dengan ligan flavonoid lebih sedikit dibandingkan dengan residu sebelum optimasi. Berkurangnya jumlah residu yang berinteraksi dengan ligan memperlihatkan hasil optimasi yang memfokuskan ligan untuk berinteraksi dengan residu yang sesuai dengan ligan alami pioglitazone.

Hasil optimasi pada 16 senyawa ligan uji flavonoid menunjukkan adanya perubahan jumlah ikatan hidrogen dan jenis residu ligan uji yang berinteraksi dengan makromolekul PPAR γ . Pada senyawa uji 3'-4'-5'-trihidroksi flavonol, Apigenin-7-O-glycoside, Naringenin-7-O-glycoside, Luteolin-7-O-glycoside, Apigenin, Biochanin A, Quercitrin dan Epigallocatechin menunjukkan adanya pengurangan jumlah ikatan hidrogen antara ligan dan residu pada PPAR γ yang dibandingkan dengan ligan redocking. Pengurangan ikatan hidrogen yang terjadi dengan tetap mempertahankan ikatan hidrogen yang sebelumnya sudah ada. Disamping itu, pengurangan ikatan hidrogen ada yang tidak mempertahankan dan membentuk ikatan hidrogen dengan residu lain seperti pada ligan uji Kaempferol,

Luteolin, Gallocatechin Gallate, Epicatechin, Catechin, Isoquercitrin, Hesperidin dan Quercetin.

Peningkatan ataupun pengurangan jumlah ikatan hidrogen antara ligan dan makromolekul juga diikuti dengan perubahan jenis residu yang terikat dengan ligan. Sebelum optimasi terjadi ikatan hidrogen pada ligan alami pioglitazone dengan residu Tyr²⁶⁷, Arg⁸², Ser⁸³ dan His¹¹⁷. Setelah dilakukannya optimasi terjadi perubahan jenis residu yang terikat melalui ikatan hidrogen, yaitu Tyr²⁶⁷, Ser⁸³, dan Gln⁸⁰. Hasil optimasi menunjukkan 8 senyawa uji memiliki interaksi yang mirip dengan ligan pioglitazone redocking yaitu 3'-4'-5'-trihidroksi flavonol, Apigenin-7-O-glycoside, Naringenin-7-O-glycoside, Luteolin-7-O-glycoside, Apigenin, Biochanin A, Quercitrin dan Epigallocatechin.

Tabel 4.3 Data residu ikatan hidrogen 8 ligan uji yang memiliki interaksi mirip dengan ligan redocking

Senyawa Uji	Ikatan Hidrogen Hasil Docking	Ikatan Hidrogen Setelah Optimasi
<i>Pioglitazone</i>	<u>Tyr267</u> , <u>Arg82</u> , <u>Ser83</u> , <u>His117</u>	<u>Tyr267</u> , <u>Ser83</u> , <u>Gln80</u>
<i>3-4-5-trihidroksil flavonol</i>	Tyr121, <u>Tyr267</u> , His243, Gly78, Ser83	Ser136, Cys79, <u>Tyr267</u>
<i>Apigenin-7-O-glycoside</i>	Met158, <u>Ser83</u> , <u>Tyr267</u> , Lys161	Tyr121, <u>Ser83</u>
<i>Naringenin-7-O-glycoside</i>	Met142, Leu134, <u>Ser83</u> , Cys79	His243, Leu134, <u>Ser83</u>
<i>Luteolin-7-O-glycoside</i>	Leu134, Ile75, Cys79, His243	Tyr121, Ser136, <u>Ser83</u>
<i>Apigenin</i>	Ile120, <u>Arg82</u> , Cys79, Leu124, <u>Tyr267</u> , <u>Ser83</u>	Tyr 121, <u>Ser83</u> , Leu134
<i>Biochanin A</i>	Leu134, <u>Ser83</u> , <u>Tyr267</u> , <u>Arg82</u> , Cys79, Ser136, Gly78	<u>Tyr267</u> , Ser136, Glu85
<i>Quercitrin</i>	Leu134, <u>Ser83</u>	Leu134, <u>Ser83</u> , His243, Arg82
<i>Epigallocatechin</i>	Tyr121, Ile120, His243, <u>Arg82</u>	His243, <u>Ser83</u> , Cys79, Leu134

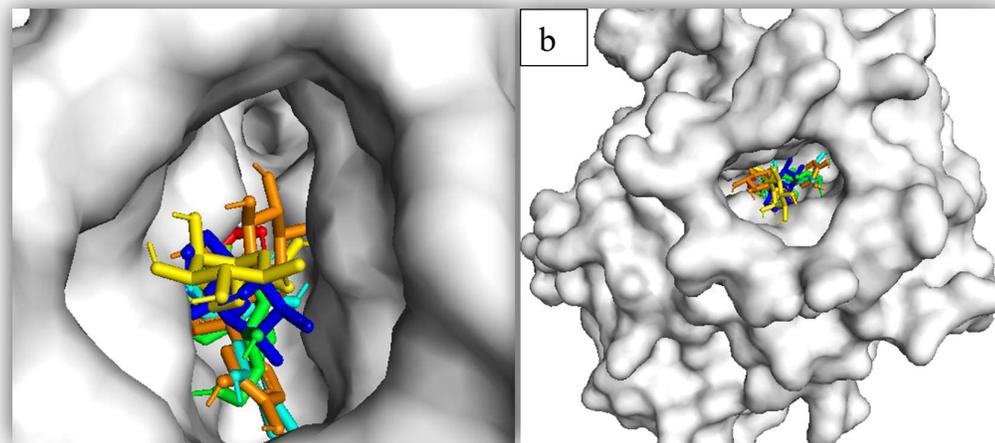
Ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama pada ligan alami atau ligan pembanding menunjukkan kemiripan jenis interaksi, dalam hal ini menunjukkan adanya kemiripan aktivitas (Naufa F, et al., 2022). Pada hasil molekular docking dari 16 ligan uji didapatkan 8 ligan uji yang memiliki kemiripan

interaksi residu asam amino dengan ligan pioglitazon. Pada senyawa 3-4-5-trihidroksil flavonol hasil docking memiliki dua ikatan hidrogen (Tyr²⁶⁷ dan Ser⁸³) yang mirip dengan ligan pioglitazone dan setelah optimasi membentuk satu ikatan hidrogen (Tyr²⁶⁷) yang mirip dengan ligan pioglitazone. Senyawa Apigenin-7-O-glycoside dan senyawa Apigenin berinteraksi dengan residu Tyr²⁶⁷, Ser⁸³ yang mirip dengan pioglitazone hasil docking dan perubahan residu ikatan yang mirip dengan pioglitazon setelah optimasi, yaitu Ser⁸³. Senyawa Naringenin-7-O-glycoside hasil docking dan setelah optimasi terdapat satu ikatan hidrogen yang mirip, yaitu Ser⁸³. Senyawa Luteolin-7-O-glycoside hasil docking tidak memiliki residu yang sama dengan pioglitazone, namun setelah optimasi terdapat satu ikatan hidrogen yang mirip, yaitu Ser⁸³. Senyawa Biochanin A hasil docking memiliki tiga ikatan hidrogen (Tyr²⁶⁷, Ser⁸³, Arg⁸²) yang mirip dengan ligan pioglitazone dan setelah optimasi membentuk satu ikatan hidrogen (Tyr²⁶⁷) yang mirip dengan ligan pioglitazone. Senyawa Quercitrin hasil docking dan setelah optimasi berinteraksi dengan satu residu ikatan hidrogen yang sama dengan pioglitazone yaitu Ser⁸³. Senyawa Epigallocatechin hasil docking berinteraksi dengan residu Arg⁸² dengan perubahan residu ikatan setelah optimasi, yaitu Ser⁸³. Adanya kemiripan residu asam amino ligan uji dengan ligan alami menunjukkan bahwa ligan uji mampu menghambat protein target dan berpotensi memiliki aktivitas yang sama dengan ligan alami. Adapun ligan uji lain setelah dilakukan optimasi tidak memiliki residu yang mirip dengan ligan alami kemungkinan memiliki aktivitas yang berbeda dengan ligan alami pioglitazone.

Residu Tyr²⁶⁷ dan Ser⁸³ mendominasi interaksi ikatan dengan seluruh senyawa flavonoid dengan membentuk interaksi ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen

terjadi dengan ikatan pada gugus NH—O dan CH—O. Residu-residu yang memiliki gugus samping OH bertindak sebagai donor ikatan sedangkan atom O yang berasal dari ligan uji senyawa flavonoid bertindak sebagai akseptor ikatan. Kekuatan dari suatu interaksi ditandai dengan semakin banyaknya interaksi hidrogen antara senyawa dengan residu asam amino, sehingga diprediksi interaksi yang terjadi antara senyawa dengan reseptor semakin baik (Ruswanto, 2015). Ikatan hidrogen akan berinteraksi dengan pasangan elektron bebas pada rentang besaran energi 2- 30 kcal/mol. Adapun interaksi lain seperti van der Waals, Alkyl, Pi-sulfur, pi-sigma, dan pi-pi T shaped juga menyertakan beberapa residu yang terikat pada sisi aktif yang memberikan sumbangsih dalam interaksi antara ligan dengan reseptor (Siswandono, 2016).

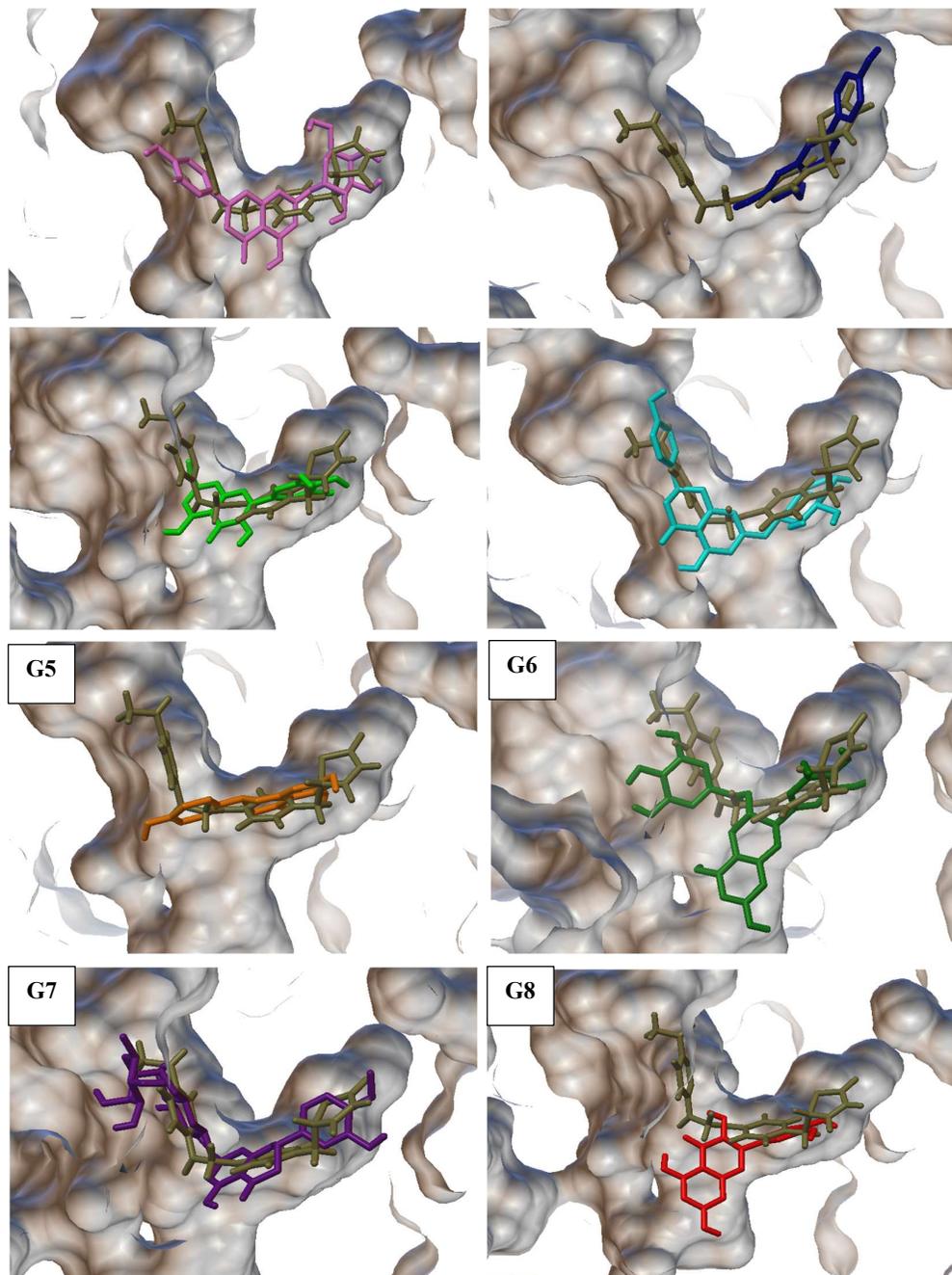
Analisis selanjutnya adalah mengenai posisi serta kesesuaian ruang dan orientasi ligan tambat dalam situs tambat reseptor. Bentuk 3D ligan tambat diamati untuk mengetahui kesesuaian ruang, posisi dan orientasi ligan dalam makromolekul protein dengan menggunakan program Pymol. Analisis posisi dan kesesuaian ruang dilakukan dengan membandingkan senyawa uji ligan flavonoid yang memiliki interaksi yang dominan menyerupai pioglitazone redocking, 3'-4'-5'-trihidroksi flavonol, Apigenin-7-O-glycoside, Naringenin-7-O-glycoside, Luteolin-7-O-glycoside, Apigenin, Biochanin A, Quercitrin dan Epigallocatechin yang dapat dilihat pada gambar 4.5.



Gambar 4.5 Pose 3D 8 Ligan flavonoid terpilih dengan penyesuaian pada permukaan PPAR γ (3'-4'-5'-trihidroksi flavonol: magenta, Apigenin-7-O-glycoside: biru, Naringenin-7-O-glycoside: hijau, Luteolin-7-O-glycoside: kuning, Apigenin: orange, Biochanin A: toska, Quercitrin: hijau tua, dan Epigallocatechin: merah).

- visualisasi pose 3D ligan flavonoid yang memfokuskan pada sisi aktif reseptor.
- visualisasi pose 3D ligan flavonoid secara keseluruhan.

Berdasarkan gambar 4.5 dapat dilihat bahwa senyawa flavonoid terpilih memiliki posisi yang hampir mirip dengan pioglitazone redocking. Adapun pada pengamatan kesesuaian ruang, ligan terpilih juga terlihat menyesuaikan permukaannya dengan permukaan PPAR γ dengan baik, sehingga terlihat memenuhi ruang sisi aktif memperlihatkan volume dan kapasitas ruang yang diikat oleh ligan flavonoid terpilih terlihat penuh jika di bandingkan dengan ligan flavonoid lainnya. Inti dari kesesuaian bentuk dalam docking dapat dilihat pada permukaan molekul. Penelitian Ramdan R.A.K, 2021 dan Mukesh & Rakesh, 2011 menyatakan permukaan reseptor dideskripsikan sebagai permukaan pelarut dan permukaan ligan dideskripsikan kesesuaian permukaan reseptor. Kesesuaian permukaan ligan dengan reseptor sama dengan kesesuaian bentuk dan volume yang memudahkan dalam menemukan posisi ligan dengan protein targetnya.



Gambar 4.6 Visualisasi posisi dan kesesuaian ruang ligan uji

Keterangan:

- (G1) perbandingan posisi 3'-4'-5'-trihidroksi flavonol dengan *pioglitazone redocking*
- (G2) perbandingan posisi Apigenin-7-O-glucoside dengan *pioglitazone redocking*
- (G3) perbandingan posisi Naringenin-7-O-glucoside dengan *pioglitazone redocking*
- (G4) perbandingan posisi Luteolin-7-O-glucoside dengan *pioglitazone redocking*
- (G5) perbandingan posisi Apigenin dengan *pioglitazone redocking*
- (G6) perbandingan posisi Biochanin A dengan *pioglitazone redocking*
- (G7) perbandingan posisi Quercitrin dengan *pioglitazone redocking*

(G8) perbandingan posisi Epigallocatechin dengan *pioglitazone redocking*
 Analisis terakhir dari data hasil docking adalah analisa berdasarkan pada nilai ikatan (*binding affinity*) antara ligan dengan makromolekul protein. Analisis nilai energi terendah dilakukan pada tahap akhir dikarenakan nilai energi ikatan menjadi tidak bermakna jika ligan tambat tidak memiliki aktivitas biologis yang sama dengan ligan referensi, karena yang diharapkan adalah ligan tambat memiliki interaksi yang sama dengan ligan referensi ketika berada didalam makromolekul protein. Adapun data konformasi ligan uji docking diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{ikatan} dengan urutan nilai terendah hingga tertinggi.

Tabel 4.4 Energi interaksi hasil docking dan hasil optimasi senyawa uji golongan flavonoid

Nama Senyawa	Energi Hasil <i>Docking</i> (Kcal/mol)	Energi Interaksi (E_{R-L}) Hasil Optimasi (Kcal/mol)
Pioglitazone (<i>Redocking</i>)	-9.55	-49.5871
3'-4'-5'-Trihidroksiflavanol	-8.49	-42.2591
Apigenin-7-O-glucoside	-7.63	-27.5736
Naringenin-7-O-glucoside	-7.25	-36.5187
Kaempferol	-7.58	-26.437
Luteolin	-7.03	-37.7582
Luteolin-7-O-glucoside	-9.30	-38.9898
Hesperidin	-7.64	-24.8308
Apigenin	-7.58	-27.8714
Biochanin A	-9.21	-7.9221
Gallocatechin gallate	-7.67	-32.5194
Epigallocatechin	-7.20	-39.0469
Catechin	-9.81	-35.6982
Epicatechin	-7.26	-28.1769
Isoquercitrin	-7.83	-33.0646
Quercitrin	-8.66	-42.3614
Quercetin	-5.86	-37.2725

$$E_{interaksi\ R-L} = E_{R-L} - (E_{Reseptor} + E_{Ligan})$$

Keterangan:

E_{R-L} = Energi Kompleks reseptor-ligan teroptimasi

$E_{Reseptor}$ = Energi reseptor teroptimasi

E_{Ligan} = Energi ligan teroptimasi

Nilai energi hasil docking tersebut menunjukkan kestabilan konformasi yang terbentuk ketika ligan berikatan dengan reseptor. Ikatan pembentukan kompleks yang kuat ditandai dengan nilai ΔG_{ikatan} yang rendah serta nilai inhibisi rendah.

ΔG_{ikatan} merupakan energi yang dibutuhkan ligan untuk berikatan atau berinteraksi dengan makromolekul (reseptor) pada sisi ikatan (*binding site*). Semakin rendah harga ΔG_{ikatan} maka semakin stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Energi hasil docking dan optimasi energi interaksi senyawa uji golongan flavonoid dapat dilihat pada tabel 4.4.

Berdasarkan tabel 4.4 diketahui bahwa nilai energi binding affinity hasil docking 16 senyawa golongan flavonoid memiliki rentang nilai dari -5.85 sampai dengan -9.81 kcal/mol. Senyawa aktif diprediksi memiliki kemampuan interaksi dengan protein target apabila memiliki nilai binding affinity mendekati atau lebih rendah dari ligan pembanding. Analisis energi dilakukan untuk mengetahui spontanitas suatu reaksi dan kestabilan interaksi ligan-reseptor dicerminkan dengan nilai energi ikatan yang rendah. Senyawa uji dengan nilai $\Delta G_{ikatan} < 0$ menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas pada sisi aktif reseptornya. Pada 16 senyawa golongan flavonoid keseluruhan memiliki nilai $\Delta G_{ikatan} < 0$ yang ditunjukkan pada tabel 4.4, dimana 16 senyawa uji golongan flavonoid memiliki potensi sebagai agonis reseptor PPAR γ . Senyawa yang dapat bersaing dengan ligan alami pioglitazone adalah senyawa yang memiliki energi ikatan lebih rendah atau mendekati energi ligan alami. Hasil uji docking dari 16 senyawa uji golongan flavonoid buah pare hanya terdapat 5 senyawa yang memiliki energi afinitas ikatan yang mendekati nilai energi ligan alami.

Minimasi energi ΔG_{ikatan} hasil optimasi dengan Yasara menghasilkan energi lebih negatif jika dibandingkan dengan nilai ΔG_{ikatan} hasil docking dengan Autodock. Energi interaksi hasil optimasi menghasilkan perubahan energi yang sangat signifikan. Hasil minimasi energi bernilai negatif disebabkan metode

optimasi AMBER yang digunakan, dimana metode tersebut mengkondisikan suatu obat dalam pelarutnya, sehingga memiliki energi minimum yang stabil dan sedekat mungkin dengan struktur asli (Ramachandran, 2008; Krieger et al., 2002). Hasil energi optimasi molekul docking yang tertera pada tabel 4.2 menunjukkan senyawa flavonoid memiliki rentang nilai pada -42,3614 hingga -7,9221 Kcal/mol. Sebelum optimasi senyawa Catechin memiliki affinitas terbaik diantara 5 senyawa terbaik dengan nilai ΔG_{ikatan} terendah yaitu -9.81 Kcal/mol, sedangkan setelah optimasi didapatkan dua senyawa yang memiliki nilai energi mendekati ligan pembanding, yaitu senyawa Quercitrin memiliki energi terbaik dengan nilai terendah yaitu -42,3614 Kcal/mol dan 3'-4'-5'-Trihidroksiflavanonol dengan nilai energi -42,2591 Kcal/mol. Perubahan energi mengakibatkan sedikit perubahan posisi molekul, ikatan maupun residu asam amino yang berinteraksi. Hal ini menunjukkan bahwa energi hasil docking merupakan energi sistem yang belum mencapai energi struktur yang paling stabil.

Selanjutnya, berpotensi atau tidaknya senyawa terhadap molekul target dilihat berdasarkan pada kemiripan residu asam amino hasil interaksinya. Suatu senyawa yang memiliki energi binding terendah tidak menjamin senyawa tersebut berpotensi sebagai agonis reseptor PPAR γ . Senyawa Catechin dengan nilai energi terendah tidak dapat digunakan sebagai senyawa antidiabetes dikarenakan letak situs aktifnya yang jauh dari ligan alami, dengan hasil analisis residu asam amino yang berinteraksi jauh berbeda. Sedangkan senyawa Quercitrin dan senyawa 3'-4'-5'-Trihidroksi flavonol berpotensi sebagai antidiabetes dengan hasil analisis menunjukkan residu asam amino dan energi ikatan yang berinteraksi mendekati ligan pioglitazone.

4.7 Hasil Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas Senyawa Menggunakan Aplikasi Online pkCSM

Suatu molekul senyawa yang akan dijadikan sebagai kandidat obat harus mencapai targetnya dalam tubuh dengan konsentrasi yang cukup sehingga diharapkan akan terjadi peristiwa biologis yang efektif dan sesuai harapan. Prediksi *in silico* nilai parameter sifat farmakokinetika dan toksisitas dari senyawa buah pare golongan flavonoid dengan senyawa pembanding pioglitazone dilakukan dengan perangkat lunak pkCSM yang meliputi berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), donor ikatan hidrogen (HBD), akseptor ikatan hidrogen (HBA), *Polar Surface Area* (PSA) (Kesuma, dkk.,2018).

Tabel 4.5 Nilai Prediksi Sifat Farmakokinetika Menggunakan pkCSM Online

Nama Senyawa	BM (g/mol)	LogP	Torsi	HBA	HBD	PSA (Å ²)	Hukum Lipinski
Pioglitazone	356.477	3.1596	7	5	1	150.731	Iya
3'-4'-5'- Trihidroksiflavonol	286.239	2.2824	1	6	4	117.313	Iya
Apigenin-7-O-Glucoside	432.381	0.0499	4	10	6	174.313	Iya
Naringenin-7-O- Glucoside	867.495	10.436	16	10	0	337.540	Iya
Kaempferol	286.239	2.2824	1	6	4	117.313	Iya
Luteolin	286.239	2.2824	1	6	4	117.313	Iya
Luteolin-7-O-Glucoside	448.38	0	4	11	7	1.368	Tidak
Hesperidin	610.565	-1.1566	7	15	8	244.507	Tidak
Apigenin	270.24	2.5768	1	5	3	112.519	Iya
Biochanin A	284.267	2.8798	2	5	2	119.203	Iya
Gallocatechin Gallate	458.375	2.2332	3	11	8	184.742	Tidak
Epigallocatechin	458.375	2.2332	3	11	8	184.742	Tidak
Catechin	290.271	1.5461	1	6	5	119.662	Iya
Epicatechin	290.271	1.5461	1	6	5	119.662	Iya
Isoquercitrin	464.379	-0.5389	4	12	8	183.901	Tidak
Quercitrin	448.38	0.4887	3	11	7	179.107	Tidak
Quercetin	302.238	1.988	1	7	5	122.108	Iya

Keterangan :

BM : Berat molekul ≤ 500

Log P : Koefisien partisi ≤ 5

Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi

HBD : Jumlah atom OH dan NH ≤ 5

HBA : Jumlah atom O dan N ≤ 10

PSA : Polar Surface Activity

Lipinski (1971) dari data Word Drugs Index telah menganalisis sebanyak 2.245 obat. Dari analisis yang telah dilakukan disimpulkan bahwa suatu senyawa

akan sulit untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang rendah. Analisis tersebut dikenal dengan hukum lima Lipinski, dikarenakan semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima (Kesuma, dkk., 2018). Aturan Lipinski menyatakan bahwa untuk menemukan dan mengembangkan kandidat obat oral, harus memenuhi lima kondisi yang disebut “*Rule of Five*”, yaitu jika memiliki berat molekul lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih kecil dari + 5; nilai Hydrogen Bond Donor (HBD) yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar dari 5 dan nilai Hydrogen Bond Acceptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar dari 10.

Molekul yang memiliki nilai Lipofilitas atau Log P yang baik merupakan suatu keuntungan dalam pengembangan obat karena sifat fisikokimia ini sangat penting dalam proses farmakokinetik. Lipofilitas merupakan kelarutan senyawa dalam lemak atau air. Semakin besar nilai log P maka tingkat hidrofobitas molekul semakin tinggi. Molekul yang terlalu bersifat hidrofobik akan memiliki tingkat toksisitas lebih tinggi hal ini karena molekul obat tersebut akan tinggal dilapisan lipid bilayer lebih lama dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh. Sedangkan nilai log P yang terlalu negatif tidak baik dikarenakan molekulnya tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Syahputra et al., 2014). Adapun Berat molekul berkaitan dengan proses distribusi obat didalam tubuh. Obat dengan berat molekul lebih dari 500 Dalton berarti memiliki ukuran yang relatif besar sehingga berpengaruh terhadap lamanya absorpsi obat didalam tubuh. Sedangkan nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen berkaitan dengan aktivitas biologis dari suatu molekul obat. Ikatan hidrogen dapat berpengaruh pada kimia fisika, seperti titik lebur, keasaman, kelarutan dalam air, titik didih serta kemampuannya dalam pembentukan kelat.

Adapun nilai *Topological Polar Surface Area* (TPSA) merupakan luas semua permukaan atom polar dari senyawa obat. Nilai *Polar Surface Area* (PSA) dapat digunakan untuk optimasi kemampuan obat dalam menembus membran sel (Ruswanto, 2015; Astuty et al., 2022).

Berdasarkan tabel 4.5 Hasil analisis sifat fisikokimia terhadap 16 senyawa turunan flavonoid dan senyawa pembanding pioglitazone dengan mengacu pada aturan Lipinski Rule of Five pada program pkCSM didapatkan 6 senyawa turunan flavonoid tidak memenuhi aturan, yaitu senyawa Hesperidin, Gallicocatechin Gallate, Epigallocatechin, Isoquercitrin, Quercitrin dan Luteolin-7-O-glycoside. Sedangkan 10 senyawa turunan flavonoid lainnya, yaitu 3'-4'-5'-Trihydroksiflavonol, Apigenin-7-O-Glucoside, Luteolin, Kaempferol, Naringenin-7-O-Glucoside, Apigenin, Biochanin A, Catechin, Epicatechin, dan Quercetin memenuhi standar aturan *Lipinski Rule of Five* yang menunjukkan 10 senyawa tersebut dapat berdifusi pasif ke dalam sel serta memiliki absorpsi yang baik serta permeabilitas yang tinggi untuk dapat di konsumsi secara oral. Permeabilitas yang tinggi berpengaruh pada proses ekskresi, makin tinggi permeabilitas suatu zat, maka akan lebih mudah diekskresikan. Adapun permeabilitas dipengaruhi oleh sifat fisikokimia suatu zat (Benet et al., 2016). Lipinski (2004) menyatakan apabila suatu senyawa tidak memenuhi hukum lima Lipinski maka kemungkinan besar terdapat absorpsi terkait obat secara oral. Akan tetapi, suatu senyawa yang memenuhi hukum lima Lipinski tidak menjamin memiliki aktivitas yang baik karena hukum ini tidak berkaitan dengan struktur kimia tertentu yang terdapat pada suatu senyawa.

Selanjutnya adalah uji toksisitas senyawa dengan menggunakan program yang sama yaitu pkCSM yang meliputi pengujian *Ames Toxicity*, *Hepatotoxicity*,

Skin sensitization dan *Oral Rat Acute Toxicity* (LD₅₀). Uji toksisitas merupakan uji yang digunakan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian dalam dosis tertentu. Prinsip uji toksisitas yaitu komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dengan dosis yang tinggi dan menjadi obat jika diberikan dalam jumlah yang rendah.

Tabel 4.6 Hasil Prediksi Toksisitas

Nama senyawa	Ames Toxicity	Hepato-Toxicity	Skin sensitization	Oral Rat Acute Toxicity (LD ₅₀) mol/kg
Pioglitazone	Tidak	Iya	Tidak	2.258
3'-4'-5'-Trihidroksiflavonol	Tidak	Tidak	Tidak	2.458
Apigenin-7-O-Glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	2.595
Naringenin-7-O-Glucoside	Tidak	Tidak	Tidak	3.393
Kaempferol	Tidak	Tidak	Tidak	2.455
Luteolin	Tidak	Tidak	Tidak	2.455
Luteolin-7-O-Glucoside	Iya	Tidak	Tidak	2.482
Hesperidin	Tidak	Tidak	Tidak	2.506
Apigenin	Tidak	Tidak	Tidak	2.45
Biochanin A	Tidak	Tidak	Tidak	1.851
Gallocatechin Gallate	Tidak	Tidak	Tidak	2.522
Epigallocatechin	Tidak	Tidak	Tidak	2.522
Catechin	Tidak	Tidak	Tidak	2.428
Epicatechin	Tidak	Tidak	Tidak	2.428
Isoquercitrin	Tidak	Tidak	Tidak	2.541
Quercitrin	Tidak	Tidak	Tidak	2.586
Quercetin	Tidak	Tidak	Tidak	2.471

Uji *Ames Toxicity* merupakan metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan dapat bertindak sebagai karsinogen. Pada tabel 4.6 dapat dilihat bahwa senyawa turunan flavonoid Luteolin-7-O-Glycoside positif uji toksisitas ames yang diprediksi dapat menimbulkan efek mutagenik dan bertindak sebagai karsinogen. Selain itu, dari tabel 4.6 dapat dilihat juga bahwa semua turunan senyawa flavonoid dan senyawa pembanding diprediksi tidak menimbulkan sensitisasi pada kulit. Adapun hasil pengujian terakhir menunjukkan bahwa semua senyawa turunan flavonoid bereaksi

inactive terhadap uji *hepatotoxicity*, sedangkan senyawa pembanding memberikan reaksi *active* terhadap uji *hepatotoxicity* yang diprediksi dapat menimbulkan efek hepatotoksik pada hati. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Razavizade et al., (2013) yang menyatakan adanya penghentian pengobatan dengan pioglitazone karena adanya efek hepatotoksisitas pada hati setelah penggunaan obat pioglitazone. Selaras dengan hal tersebut, maka penelitian ini dirasa perlu untuk dilakukan.

Pengujian untuk toksisitas *Oral Rat Acute* (LD₅₀) dari 16 senyawa uji turunan flavonoid dan senyawa pembanding dilakukan uji *in silico* dan klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan Globally Harmonized System (GHS) dengan menggunakan PkCSM online tool. LD₅₀ adalah jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba. Dari tabel 4.4 dapat diketahui bahwa semua senyawa turunan flavonoid diprediksi mempunyai nilai LD₅₀ berkisar antara 1.851 sampai 2.595 mol/kg, dan termasuk toksisitas kelas 4 yang berarti senyawa mempunyai efek toksisitas akut yang rendah. Menurut tabulasi kelas toksisitas dari Hodge dan Sterner (1949) pada dosis tersebut termasuk kelas toksisitas 4, yang berarti toksisitasnya relatif rendah (Kesuma et al., 2018).

4.8 Prediksi Aktivitas Antidiabetes dengan PASS Online (*Prediction of activity Spectra for Substances*)

Senyawa bioaktif flavonoid buah pare yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes diprediksi berdasarkan struktur kimianya secara *in silico* menggunakan software PASS Online. Tahap awal prediksi melalui SMILES pada Pubchem untuk mencari senyawa aktif flavonoid. Selanjutnya ligan SMILES dimasukkan dalam PASS Online dan dilakukan prediksi aktivitas (*Get Prediction*). Analisis PASS

Online berdasarkan pada SAR (*Structure Activity Relationship*) atau hubungan antara struktur senyawa ligan tersebut dengan aktivitas biologisnya (Kusumawati et al, 2021; Filimonov et al, 2014).

Hasil uji PASS (*Prediction of Activity spectra for Substance*) ditunjukkan dengan nilai Pa (*Probable Activity*) dan Pi (*Probable inactivity*). Interpretasi nilai Pa menunjukkan estimasi kemungkinan suatu senyawa untuk aktif melakukan aktifitas biologis dalam eksperimen laboratorium, sedangkan nilai Pi merupakan kebalikannya. Suatu senyawa yang memiliki nilai Pa lebih besar dari Pi ($Pa > Pi$), diperkirakan senyawa tersebut berpotensi memiliki aktivitas biologis yang diharapkan (Ivanov et al., 2018). Nilai Pa ($Pa > 0,7$) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas biologis yang sangat tinggi berdasarkan uji pada skala laboratorium dan memiliki tingkat kemiripan yang tinggi dengan senyawa obat pada bioaktivitas yang sama. Nilai Pa ($0,5 < Pa < 0,7$) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas biologis yang tinggi dalam skala laboratorium dan memiliki potensi untuk pengembangan senyawa obat yang baru dengan bioaktivitas yang bersangkutan. Sedangkan nilai Pa ($Pa < 0,5$) menunjukkan bahwa senyawa memiliki aktivitas biologis yang rendah dalam uji skala laboratorium dan memiliki potensi rendah apabila dikembangkan menjadi senyawa obat (Chelliah, 2008; Kusumawati et al., 2021). Hasil uji PASS ligan senyawa flavonoid buah pare dengan parameter nilai Pa dan Pi tersedia pada lampiran 5.

Berdasarkan proses skrining menggunakan PASS online, pioglitazone memiliki aktivitas biologis sebagai antidiabetes yang cukup tinggi dalam skala laboratorium dengan nilai Pa 0,976 ($Pa > 0,7$) dan Pi 0,003. Nilai uji PASS $Pa > 0,7$, berarti senyawa tersebut sangat aktif secara biologis dan hasilnya tidak berbeda

nyata dengan uji pada skala laboratorium (Yasmin et al, 2022). Adapun senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antidiabetes tinggi berdasarkan nilai Pa adalah Apigenin-7-O-glucoside dengan nilai Pa 0.681, Luteolin-7-O-glucoside dengan nilai Pa 0.669 dan Isoquercitrin dengan nilai Pa 0.661. Rentang nilai Pa pada $0.5 < Pa < 0.7$ menyatakan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas yang cukup tinggi pada penelitian berbasis lab baik in vitro maupun in vivo dan sekaligus berpotensi dalam pengembangan senyawa obat baru dengan bioaktivitas yang sama (Sahraeni et al., 2021). Senyawa flavonoid yang lain memiliki aktivitas yang sangat rendah yaitu pada rentang $Pa < 0.5$ (Lampiran 5). Senyawa yang masih terbukti rendah pada skala laboratorium tidak menyatakan senyawa tersebut memiliki aktivitas yang rendah. Akan tetapi, senyawa-senyawa tersebut belum banyak diteliti dalam skala laboratorium sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut.

4.9 Molekular Docking Senyawa Flavonoid dalam Perspektif Islam

Islam merupakan agama yang indah yang diturunkan sebagai petunjuk serta penuntun kehidupan manusia dalam mengembangkan akal pikirannya sesuai dengan yang diperkenankan oleh Allah SWT. guna memberi manfaat bagi diri sendiri dan alam sekitarnya. Manusia diciptakan oleh Allah SWT di bumi ini dengan keistimewaan berupa akal. Dengan akal yang dimiliki manusia dapat berfikir, sehingga manusia dapat mengolah dan mengembangkan segala sesuatu baik yang ada pada dirinya maupun alam sekitarnya. Allah SWT menciptakan bumi dan langit beserta isinya dengan berbagai manfaat yang didalamnya terdapat suatu tanda-tanda kebesaran-Nya. Kekuasaan Allah SWT begitu besar bagi makhluk hidup di bumi sebagai tanda adanya sang Maha Pencipta. Namun Allah SWT membatasi tanda-tanda kebesaran-Nya dan hanya dapat diketahui bagi orang-orang yang memikirkan

dan mengkajinya melalui akal pikiran yang dimilikinya. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Q.S asy-Syu'ara (26) ayat 7-8.

كَرِيمٍ كَرِ زَوْجٍ كُلِّ مَنْ فِيهَا أَنْبَتْنَا كَمْ الْأَرْضِ إِلَى يَرَوْا أَوْلَمْ ُ
 مُؤْمِنِينَ أَكْثَرُهُمْ كَانَ وَمَا لَأَيَّةٍ ذَلِكُ فِي إِنَّ

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat suatu tanda kekuasaan Allah. Dan kebanyakan mereka tidak beriman”

Manusia diciptakan oleh Allah SWT pada dasarnya memiliki dua peranan utama, yaitu sebagai ‘abdullah dan sebagai khalifatullah fi al-ard. Artinya selain sebagai hamba Allah manusia juga ditugaskan sebagai khalifah di muka bumi untuk menjaga dan membangun bumi sesuai dengan ketetapan Allah SWT dengan kelebihan akal pikiran yang dimilikinya. Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah SWT telah menciptakan langit dan bumi secara sempurna yang didalamnya terdapat tanda-tanda kekuasaan-Nya.

Pada awal ayat *أَلَمْ يَرَوْا أَوْلَمْ ُ* yang memiliki arti ‘apakah mereka tidak memperhatikan bumi’ merupakan seruan bagi manusia sebagai khalifah untuk senantiasa memperhatikan, merenungkan, mencari tahu serta mengambil kesimpulan terhadap tanda-tanda kekuasaan Allah SWT yang ada di bumi seperti tumbuh-tumbuhan yang memiliki banyak manfaat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Menurut (Shihab, 2002) dalam *Tafsir al-Misbah*, lafadz *كَرِيمٍ كَرِ زَوْجٍ* diartikan sebagai tubuhan yang subur dan kaya akan manfaat. Selain itu tumbuh-tumbuhan yang diciptakan oleh Allah SWT pasti terdapat kemuliaan didalamnya dan berasal dari kemuliaan Allah SWT itu sendiri. Manusia diperintahkan untuk memperhatikan serta mengkaji ciptakan Allah SWT agar dapat mengetahui manfaat

yang ada di alam dengan melakukan penelitian sehingga tercipta ilmu pengetahuan baru yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Adapun salah satu manfaat tumbuhan yang terus dikembangkan adalah potensinya sebagai bahan obat.

Pengobatan menggunakan bahan alam atau tanaman yang berpotensi sebagai obat telah lama di contohkan oleh Nabi Muhammad SAW saat mengobati penyakit yang diderita, serta beliau juga menyerukan kepada para keluarga dan sahabatnya untuk melakukannya, sebagaimana haditsnya dalam Shahih Al-Bukhari bahwa Aisyah R.A meriwayatkan dari Rasulullah SAW:

مِنْ شِفَاءِ الْحَبَّةِ السَّوْدَاءِ هَذِهِ إِنَّ يَقُولُ وَسَلَّمَ عَلَيْهِ اللَّهُ صَلَّى النَّبِيُّ سَمِعَتْ أَنَّهَا عَائِشَةَ عَنْ
الْمَوْتِ: قَالَ السَّامُ؟ وَمَا قُلْتُ: السَّامُ مِنَ الْإِدَاءِ كُلِّ

Artinya: Diriwayatkan dari Aisyah bahwa dia mendengar Nabi saw bersabda: “Sesungguhnya al-Habbah as-Sauda’ ini adalah kesembuhan (obat) dari setiap penyakit kecuali dari as-Sam”. Kataku (Aisyah): Apa itu as-Sam? Jawab Nabi saw: “Kematian” (H.R. Al-Bukhari).

Berdasarkan riwayat tersebut Nabi SAW senantiasa menekankan pentingnya menjaga kesehatan dan mengobati penyakit dengan obat-obatan yang aman, halal dan baik kepada para sahabat dan kaum muslimin pada umumnya. Rasulullah mencontohkan pengobatan dengan tanaman yang baik lagi halal yaitu jintan hitam. Pemanfaatan tanaman dalam pengobatan tentunya diperbolehkan selama tidak ada tambahan bahan yang zatnya bersifat haram. Hal tersebut sesuai dengan tuntunan yang diberikan oleh Nabi Muhammad SAW dalam haditsnya yang dijadikan pedoman serta tuntunan untuk menentukan kriteria kehalalan dan keharaman segala sesuatu. ‘Dari Salman, ia berkata Rasulullah SAW ditanya tentang hukum mentega, keju dan bulu binatang. Beliau menjawab: “Halal adalah sesuatu yang dihalalkan Allah SWT didalam kitab- Nya, haram adalah sesuatu yang diharamkan Allah

dalam kitab-Nya dan sesuatu yang Allah diamkan (tidak ditetapkan hukumnya termasuk yang diampuni” (H.R At-Tirmizi, hal.280).

Hasil dari berbagai pengamatan dan pemikiran ialah pengetahuan. Di dalam Al-Qur’an banyak sekali ayat-ayat yang menyinggung ilmu pengetahuan dan ilmuan, yang senantiasa mengarahkan manusia untuk memaksimalkan fungsi akal pikiran yang dimiliki untuk meningkatkan ilmu pengetahuan. Hal tersebut berkaitan jelas dalam upaya mengajari manusia memahami dan mengenal kekuasaan dan keagungan Allah SWT. Terdapat banyak ayat-ayat Al-Qur’an yang membahas fenomena-fenomena alam, khususnya tumbuhan. Pembahasan-pembahasan tersebut telah menyentuh bidang disiplin ilmu sains. Hal ini menjadi bukti relevansi antara sains dengan islam. Al-Qur’an menyampaikan beragam jenis tanaman yang dapat digunakan oleh manusia dan berkhasiat untuk kesehatan. Penggunaan tanaman obat termasuk sarana manusia untuk mempelajari dan memikirkan kekuasaan Allah SWT. Selaras dengan hal tersebut, maka dilakukan penelitian pada senyawa aktif metabolit sekunder dari tanaman pare.

Pare merupakan salah satu jenis tanaman yang sudah tidak asing lagi dikonsumsi oleh masyarakat, namun kurang disukai karena rasanya yang pahit. Namun dibalik rasa yang pahit tumbuhan pare memiliki segudang manfaat bagi kehidupan manusia. Rasa pahit pada buah pare disebabkan oleh adanya kandungan fungsional yang dimilikinya. Salah satu kandungan fungsional buah pare yang dikaji pada penelitian ini adalah senyawa flavonoid. Rasa pahit ini secara umum memiliki perspektif hipoglikemik dengan cara kerja yang berbeda, yaitu memperbaiki sel yang rusak, meningkatkan kadar insulin dan sensitivitasnya menghambat penerapan glukosa dan menekan aktivitas disakarida (Tsai, CH et al.,

2012). Pada penelitian ini senyawa metabolit sekunder flavonoid dari tumbuhan pare diteliti karena diduga memiliki aktivitas biologis yang sesuai untuk dikaji sebagai obat antidiabetes dengan menggunakan metode *molekular docking*. Sebagaimana firman Allah SWT yang menunjukkan gambaran perumpamaan metode penambatan molekul atau molekular docking yang digunakan pada penelitian ini yaitu dalam Q.S Yasin (36) ayat 36:

يَعْلَمُونَ لَا وَمِمَّا أَنْفُسِهِمْ وَمِنْ الْأَرْضِ تُنْبِتُ مِمَّا كَلَّمَهَا الْأَزْوَاجَ خَلَقَ الَّذِي سُبْحَانَ

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

Berdasarkan ayat tersebut lafadz *كَلَّمَهَا الْأَزْوَاجَ* memiliki makna Allah SWT menciptakn makhluk secara berpasang- pasangan, dimana selaras dengan penelitian ini menggambarkan proses docking ligan uji untuk mencari posisi atau letak yang sesuai dengan situs aktif dari sebuah makromolekul protein sehingga membentuk pasangan interaksi ligan-reseptor (makromolekul protein). Kemudian pada lafadz *مِمَّا كَلَّمَهَا الْأَرْضُ تُنْبِتُ* memiliki arti ‘dari apa yang ditumbuhkan di bumi sebagaimana Allah SWT telah menumbuhkan dari bumi beranekaragam jenis tumbuhan dengan manfaat yang luar biasa. Selaras dengan hal tersebut, penelitian ini mengkaji senyawa aktif flavonoid dari buah pare yang diprediksi memiliki aktivitas biologis sebagai antidiabetes. Selanjutnya pada lafadz *يَعْلَمُونَ لَا وَمِمَّا أَنْفُسِهِمْ* memiliki arti ‘dari diri mereka sendiri maupun dari apa yang mereka tidak ketahui’ yang dalam penelitian ini menggambarkan pemilihan makromolekul protein PPAR γ yang terletak di dalam tubuh dengan proses kerja yang tidak dapat diketahui secara langsung oleh manusia. Ayat tersebut menerangkan kepada kita bahwa sesungguhnya Allah SWT maha kuasa atas segala yang diciptakan, bahkan hingga mengatur proses yang sangat kompleks didalam tubuh manusia.

Hikmah yang terkandung dalam penelitian ini adalah Allah SWT menciptakan tumbuhan dengan berbagai manfaat untuk kehidupan manusia, salah satunya dimanfaatkan sebagai obat untuk penyembuhan. Manusia yang dianugerahkan akal fikiran sesuai dengan Al-Qur'an diserukan untuk memaksimalkannya dengan memikirkan serta mengkaji hal tersebut sebagai ilmu pengetahuan baru agar bermanfaat bagi dirinya dan alam sekitarnya. Dalam mengkaji dan mempelajari ilmu tersebut, manusia memerlukan teknologi pendukung dalam membantu keterbatasan akal fikiran yang dimilikinya, sehingga diharapkan mendapatkan hasil yang lebih maksimal, karena sejatinya manusia dibekali akal untuk dapat mengolah alam dengan bantuan perkembangan teknologi yang berarti manusia menyadari bahwa adanya hubungan harmony yang terbentuk antara manusia, agama serta sains dan teknologi dalam satu kesatuan. Hal tersebut menjadi tanda bahwa Allah SWT menguasai segala sesuatu sesuai kehendaknya sehingga harus memelihara buah pare untuk menjaga keseimbangan alam.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan:

1. Hasil *molekular docking* 16 senyawa flavonoid menghasilkan dua senyawa yang lebih berpotensi menghambat protein target PPAR γ , yaitu Quercitrin dan 3'-4'-5'-Trihidroksil flavonol. Senyawa Quercitrin dengan nilai ΔG_{ikatan} -8,66 Kcal/mol sebelum optimasi dan -42,3614 Kcal/mol setelah optimasi dengan interaksi ikatan hidrogen asam amino Ser⁸³ yang sama dengan pioglitazone. Senyawa 3'-4'-5'-Trihidroksil flavonol dengan nilai ΔG_{ikatan} -8,49 Kcal/mol dan -42,2591 Kcal/mol setelah optimasi dengan interaksi ikatan hidrogen asam amino Tyr²⁶⁷ dan Ser⁸³ sebelum optimasi dan Tyr²⁶⁷ setelah optimasi.
2. Hasil Prediksi Farmakokinetika dan Toksisitas dengan pkCSM menunjukkan bahwa tidak semua senyawa flavonoid yang diuji memenuhi aturan Lipinski. Senyawa 3'-4'-5'-Trihidroksil flavonol memenuhi hukum Lipinski sedangkan senyawa Quercitrin tidak memenuhi. Senyawa yang tidak memenuhi dapat disediakan secara injeksi tidak secara oral. Pada uji toksisitas senyawa Luteolin-7-O-glycoside positif uji toksisitas ames serta senyawa Pioglitazone menunjukkan hasil positif uji hepatotoksik. Adapun hasil prediksi aktivitas biologi dengan PASSonline menunjukkan semua senyawa flavonoid memiliki aktivitas antidiabetes kecuali senyawa Naringenin-7-O-glycoside.

5.2 Saran

1. Dapat dilakukan penelitian pada buah pare dengan senyawa selain flavonoid pada reseptor target dan obat pembanding yang sama, yaitu PPAR γ dan pioglitazone untuk mendapatkan kandidat antidiabetes.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut di laboratorium yaitu uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa tersebut, mengingat penelitian ini hanya memprediksi aktivitas secara komputasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, M., et al., 2021. Biochemical Stress Markers, Antioxidants and Infections Wound-Healing Potential of UV Irradiation and Salt Stress Effects on the Pre-Treated Seed of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.). *Dose-Response: An International Journal*, 2021: 1-11
- Afifah, U. N. (2017). Uji Aktivitas Antidiabetes Estrak Etanol 96% Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Tikus Jantan Galur Wistar yang diinduksi Aloskan. Karya ilmiah, Program studi Farmasi.
- Ahmadian, M., et al., 2013. PPAR γ Signaling and Metabolism: The Good, The Bad and The Future. *Nature Medicine* Vol.19, No. 5.
- Abdi Redha. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Perannya Dalam Sitem Biologis. Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Pontianak. *Jurnal Belian* Vol.9, No.2 :196-202
- Anna Leonardini, et al., 2009. Review Article; Cross-Talk Between PPAR γ and Insulin Signaling and Modulation of Insulin Sensitivity. *PPAR Research*. Hindawi Publishing Corporation.
- Astuty et al. 2022. *Kajian Molekular Docking Senyawa Karwinaphthol B dari Tanaman Bawang Dayak (Eletherine palmifolia (L.) Merr) sebagai Inhibitor Enzim Glukokinase*. *Jurnal Natural Scientiae (JNS)*. Vol.2 No. 1 Hal.01-09.
- Aswad, M., et al., 2020. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Bioaktif Dari Kuliak Akar Murbei (*morus* sp.) Terhadap Reseptor TNF- α . *Majalah Farmasi dan Farmakologi*.
- Atmajani, W., Buyung Kurniawan, A., Hapsari, R., Santoso, B., 2019. *Kajian In Silico Agonis PPAR Gamma-Receptor Protein (5Y2O) Sebagai Antihiperlikemia Menggunakan DOCK6 In Silico Study Of Agonists Of PPAR Gamma-Receptor Protein (5Y2O) As Antihyperglycemia Using Dock6*. Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta Jl Achmad Yani -Tromol Pos, F. I. (n.d.).
- Atlas IDF X tahun 2021. Diunduh dari : <https://diabetesatlas.org/idfawp/resource-files/2021/11/IDFDA10-global-fact-sheet.pdf>. Diunduh tanggal 5 Mei 2023.
- Biasini M, Bienert S, Waterhouse A, Arnold K, Stunder G, Sxhmidt T, Kiefer F, Cassarino TG, Bertoni M, Bordoli L, Schwede T (2014). "SWISSMODEL. Modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information". *Nucleic Acids Research*.42 (W1): 195-201.
- Blaschke, F., Takata, Y., Caglayan, E., Law, R. E. & Hsueh, W..A.. 2006. Obesity, Peroxisome Poliverator-Activated Receptor, and Atherosclerosis in Type 2 Diabetes. *Arteriosclerosis, Thurombosis, and Vascular Biology*. 26 (1): 28-40.
- Burley, S. K dkk (2018). RCSB Protein Data Bank: Sustaining A Living Digital Data Resource That Enables Breakthroughs In Scientific Research And Biomedical Education. *Protein Science*, 27(1), 316–330.

- C.-M. Hao, R. Redha, J. Morrow, dan MD Breyer, "Aktivasi reseptor yang diaktifkan oleh isom perox isome mendorong kelangsungan hidup sel setelah stres hipertonic," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, tidak. 24, hlm. 21341–21345, 2002.[DrugBank]
- Chaundhary, K K, Mishra, N. (2016). A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. *JSM Chem*, 4 (3), 1029
- Chelliah, D. A, (2008), Biological Activity Prediction of An Ethno Medicinal Plant *Cinnamomum Camphora* Through Bio-Informatics, *Ethnobotanical Leaflets*, pp. 181–190.
- Chen,X, et al. 2020. Analysis of the Physicochemical Properties of Acaricides Based on Lipinski's Rule of Five. *Journal of Computational Biology* 27(9) pp.1397-1406.
- Cole, J. D., Nissink, J. W., and Taylor, O. 2005. Protein-Ligan Docking and Virtual Screening With GOLD. In J. Alvarez, & B. Shoichet, *Virtual Screening in Drug Discovery* p.398). Boca Raton CRC Press.
- Dewanti A. 2017. Pengaruh Pemberian Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Dalam Bentuk Fruit Pulp Terhadap Parameter Farmakokinetika Obat Diabetes Pioglitazone. Tugas Akhir Fakultas farmasi, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Drie, J. H. (2005). Pharmacophore-Based Virtual Screening: A Partical Perspective. In J. Alvarez, & B. Shoichet, *Virtual Screening in Drug Discovery* (p.169). Boca Raton: CRC Press
- Erlita, V. M. dan Achmad Wildan, 2014. Ekstraksi Flavonoid Dari daun Pare (*Momordica Charantia* L.) Berbantu Gelombang Mikro Sebagai Penurun Kadar Glukosa Secara In Vitro. *Metana*, Vol. 10, No. 01, Hal. 1-11.
- Fakhri, Jamal. 2010. *Sains dan Teknologi dalam Al-Qur'an dan Implikasinya dalam Pembelajaran*. Jurnal TA'DIB. Vol. XV No. 01. Edisi, Juni 2010.
- Farhan Saeed, Muhammad Afzaal, Bushra Niaz, Muhammad Umair Arshad, Tabussam Tufail, Muhammad Bilal Hussain & Ahsan Javed (2018) Bitter melon (*Momordica charantia*): a natural healthy vegetable, *International Journal of Food Properties*, 21:1, 127
- Ferre P. *The biology of peroxisome proliferator-activated receptor*. *Diabetes* 2004;53: S43-50.
- FDA Approved Drug Products: Actos (pioglitazone) oral tablets <https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfada/docs/label/2017/021073s0491bl.pdf> diakses pada 21 Oktober.
- Fikry, M.A., 2014. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Flavonoid dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Pada Peroxisome Proliferator-Activated Receptor – Gamma (PPAR- γ). Tugas Akhir Program Studi farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Filimonov, D.A., Lagunin, T. A., Glorizova, A. V., Rudik, D.S., Druzhilovskii, P.V., Poroikov. (2014). *Prediction of The Biological Activity Spectra of Organic Compounds Using the Pass Online Web Resource*. Russian Original. Vol. 50.No.3.

- Funkhouser T. 2007. *Lecture: Protein – Ligan Docking Methods. Princeton University*
- Harir F., 2022. *Docking Senyawa Heparin 2S dan 2SNS 2-12 Sakarida Konformasi IDS 4 C1 Pada Kompleks Protein FGF2-FGFR1 Sebagai Antikanker Menggunakan AutoDock. Skripsi Program Studi Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.*
- Hayat, S., Iqbal M. dan Siti A. 2009. Kajian Efek Hipoglikemia Fraksi dan Komponen aktif Buah Paria (*Momordica Charantia* Linn) Serta Penentuan Kadar Komponen Aktif Menggunakan Metode Kromatografi (HPLC)
- Keller AC, Ma J, Kavalier A, He K, Brillantes AM, Kennelly EJ. *Saponins from the traditional medicinal plant Momordica charantia stimulate insulin secretion in vitro.* *Fitomedika* 2011; 19: 32-37. National Center for Biotechnology Information. 2022. PubChem Compound 2022
- Keech, RJ Simes, P. Barter, et al., "Pengaruh terapi fenofibrate jangka panjang pada kejadian kardiovaskular pada 9795 orang dengan diabetes mellitus tipe 2 (studi FIELD): uji coba terkontrol secara acak," *The Lancet*, jilid. 366, tidak. 9500, hlm. 1849– 1861, 2005.
- Krieger, dkk., 2002. *Increasing the Precision of Comparative Models with YASARA NOVA -a Self-Parameterizing Force Field.* *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics* Vol.47 No. 393-402.
- Kesuma, D., dkk. 2018. Uji In Silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N' – Feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research.* Vol 01 No.01-11.
- Kusumawati R.D., Yuniastuti A, R. Susanti, Nugrahaningsih W. H. 2021. *Studi In Silico Potensi Senyawa Bioaktif Pada Kapulaga Jawa (Amomum compactum) Sebagai Antiinflamasi.* Prosding Semnas Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney FJ (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 23: 3-2
- Mahwish; Saeed, F.; Sultan, M.T.; Riaz, A.; Ahmed, S.; Bigiu, N.; Amarowicz, R.; Manea, R. *Bitter Melon (Momordica charantia L.) Fruit Bioactives Charantin and Vicine Potential for Diabetes Prophylaxis and Treatment.* *Plants* 2021, 10, 730. <https://doi.org/10.3390/plants10040730>
- Masdianto A. F., Reza, H., Dini, S., 2019. Studi In Silico Potensi Senyawa Aktif Ekstrak Daun *Annona Muricata* Linn Agen Hipoglikemia Melalui Aktivasi Peroxisome Proliferator Receptor γ (PPAR γ) dan Glikogen Sintase. *Faculty of Medicine, University of Islam Malang.*
- Mishra, S., Sharma, R., Gogna, N., & Dorai, K. (n.d.). 2011. *Supplementary Material NMR-Based Metabolomic Profiling Of The Differential Concentration Of Phytomedicinal Compounds In Pericarp, Skin And*

- Seeds Of Momordica Charantia (Bitter Melon)*. African Journal of Biotechnology. Vol 17 No.26.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock Version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors. La Jolla, California, U.S.A: The Scripps Research Institute
- Mozaniel, S. de O., Wanessa, A. da C., Fernanda, W. F. B., Marilena, E. A., Gracialda, C. F., & Raul, N. de C. J. (2018). Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae): A review. *African Journal of Biotechnology*, 17(27), 829–846. <https://doi.org/10.5897/ajb2017.16374>
- Muttaqin, F. Z., Muhammad, F. P, dan Fransiskan, K. 2019. *Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (SIRT3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction*. Journal of Pharmacopolium 2 (2).
- Naufa F. et al. 2022. *Studi in Silico Senyawa Katekin Teh Hijau (Camellia sinensis) sebagai Antivirus SARS CoV-2 terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) dan Main Protease (5R7Y)*. Journal of Food and Pharmaceutical Sciences. Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Noviardi, H & Fachrurrazie. 2015. *Potensi Senyawa Bullatalisin Sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase Pada Kanker Kolon Secara In Silico*. Journal Fitofarmaka, Vol.5, No.2, Desember 2015
- Panche, A. N., A. D. Diwan and S. R. Chandra. 2016. Review Article: Flavonoids an Overview. *Journal of Nutritional Science*. Vol. 5, e47, page 1 of 15
- Purwanto, D. N., et al. 2021. Docking Molekular Fenolik Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Sebagai Potensi Anti Inflamasi dengan Autodock-Vina. *Jurnal Farmasindo*. Vol.5, No.2
- Puspitasari, V., & Nisrina, C. (2021). Kajian Sistematis: Efek Anti Diabetes Buah Pare (*Momordica charantia* Linn.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Yang Diinduksi Aloskan. *Journal of research in Pharmacy*, Vol 1 (2):18-27
- Puspaningty, Ayik R., 2013. Docking Molekul Dengan Metoda Molegro Virtual Docker Dari Ekstrak Air Psidium guajava, Linn Dan Citrus sinensis Sebagai Inhibitor Pada Tirosinase Untuk Pemutih Kulit. *JKTI*, Vol. 15, No. 1, Juni 2013 : 31-39
- Prasetyo, Andri, dkk., 2019. Docking Molekular dari *Trigonella foenum-graceum* sebagai Antidiabetes menggunakan Molegro Virtual Docking. *Jurnal Jamu Indonesia* 4 (2): 74-80
- Pratiwi. 2018. Faktor- Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Kejadian Diabetes Melitus Pada Wanita Usia Subur Di RSUD Dr.Djoelham Binjai Tahun 2017. Tesis. Master In Public Health Science Study Program Faculty Of Public Health University Of Sumatera Utara. Medan. Diakses pada tanggal 02 Mei 2021.

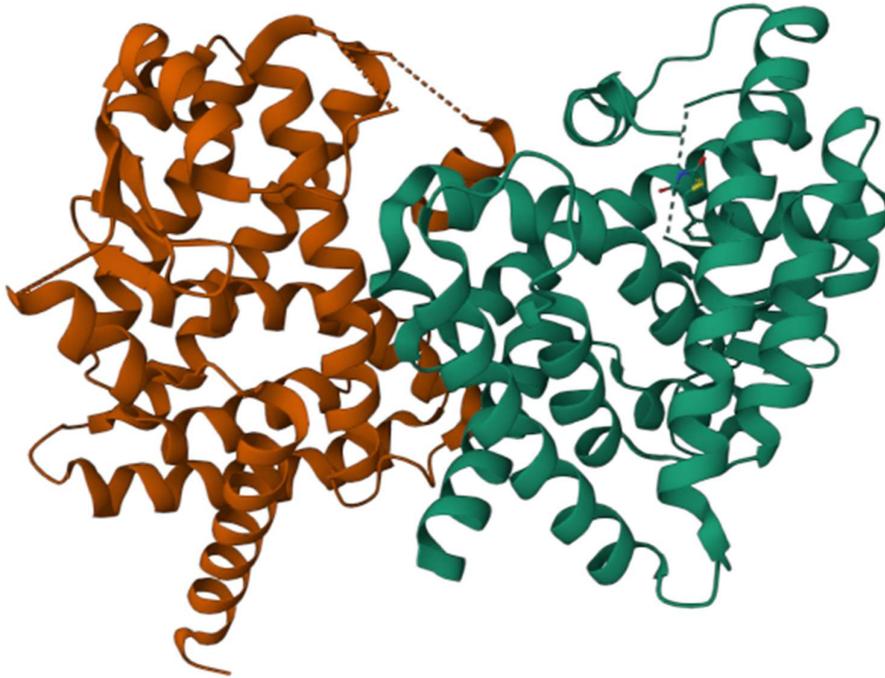
- PERKENI. 2011. Konsensus Pengelolaan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia, Jakarta: Tidak diterbitkan
- Razavizade M. et al. 2013. *The Effect of Pioglitazone and Metformin on Liver Function Tests, Insulin Resistance, and Liver Fat Content in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Double Blinded Clinical Trial*. International Monthly journal in The Field of Hepatology 13 (5): e9270.
- Rahma Rumata, N., Putri Arifin J., Biringkanaya, K., 2022. Studi Penambatan Senyawa Dari Tanaman Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* (Hemsley) A. Gray) Terhadap Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR γ) Untuk Penyakit Diabetes Melitus. In *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences* (Vol. 2022, Issue 2): 28-32. In <http://www.rscb.org>
- Ramachandran, K. I., Deepa, G., dan Namboori, K. 2008. *Computational Chemistry and Molecular Modeling*. Verlag Berlin Heidelberg.
- Rajalakshmi, D dan S. Narasimhan. (1985). *Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation dalam D.L. Madhavi: Food Antioxidant, Technological, Toxicological and Health Perspectives*. Marcel Dekker Inc., Hongkong: 76-77
- Rasyidi. 1999. *Rahmatan Lil'alamin*. Pustaka Al Kautsar. Jakarta Timur.
- Ruswanto, R. (2015). *Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (Inha)*. Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi, 13(1), 135–141.
- Razavizade M. et al. 2013. *The Effect of Pioglitazone and Metformin on Liver Function Tests, Insulin Resistance, and Liver Fat Content in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized Double Blinded Clinical Trial*. International Monthly journal in The Field of Hepatology 13 (5): e9270.
- Saeed, Farhan et al., 2018. Bitter Melon (*Momordica Charantia*): A Natural Healthy Vegetable. *International Journal of Food Properties*. Vol.21, No. 1, 1270-1290 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>. Nicholas Rego and David Koes 3Dmol.js: molecular visualization with WebGL *Bioinformatics*(2015)31(8):1322-1324 doi:10.1093/bioinformatics/btu829
- Sasmita, F. W., dkk. 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Titdiversifolia*) Terhadap Kadar Glukosa Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Alloxan. A Scintific Journal. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Singh, N.; Gupta, M. *Regeneration of beta cells in islets of Langerhans of pancreas of alloxan diabetic rats by acetone extract of Momordica charantia*
- Seeliger, D., and de Groot, B. L. 2010. *Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina*. Journal of computer-aided molecular design, 24(5), 417–422
- Sousa, S.F, Fernandes, P.A., Ramos, M.J. 2006. *Protein-ligand docking: current*

- status and future challenges*. Proteins. 65(1):15-26.
- Shodiqin, A., 2022. *Kontekstualisasi Fungsi Khalifah dalam Kehidupan Sosial*. Ilmu Syariah UIN Sunan Kalijaga. Di akses pada 27 Agustus 2023. <https://ilmusyariahdoktoral.uinsuka.ac.id/id/kolom/detail/586/kontekstualisasi-fungsi-khalifah-dalam-kehidupan-sosial>
- Shihab, M.Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Volume 10. Jakarta: Lentera Hati.
- Shuo, J., Mingyue S., Fan Z. and Jianhua X. 2017. Recent Advances in *Momordica charantia*: Funcional Components and Biological Activites. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 18, No. 12; 2555
- Sumit Mishraa, Ankit, Rakesh Sharma, Navdeep Gogna and Kavita Dorai. NMR-Based Metabolomic Profiling of The Differential Concentration Of Phytomedicinal Compounds In Pericarp, Skin And Seeds Of *Momordica Charantia* (Bitter Melon). *Supplementary Material, Department of Physical Sciences, Indian Institute of Science Education & Research (IISER) Mohali, Sector 81 SAS Nagar, Manauli PO 140306 Punjab India*.
- Siswandono, 2016. *Docking, Sintesis dan Uji Sitotoksitas Pada Lini Sel Kanker Payudara Manusia (T47D) dari N-(Allylcarbamothioyl) benzamide*. *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol 8 hal. 372-376.
- Suwaki,N., Masuyama, H., Masumoto, A., Takamoto,N., & Hiramatsu, Y. (2007). *Ekspression and Potential Role of Peroxisome Proliferator γ in the Placenta of Diabetic Pragency*. *Placenta*, 28 (4), 315-323, doi : 10.1016/j.placenta.2006.04
- Syahputra, G dkk., (2014). Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12- Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 10 (1): 55-67
- Trisnawati. (2013). Faktor Resiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II. Diperoleh. Tanggal 23 Juni 2018 dari Lib. Unses.ac.id.
- Trott O, Olson AJ. 2010. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry* 31 (2): 455-461.
- Tim Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI).2021. *Pedoman Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia (E-Book).i Penerbit PB. PERKENI*.
- Triana, Rina, et al. 2016. *PPAR-gamma Signaling in Metabolic Homoestasis*. *Indonesian Biomed Journal*, vol.8,no 3, 2016 pp.56-147
- Tyagi, et al., 2011. The Peroxisome Poliferator Activated Receptors: The Nuclear Reseptor Family Plays a Role In Various Diseases. *Journal Of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. Vol.2 No.4: 236-240
- Vlamos, P. 2022. *Molecular, Chemical, and Cellular Biology*. GeNeDis books.
- Widyanto, MT. Dkk. 2015. *Potensi Jus Buah Pare (Momordica charantia L.)*

- sebagai penghambat Hemoglobin Terглиkasi In Vitro. *Jurnal Berkala Kedokteran*, Vol. 11. No. 1: 141-147
- World Health Organization (WHO). (2014). Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. Diperoleh tanggal 23 juni 2018 dari care.diabetes journals. Org
- Widiasari, K. R., Made, I., Wijaya, K., & Suputra, P. A. (2021). Diabetes Melitus Tipe 2 : Factor Resiko, Diagnosis, Tatalaksana. In *Ganesha Medicina Journal* (Vol. 1). Universitas Pendidikan Ganesha.
- Yasmin et al. 2022. *Potensi Antikanker dan Antimikroba pada Anggrek Berdasarkan Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) Online*. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. Vol. 8 No.1: 25-33
- Zhang, H.; Wang, Y.; Zhang, X.; Liu, M.; Hu, Z. *Analysis of vicine in bitter melon with high performance liquid chromatography*. *Anal. Lett.* 2003, 36, 1597–1605. [[CrossRef](#)]
- Zuchrian, M. R dkk. 2010. Penambatan Molekular Beberapa Senyawa Xanton Dari Tanaman *Garcinia mangostana* linn. Pada Enzim Plasmepsin dan Reduktase Protein Pembawa Enoil Asil Plasmodium *Falciparum*. Fakultas FMIPA. Universitas Indonesia.

LAMPIRAN

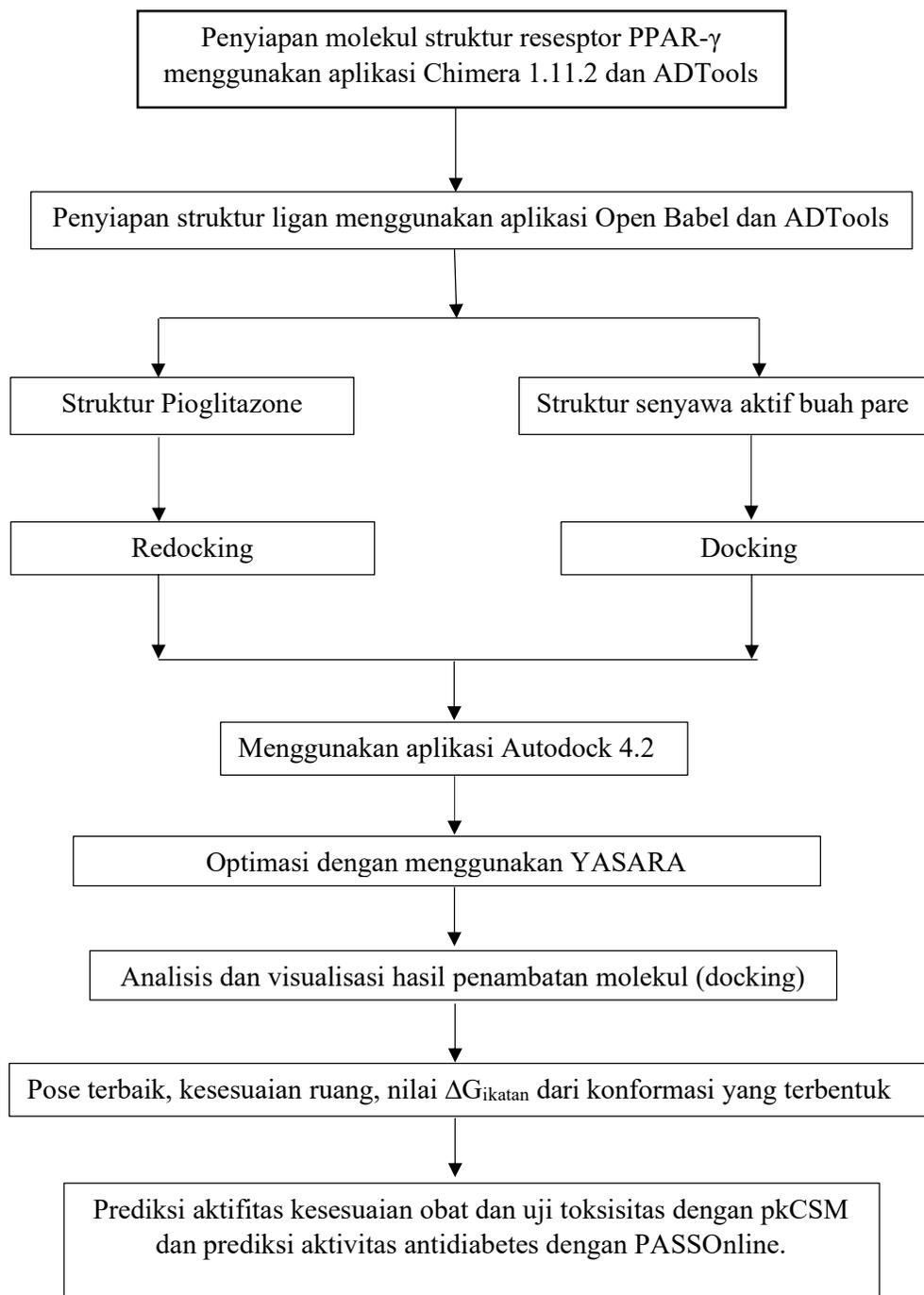
Lampiran 1. Struktur 3D Makromolekul PPAR γ



Struktur 3D PPAR γ + Pioglitazone dengan PDB ID 5Y2O

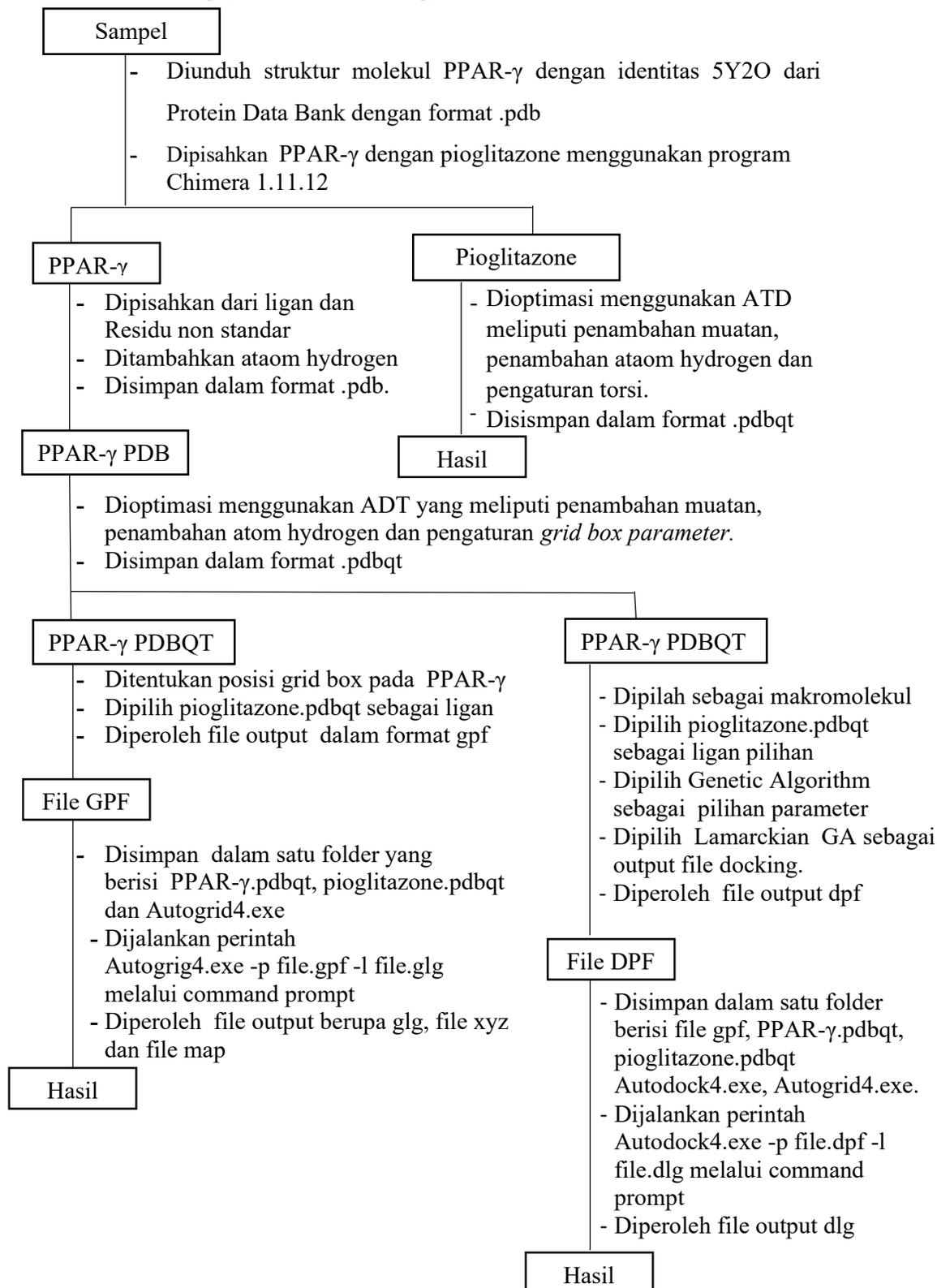
(Sumber: www.rcsb.org)

Lampiran 2. Rancangan Penelitian



Lampiran 3. Diagram Alir

1. Redocking (Penambatan Ulang)



2. Penyiapan Struktur Protein

PPAR- γ

- Diunduh makromolekul PPAR- γ dengan identitas 5Y2O dari Protein Data Bank dengan forma pdb
- Dibuka bengan menggunakan program USCF Chimera 1.11.2 kemudian dipisahkan dari pelarut, ligan ataupun residu non standar
- Disimpan makromolekul PPAR- γ dengan format .pdb

PPAR- γ PDB

- Dioptimasi dengan ADT yang meliputi penambahan muatan, penambahan atom hydrogen
- Dilakukan pengaruran parameter *grid box*
- Disimpan dalam format .pdbqt

PPAR- γ PDBQT

- Dipilih ligan yang akan digunakan
- Diatur posisi grid box PPAR- γ dengan nilai dimensi x, y dan z sebesar (42, 42, 42) dan center x, y dan z sebesar (-48.382, -1.335, 77.313)
- Disimpan output dalam bentuk file gpf

Hasil

3. Penyiapan Struktur Ligan

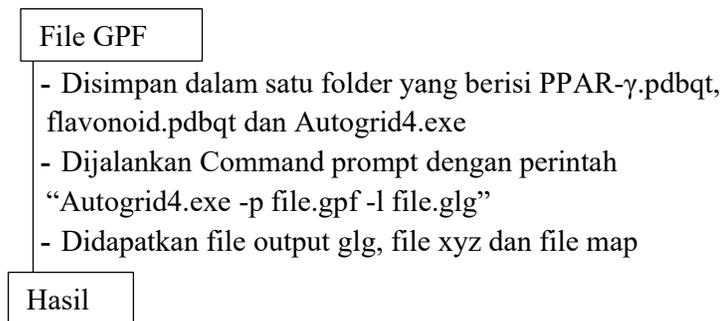
Senyawa Flavonoid

- Diunduh 16 senyawa buah pare golongan flavonoid 3'-4'-5'-trihidroksi flavonol, Apigenin-7-O-glycoside, Naringenin-7-O-glycoside, Luteolin-7-O-glucoside, Kaempferol, Luteolin, Hespermidin, Apigenin, Biochanin A, Gallicocatechin gallate, Epigallocatechin, Catechin, Epicatechin, Isoquercitrin, Quercitrin dan Quercetin dari Pubchem dengan format .sdf
- Dikonfersi senyawa pare menggunakan program Open Babel dari format .sdf menjadi .pdb
- Dioptimasi dengan program AutoDockTools yang meliputi penambahan atom hydrogen, penambahan muatan dan pengaturan torsi
- Disimpan dalam format.pdbqt

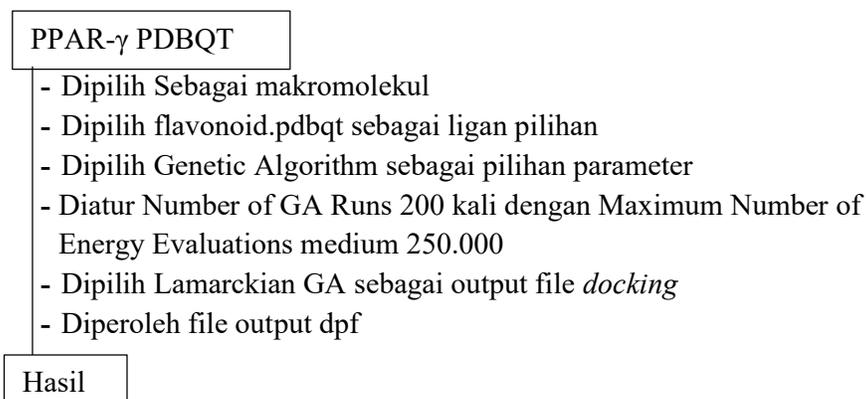
Hasil

4. Molecular Docking dengan Autodock 4.2

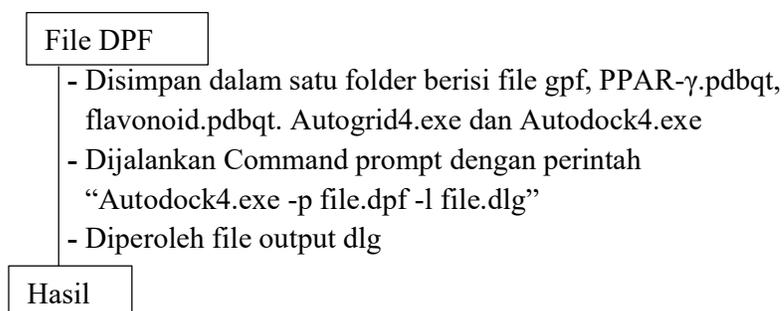
4.1 Pembentukan File GLG



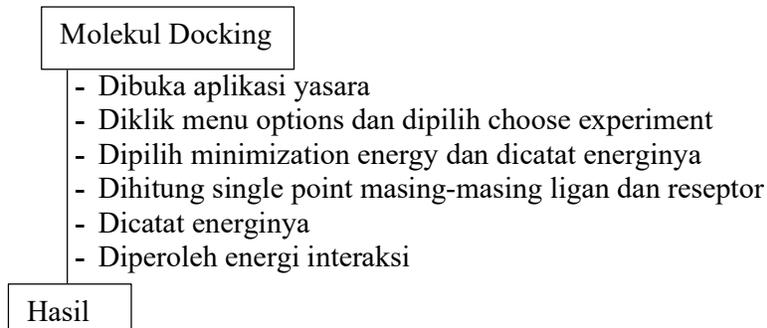
4.2 Pembentukan File DPF



4.3 Pembentukan File DLG



5. Optimasi Molekular Docking



6. Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul

File DLG

- Dilihat nilai ΔG_{ikatan}
- Dilihat nilai RMSD (Root Mean Square Deviation)
- Dilihat posisi dan orientasi ligan pada makromolekul PPAR- γ
- Divisualisasikan dengan perangkat lunak ADT, Discovery Studio dan Pymol

Hasil

7. Uji Kemiripan Obat dengan pkCSM

Ligan

- Dicari kode SMILES senyawa uji flavonoid pada pubchem
- Dickey SMILES
- Dibuka web online pkCSM ([pkCSM \(uq.edu.au\)](http://pkCSM(uq.edu.au)))
- Dipaste kode SMILES pada kolom "Provide a SMILES string"
- Di klik ADMET dan tunggu proses running hingga muncul hasil Lipinski five rules

Hasil

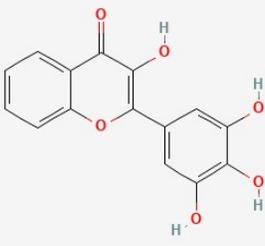
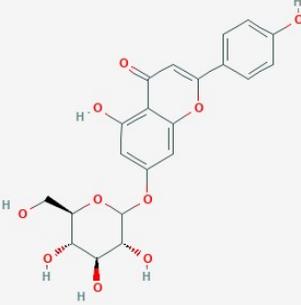
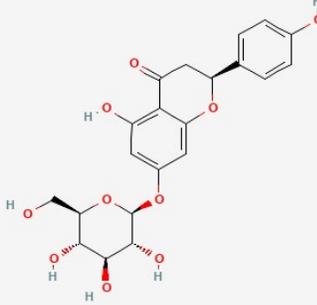
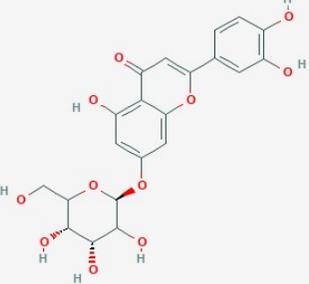
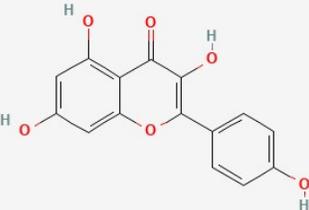
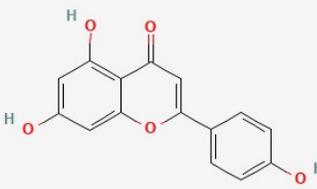
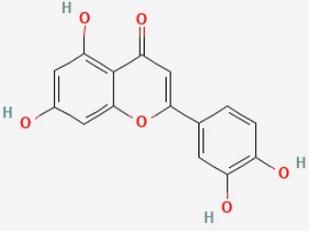
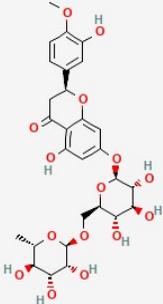
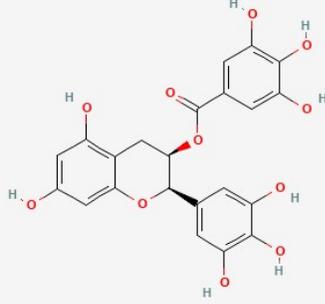
8. Prediksi aktivitas antidiabetes menggunakan PASS Online

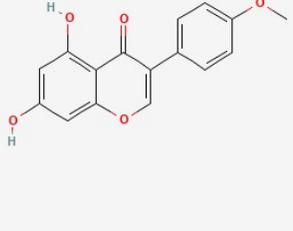
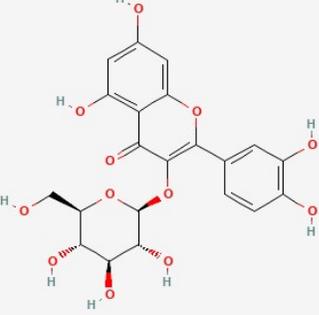
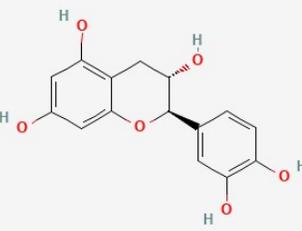
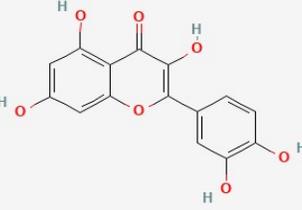
Ligan

- Dicari kode SMILES senyawa uji flavonoid pada pubchem
- Dickey SMILES
- Dimasukkan SMILES pada PASS Online
- Di klik *get prediction*

Hasil

Lampiran 4. Struktur 3D Ligan Uji

		
3'-4'-5'-trihidroksi flavonol	Apigenin-7-O-glycoside	Naringenin-7-O-glycoside
		
Luteolin-7-O-glycoside	Kaempferol	Apigenin
		
Luteolin	Hesperidin	Epigallocatechin

		
Biochanin A	Gallocatechin gallate	Isoquercitrin
		
Catechin	Epicatechin	Quercitrin
		
Quercetin		

Lampiran 5. Data residu protein PPAR γ yang terdeteksi berinteraksi dengan ligan uji pada program discovery studio sebelum optimasi dan setelah optimasi

Senyawa Uji	Residu Hasil Docking		Residu Setelah Optimasi	
	Jenis Ikatan	Asam Amino	Jenis Ikatan	Asam Amino
<i>Redocking Pioglitazone</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr267, Arg82, Ser83, His117	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr267, Ser83, Gln80
	<i>Van der Waals</i>	Lys161, Gln80, Phe76, Leu247, His243, Leu263, His117, Ile120, Val133, Arg82, Leu147, Gly76	<i>Van der Waals</i>	Leu247, Leu259, Leu263, His117, Lys161, Ser136, Gly78, Leu147, val133, Leu124, Arg82, Ile120, Phe76, Leu134
	<i>Pi-Sigma</i>	Ile135	<i>Pi-Sigma</i>	Cys79
	<i>Pi-Sulfur</i>	Phe157, Met158, Met142	<i>Pi-Sulfur</i>	Phe157, Met158, His243
	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	Tyr121	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	Tyr121
	<i>Alkyl</i>	Ile75, Leu124, Cys79	<i>Alkyl</i>	Ile75, Ile135, Met142
<i>5-3'-4-trihidroksil flavonol</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr121, <u>Tyr267</u> , His243, Gly78, <u>Ser83</u>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Ser136, Cys79, <u>Tyr267</u>
	<i>Van der Waals</i>	Phe76, Leu247, Gln80, Ile135, Ser136, Phe81, Leu127, Ile120, His117	<i>Van der Waals</i>	Phe76, Leu263, Gln80, Phe157, His117, Tyr121, Lys161, Ile120, Leu127, Met158, Leu134, Met142, Ile75, His243
	<i>Pi-Sigma</i>	Arg82	<i>Pi-sulfur</i>	Cys79
	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	Phe157	<i>Amide Pi-stacked</i>	Gly78
	<i>Alkyl</i>	Leu124, Cys79	<i>Alkyl</i>	Leu124, Cys79, Arg82, Ile135
	<i>Apigenin-7-O-glycoside</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Met158, <u>Ser83</u> , <u>Tyr267</u> , Lys161	<i>Ikatan Hidrogen</i>
<i>Van der Waals</i>		Arg82, Phe76, Leu247, Gln80, Leu259, His117, Tyr121, Phe157	<i>Van der Waals</i>	Phe76, Leu247, Gln80, Leu259, His117, Tyr267, Arg82, Met158, Met128, Phe157
<i>Carbon Hydrogen Bond</i>		Tyr267, Lys161	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161
<i>Pi-Sigma</i>		His243	<i>Pi-Sigma</i>	His243
<i>Pi-Sulfur</i>		Cys79	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	His243
<i>Alkyl</i>		Leu263, Leu124	<i>Pi-Alkyl</i>	Cys79, Leu124, Leu263
<i>Naringenin-7-O-glycoside</i>		<i>Ikatan Hidrogen</i>	Met142, Leu134, <u>Ser83</u> , <u>Cys79</u>	<i>Ikatan Hidrogen</i>
	<i>Van der Waals</i>	Met158, Leu147, Ile75, Gly78, Ile120, Leu127, Val133	<i>Van der Waals</i>	Leu147, Met142, Ile135, Leu127, Ile120, Gln80, Leu263, Tyr267, Phe157
	<i>Pi-Sigma</i>	Arg82, Leu124, Ile135	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161

	<i>Pi-Sulfur</i>	Cys79, Met142	<i>Pi-Sulfur</i>	Met158
	<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu124	<i>Pi-Sigma</i>	Arg82, Leu124, Ile135
			<i>PI-Pi T-Shaped</i>	Tyr121
			<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu124, Cys79, Val133
<i>Kaempferol</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, Gly78, Tyr121, Lys161, Cys79, Arg82	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, Tyr121
	<i>Van der Waals</i>	Ser136, Phe81, Ser83, His243, Leu127, Val133	<i>Van der Waals</i>	Leu127, Ile135, Ser136, Ser83, Gln80, Leu263, Tyr267, Phe157, Ile120, Leu124, Met158, Met128, Val133
	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Cys79, Lys161, Arg82	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161
	<i>Pi-Pi stacked</i>	Phe157	<i>Pi-Pi shaped</i>	His243
	<i>Alkyl</i>	Met158, Leu124, Ile135, Arg82	<i>Alkyl</i>	Cys79, Arg82
<i>Luteolin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr121, Ile120, Arg82	<i>Ikatan Hidrogen</i>	His243, Cys79, Leu134
	<i>Van der Waals</i>	Lys161, Phe157, His143, Ser83, Ile119, Ile135, Leu134	<i>Van der Waals</i>	Met123, Val133, Ile135, His117, Ser83, Tyr267, Phe157, Lys161, Ile120
	<i>Pi-Cation</i>	Arg82	<i>Pi-Cation</i>	Arg82
	<i>Pi-Sigma</i>	Leu124	<i>Pi-Sigma</i>	Leu124
	<i>Pi-Sulfur</i>	Met158	<i>Pi-Sulfur</i>	Met158
	<i>Pi-Pi T-shaped/ Amide-Pi stacked</i>	Met123	<i>Pi-Pi T-shaped/ Amide-Pi stacked</i>	Tyr121
	<i>Alkyl</i>	Cys79, Arg82, Leu127,	<i>Alkyl</i>	Leu124, Arg82, Leu127,
<i>Luteolin-7-O-glycoside</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, Ile75, <u>Cys79</u> , His243	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr121, Ser136, Ser83
	<i>Van der Waals</i>	Gly78, Val133, Met158, Tyr121, Phe157, Tyr167, Leu247, Phe76, Gln80, Leu263, Ser83, Ile120, Ile135, Ser136	<i>Van der Waals</i>	Met158, Gly78, Glu53, Arg74, Leu49, Ile75, Met142, Glu137, Leu134, Leu127, Leu124, Ile120, His117, Tyr267, Phe157, His243
	<i>Pi-Sigma</i>	Leu124	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161, Cys79, Ile135
	<i>Pi-Sulfur</i>	Cys79	<i>Pi-Sulfur</i>	Cys79
	<i>Alkyl</i>	Arg82, Cys79	<i>Alkyl</i>	Arg82, Cys79
<i>Hesperidin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Ile75, Leu134, <u>Ser83</u> , Gly78, <u>Cys79</u>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Ile120, <u>Cys79</u>

	Van der Waals	Val133, Leu127, Ile135, Ser136, Tyr121, Phe157, His117, Leu263, Gln80	Van der Waals	Leu127, Ile135, Glu137, Ser136, Lyys161, Tyr267, His117, Ile120
	Carbon Hydrogen Bond	His243, Lys161, Cys79, Leu124	Carbon Hydrogen Bond	His243, Lys161, Cys79, Leu124
	Pi-Sigma	Cys79	Pi-Sigma	Leu124
	Pi-Sulfur	Met158	Pi-Sulfur	Met158, Cys79
	Alkyl	Leu124, Arg82, Cys79, Met158	Pi-Pi T-shaped	Tyr121, Phe157
			Alkyl	Leu124, Arg82, Cys79
Apigenin	Ikatan Hidrogen	Ile120, Arg82, Cys79, Leu124, <u>Tyr267</u> , <u>Ser83</u>	Ikatan Hidrogen	Tyr 121, Ser83, Leu134
	Van der Waals	Met123, Tyr121, His117, His243, Phe157, Gln80, Ile135, Leu127	Van der Waals	Ser136, Leu127, Ile135, Val133, Met158, Met128, Leu124, Ile120, Phe157, His243, Tyr267, Leu263, Gln80
	Unfavorable Donor - donor	Leu124	Carbon Hydrogen Bond	Lys161
	Pi-Sigma	Leu124	Pi-alkyl	Arg82, Cys79
	Pi-Sulfur	Cys79		
	Pi-cation	Arg82		
Biochanin A	Ikatan Hidrogen	Leu134, <u>Ser83</u> , Tyr267, Arg82, Cys79, Ser136, Gly78	Ikatan Hidrogen	Tyr267, Ser136, Glu85
	Van der Waals	Ser136, Gly78, Glu137, Ile135, Leu127, Val133, His117, Gln80, Tyr267, His243, Phe157, Tyr121, Phhe81, Glu85,	Van der Waals	Leu263, Gln80, Tyr121, Ile120, Ala86, Leu127, Met158, Val133, Leu147, Met142, Ile75, Gle185, Thr62, Phe81
	Carbon Hydrogen Bond	Cys79, Arg82, Tyr267, Lys161	Carbon Hydrogen Bond	His117, His243, Ser83, Cys79, Arg82, Gle185
	Pi-Sulfur	Met158	Pi-pi T-shaped	Phe158
	Alkyl	Arg82, Leu124, Leu159, Leu247, Leu263, Phe76	Alkyl	Leu124, Leu259, Leu247, , Phe76
Gallocatechin gallate	Ikatan Hidrogen	Tyr121, <u>Cys79</u> , Arg82, Leu124	Ikatan Hidrogen	<u>Cys79</u> , His243, Ser136
	Van der Waals	Lys161, His243, Phe157, Ile135, Ser136, Glu137, Gly138, Leu134, Ser83, Ile120	Van der Waals	Gln80, Ser83, Phe157, Tyr121, Met128, Val133, Ile135, Glu137, Gly138, Leu22,
	Pi-Sulfur	Met158	Carbon Hydrogen Bond	Lys161, Leu134, Arg82
	Alkyl		Pi-Sulfur	Met158

		Arg82, Leu22, Leu127, Leu124	<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu22, Leu127, Leu124
<i>Epigallocatechin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr121, Ile120, His243, Arg82	<i>Ikatan Hidrogen</i>	His243, Ser83, Cys79, Leu134
	<i>Van der Waals</i>	Lys161, Phe76, Phe157, Gln80, Ser83, Ile119, Leu127, Leu134, Ile135	<i>Van der Waals</i>	Leu127, Val133, Ile135, Lys161, Phe157, Tyr267, His117, Ile120
	<i>Pi-Cation</i>	Cys79	<i>Pi-Cation</i>	Arg82
	<i>Pi-Sigma</i>	Leu124, Cys79	<i>Pi-Sigma</i>	Leu124, Cys79
	<i>Pi-Sulfur</i>	Arg82	<i>Pi-Sulfur</i>	Arg82, Met158
	<i>Amide-Pi Stacked</i>	Met123	<i>Amide-Pi Stacked</i>	Met123, Tyr121
	<i>Alkyl</i>	Arg82	<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu124
<i>Catechin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Met142, Cys79, Ser83, Tyr121, Ile120	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Cys79, Tyr121 Pi-donor hydrogrm bond Arg82, Ile135
	<i>Van der Waals</i>	Ser136, Gln80, Phe157, Ile119, Leu127, Leu134, Val133, Leu147, Ile75	<i>Van der Waals</i>	Gln80, Ser83, Met158, Val133, Ser136, Leu134, Leu127, Ile90, Ile120, Lys161, Phe157
	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161, His143, Arg82, Ile135, Cys79	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Gly78
	<i>Pi-Sigma</i>	Ile135, Leu124	<i>Pi-Sigma</i>	Ile135, Leu124
	<i>Pi-Sulfur</i>	Met158, Met142	<i>Pi-Sulfur</i>	Cys79
	<i>Pi-Cation</i>	Arg82	<i>Pi-Cation</i>	Arg82
	<i>Alkyl</i>	Cys79, Met123	<i>Pi-Pi T-Shaped</i>	Met123
<i>Epicatechin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Tyr121, Ser83, Leu134	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134
	<i>Van der Waals</i>	His117, His243, Phe157, Gly78, Ser136, Val133, Leu127, Ile120, His117	<i>Van der Waals</i>	His243, Phe157, Tyr121, Met158, Val133, Ile135, Met123, Ile120, Ser83, Gln80
	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Lys161, Arg82
	<i>Pi-Sulfur</i>	Cys79, Met158	<i>Pi-cation</i>	Arg82
	<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu124, Ile135, Cys79	<i>Pi-sigma</i>	Cys79
			<i>Alkyl</i>	Arg82, Leu124, Leu127
	<i>Isoquercitrin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, Met158, Ser83, Cys79	<i>Ikatan Hidrogen</i>
<i>Van der Waals</i>		Val133, Ser136, Ile135, Phe157, His243, His117	<i>Van der Waals</i>	Val133, Ser136, Ile135, Phe157, His243, His117, Gln80, Ser83, Tyr267, Ala86, Leu127
<i>Carbon Hydrogen Bond</i>		Lys161	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Tyr121, Arg82
<i>Pi-Sigma</i>		Leu124	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	His243

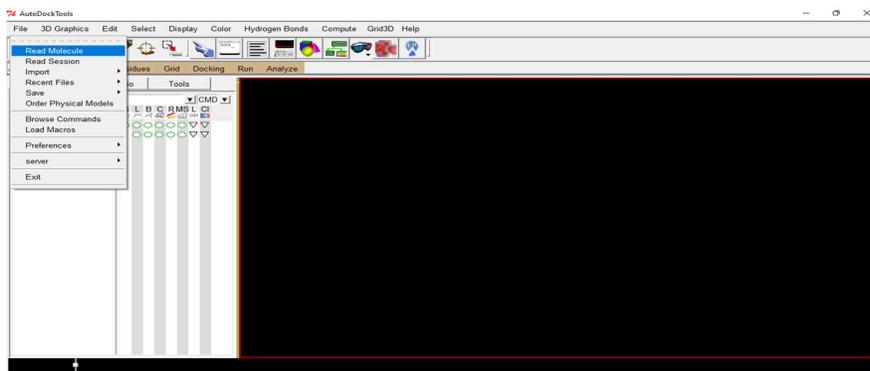
	<i>Pi-Sulfur</i>	Met158	<i>Alkyl</i>	Ile120, Arg82, Leu124,
	<i>Pi-Pi T-shaped</i>	Tyr121		
	<i>Alkyl</i>	Ile120, Arg82, Leu127, Leu124, Cys79		
<i>Quercitrin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, <u>Ser83</u>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Leu134, Ser83, His243, Arg82
	<i>Van der Waals</i>	Phe81, Leu127, Ser136, Glu137, Gly138, Val133, Arg74, Leu147, Met158, Ile120, Tyr121	<i>Van der Waals</i>	Phe81, Leu127, Ser136, Glu137, Gly138, Val133, Arg74, Leu147, Met158, Ile120, Tyr121
	<i>Unfavorable donor-donor</i>	Arg82	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Arg82, cys79
	<i>Pi-Sigma</i>	Ile135, Arg82	<i>Pi-cation</i>	Arg82
	<i>Pi-Sulfur</i>	Met142, Cys79	<i>Amide-Pi stacked</i>	Met123
	<i>Alkyl</i>	Leu124, Arg82	<i>Alkyl</i>	Leu124, Arg82, Leu127, Ile135
<i>Quercetin</i>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Glu137, Ile75, <u>Cys79</u>	<i>Ikatan Hidrogen</i>	Ser136
	<i>Van der Waals</i>	Ile43, Ile56, Ser136, Gly78, Phe81, Leu147	<i>Van der Waals</i>	Ile56, Ile43, Glu53, Leu49, Phe81, His60, Glu85, Glu137, Leu147, Met158, Val133, Leu134
	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Ile75, Cys79	<i>Carbon Hydrogen Bond</i>	Gly78
	<i>Pi-Sigma</i>	Arg82, Ile135	<i>Alkyl</i>	Arg74, Ile75, Arg82, Ile135, Met142, Cys79
	<i>Alkyl</i>	Val133, Met158, Met142, Arg74		

**Lampiran 6. Nilai Pa (Probable activity) dan Pi (Probable inactivity) uji
PASSOnline senyawa Flavonoid sebagai aktivitas antidiabetes**

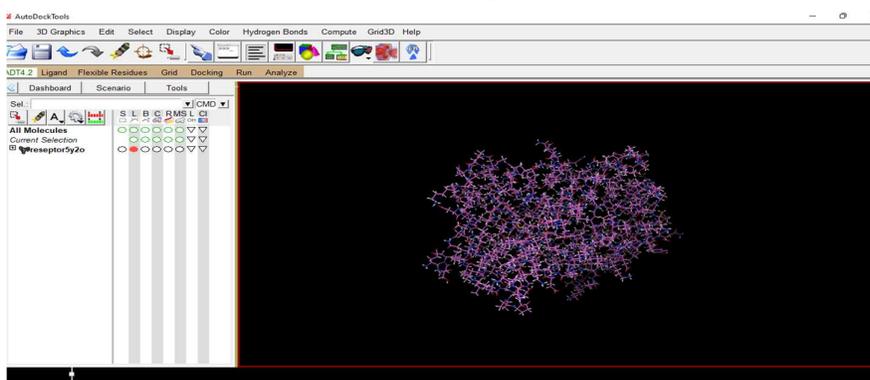
Senyawa	Pa	Pi
3'-4'-5'-trihidroksi flavonol	0.339	0.023
Apigenin-7-O-glycoside	0.681	0.007
Naringenin-7-O-glycoside	Tidak tersedia	Tidak tersedia
Luteolin-7-O-glucoside	0.669	0.008
Kaempferol	0.317	0.031
Luteolin	0.317	0.031
Hesperidin	0.482	0.026
Apigenin	0.320	0.029
Biochanin A	0.277	0.054
Gallocatechin gallate	0.259	0.108
Epigallocatechin	0.259	0.108
Catechin	0.355	0.058
Epicatechin	0.355	0.058
Isoquercitrin	0.661	0.008
Quercitrin	0.518	0.021
Quercetin	0.273	0.057

Lampiran 7. Proses Manual Docking

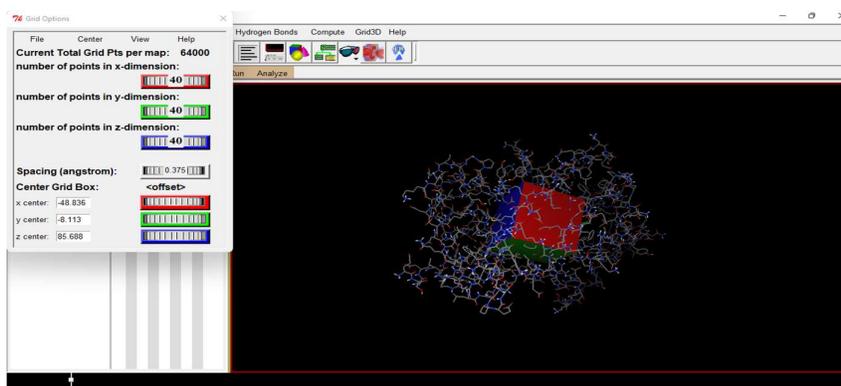
1. Buka program AutodockTools



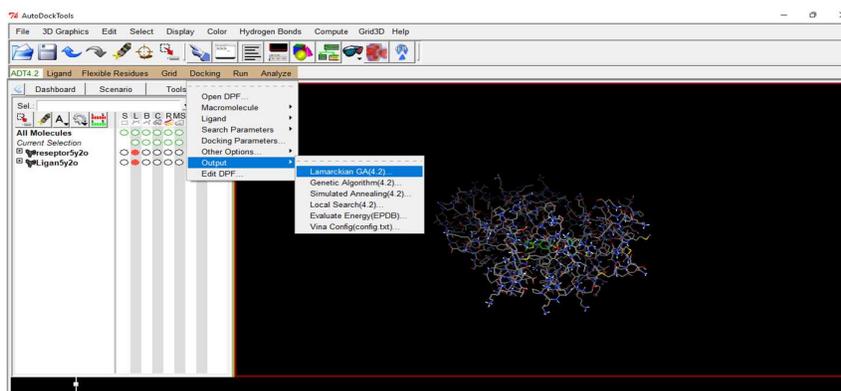
2. Masukkan reseptor dan ligan dalam format *.pdbqt*



3. Penentuan grid box → disimpan dengan format *.gpf*



4. Penentuan parameter docking → dipilih *Genetic Algorithm dan Lamarckian GA*



5. File docking disimpan dalam format *.glg*

6. Running

```

C:\Users\ASUS>set BABEL_DATADIR=C:\Program Files (x86)\MGLTools-1.5.7\OpenBabel-2.3.2\data
C:\Users\ASUS>set path=C:\Program Files (x86)\MGLTools-1.5.7\OpenBabel-2.3.2\bin
C:\Users\ASUS>cd ..
C:\Users>cd ..
C:\>cd Docking
D:\DOCKING>dir
Volume in drive D is DATA C
Volume Serial Number is 629D-5BFC

Directory of D:\DOCKING

28/06/2023 15:10 <DIR>          01-docking
10/05/2023 14:05 <DIR>          3D-senyawa Flavonoid
10/02/2023 14:18 <DIR>          714-744 4ema.pdb
15/02/2023 10:11 <DIR>          400-189 syzo.pdb
15/02/2023 10:11 <DIR>          374-501 SYZobersih.pdb
15/02/2023 10:10 <DIR>          2.575 886.mol2
28/06/2023 15:23 <DIR>          catechin
10/05/2023 15:11 <DIR>          cobp docking
10/05/2023 14:07 <DIR>          6.363 conformer3D_CID_439246 (1).sdf
20/03/2023 21:26 <DIR>          New folder
20/03/2023 16:06 <DIR>          penelitian docking risma
5 File(s) 1,502,592 bytes
7 Dir(s) 242,676,334,502 bytes free

D:\DOCKING>cd 01-docking
D:\DOCKING\01-docking>autogrid.exe -p catechin.glg -l catechin.dlg
  
```

7. File glg

```

hasil - Notepad
File Edit Format View Help
Beginning grid calculations.

Calculating 6 grids over 79507 elements, around 2178 receptor atoms.

XY-plane  Z-coord  Percent  Estimated Time  Time/this plane
           /Ang    Done      Remaining      Real, User, System
           /sec

-21  61.563  2.3%    53.17s  Real= 1.27, CPU= 1.08, System= 0.05
-20  61.938  4.7%    42.93s  Real= 1.05, CPU= 1.05, System= 0.00
-19  62.313  7.0%    42.52s  Real= 1.06, CPU= 1.06, System= 0.00
-18  62.688  9.3%    41.42s  Real= 1.06, CPU= 1.05, System= 0.00
-17  63.063  11.6%   39.79s  Real= 1.05, CPU= 1.03, System= 0.00
-16  63.438  14.0%   38.15s  Real= 1.03, CPU= 0.98, System= 0.02
-15  63.813  16.3%   37.69s  Real= 1.05, CPU= 0.98, System= 0.01
-14  64.188  18.6%   36.65s  Real= 1.05, CPU= 0.97, System= 0.00
-13  64.563  20.9%   36.65s  Real= 1.08, CPU= 1.03, System= 0.00
-12  64.938  23.3%   36.55s  Real= 1.05, CPU= 0.95, System= 0.00
-11  65.313  25.6%   33.50s  Real= 1.05, CPU= 0.92, System= 0.02
-10  65.688  27.9%   32.46s  Real= 1.05, CPU= 0.95, System= 0.00
-9   66.063  30.2%   32.34s  Real= 1.08, CPU= 1.03, System= 0.02
-8   66.438  32.6%   30.36s  Real= 1.05, CPU= 1.05, System= 0.00
  
```

8. File dlg

hasil - Notepad

File Edit Format View Help

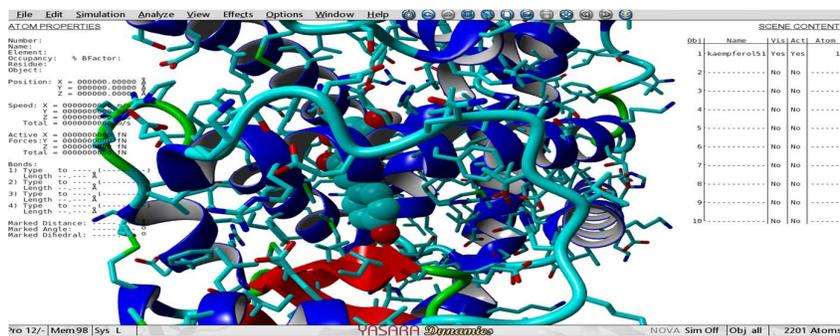
Number of multi-member conformational clusters found = 8, out of 200 runs.

RMSD TABLE

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	48	-8.49	0.00	90.44	RANKING
1	2	122	-8.18	0.20	90.49	RANKING
1	3	14	-8.17	0.18	90.39	RANKING
1	4	25	-8.09	0.63	90.45	RANKING
1	5	57	-7.70	0.76	90.33	RANKING
1	6	90	-7.47	0.69	90.39	RANKING
1	7	62	-7.44	0.36	90.43	RANKING
1	8	131	-7.31	1.98	89.58	RANKING
2	1	93	-8.35	0.00	90.10	RANKING
2	2	21	-8.33	1.80	89.07	RANKING
2	3	101	-8.18	1.76	89.06	RANKING
2	4	33	-8.06	0.21	90.04	RANKING
2	5	138	-8.03	1.55	89.19	RANKING
~	~	~	~	~	~	~

Ln 24693, Col 18 100% Windows (CRLF) UTF-8

9. Optimasi dengan Yasara



Lampiran 8. Data Lengkap Hasil Optimasi Yasara

Senyawa	E_{R-L}	$E_{Reseptor}$	E_{Ligan}
3'-4'-5'-Trihidroksiflavanol	-8169,612	-7918,07	-74,77
Apigenin-7-O-glucoside	-8339,308	-7814,98	-408,96
Naringenin-7-O-glucoside	-8080,054	-7814,48	-112,78
Kaempferol	-8231,999	-7825,20	-296,03
Luteolin	-8156,820	-7814,00	-184,84
Luteolin-7-O-glucoside	-8051,763	-7835,23	-53,40
Hesperidin	-8293,592	-7822,74	-366,96
Apigenin	-8356,624	-7945,87	-296,14
Biochanin A	-7388,106	-7799,53	427,36
Gallocatechin gallate	-8261,601	-7819,35	-306,19
Epigallocatechin	-8138,582	-7833,54	-141,67
Catechin	-7881,131	-7799,53	67,76
Epicatechin	-7977,212	-7828,78	-30,54
Isoquercitrin	-7986,412	-7810,39	-37,68
Quercitrin	-7940,770	-7905,75	142,22
Quercetin	-7981,708	-7981,708	92,60

$$E_{interaksi\ R-L} = E_{R-L} - (E_{Reseptor} + E_{Ligan})$$

Keterangan:

E_{R-L} = Energi Kompleks reseptor-ligan teroptimasi

E_R = Energi reseptor teroptimasi

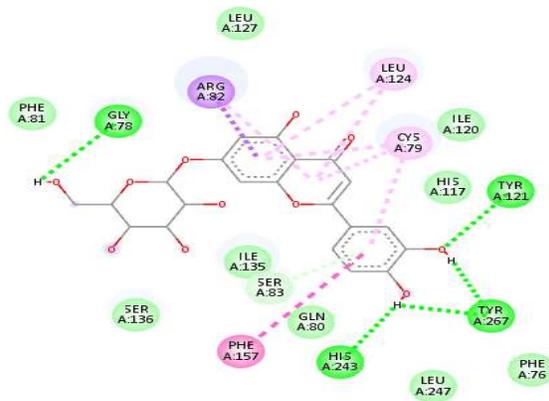
E_L = Energi ligan teroptimasi

Lampiran 9. Hasil Analisis Toksisitas

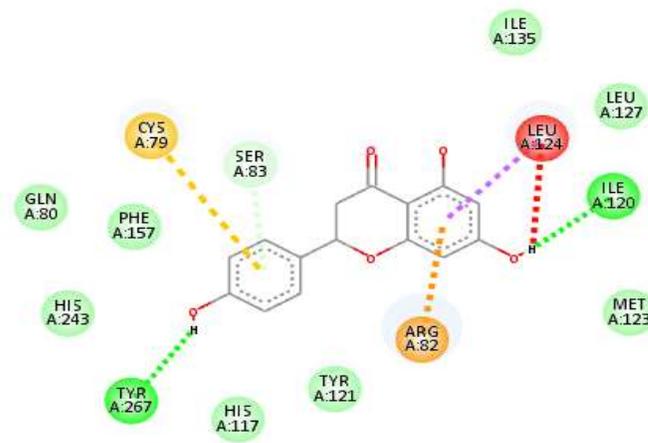
Nama senyawa	Ames Toxicity	Hepato- Toxicity	Skin sensitization	Oral Rat Acute Toxicity (LD50) mol/kg
Pioglitazone	No	Yes	No	2.258
3'-4'-5'-Trihidroksiflavanol	No	No	No	2.458
Apigenin-7-O-Glucoside	No	No	No	2.595
Naringenin-7-O-Glucoside	No	No	No	3.393
Kaempferol	No	No	No	2.455
Luteolin	No	No	No	2.455
Luteolin-7-O-Glucoside	Yes	No	No	2.482
Hesperidin	No	No	No	2.506
Apigenin	No	No	No	2.45
Biochanin A	No	No	No	1.851
Gallocatechin Gallate	No	No	No	2.522
Epigallocatechin	No	No	No	2.522
Catechin	No	No	No	2.428
Epicatechin	No	No	No	2.428
Isoquercitrin	No	No	No	2.541
Quercitrin	No	No	No	2.586
Quercetin	No	No	No	2.471

Lampiran 10. Visualisasi Interaksi Ligan Flavonoid Hasil Docking

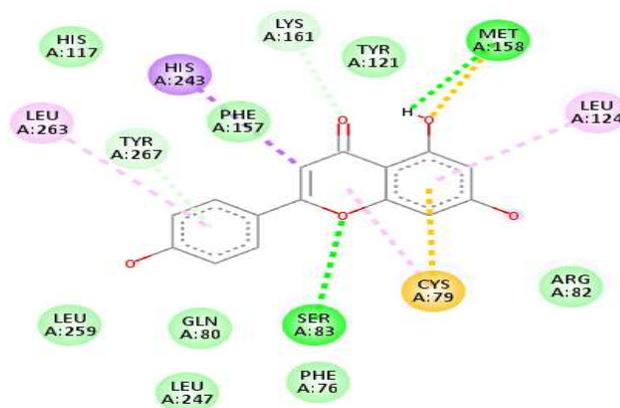
1. 5-3-4-trihidroksiflavanonol



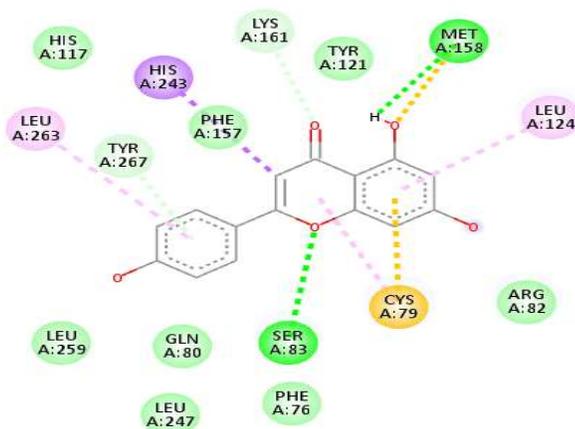
2. Apigenin



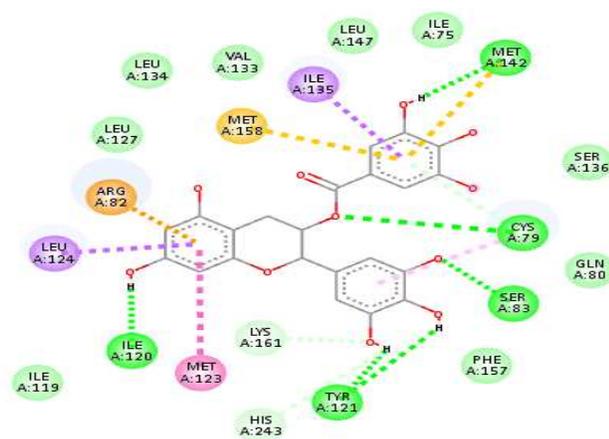
3. Apigenin-7-O-glucoside



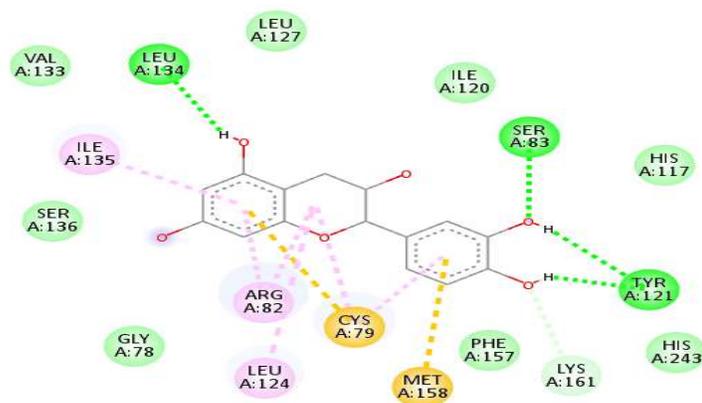
4. Biochanin A



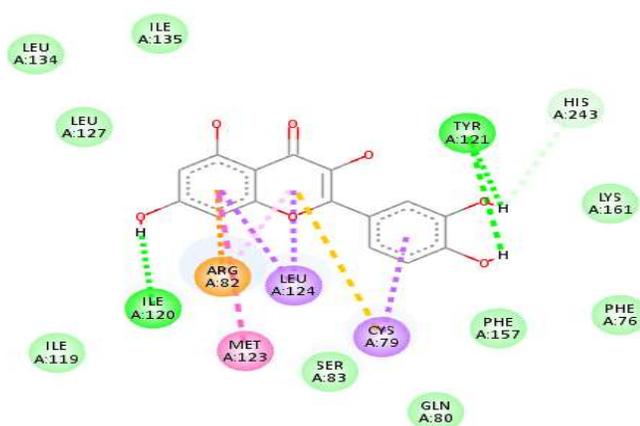
5. Catechin



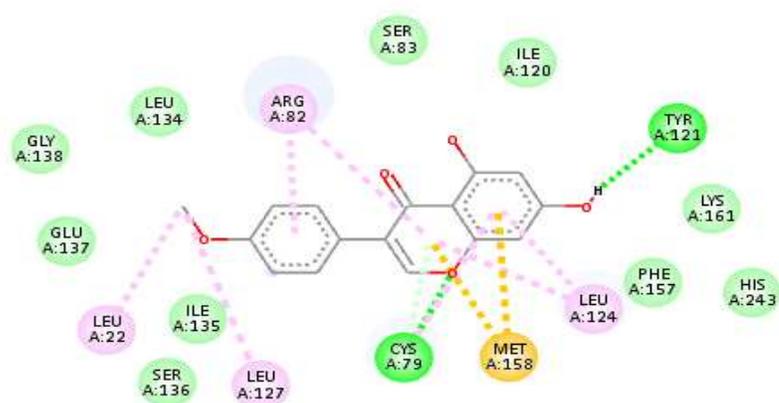
6. Epicatechin



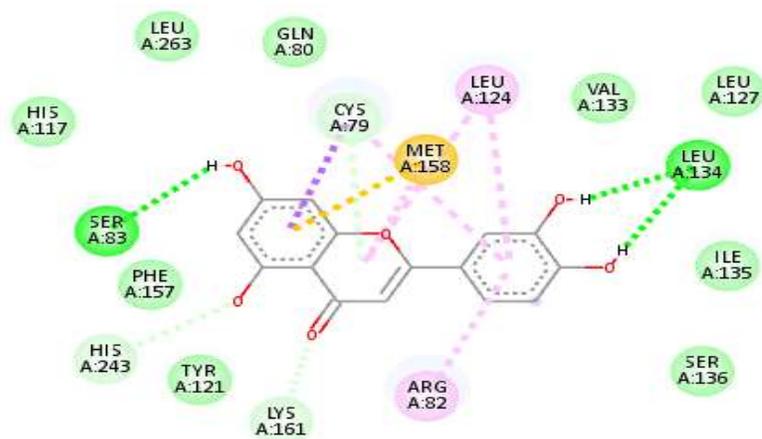
7. Epigallocatechin



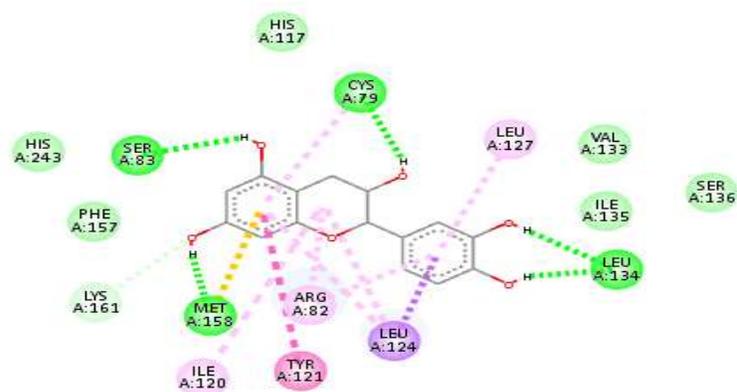
8. Galocatechin Gallate



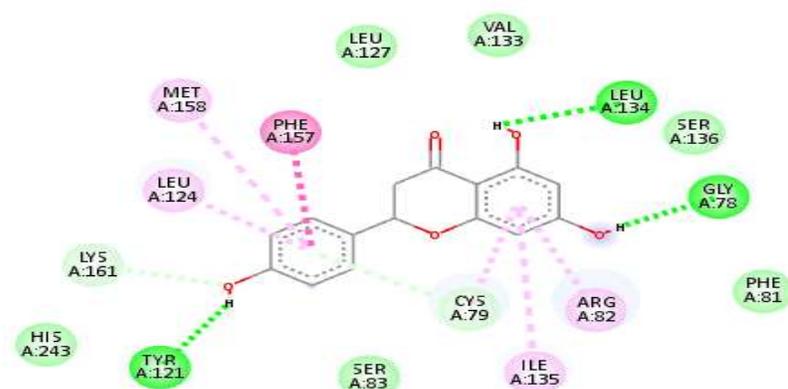
9. Hesperidin



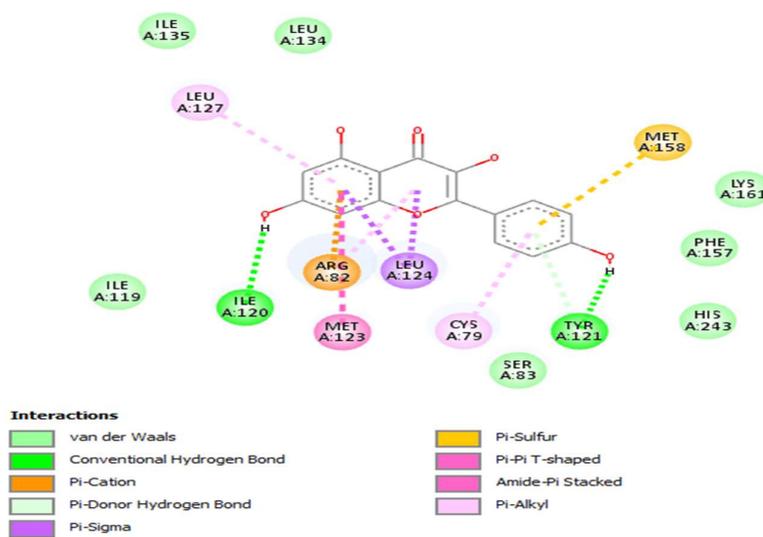
10. Isoquercitrin



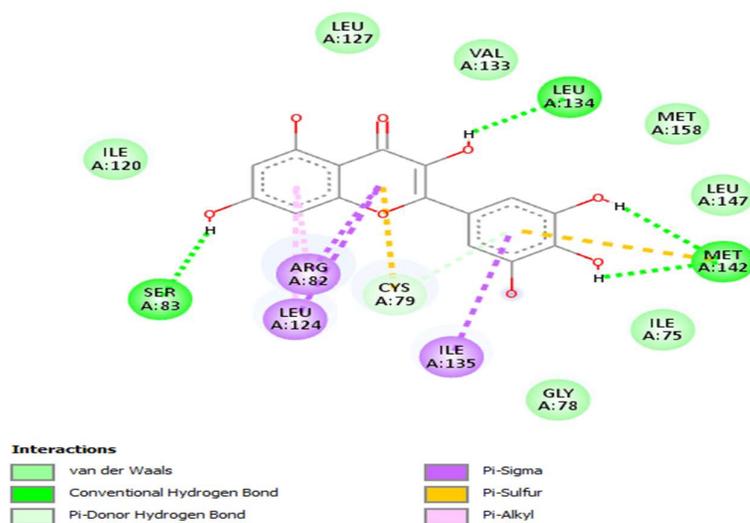
11. Kaempferol



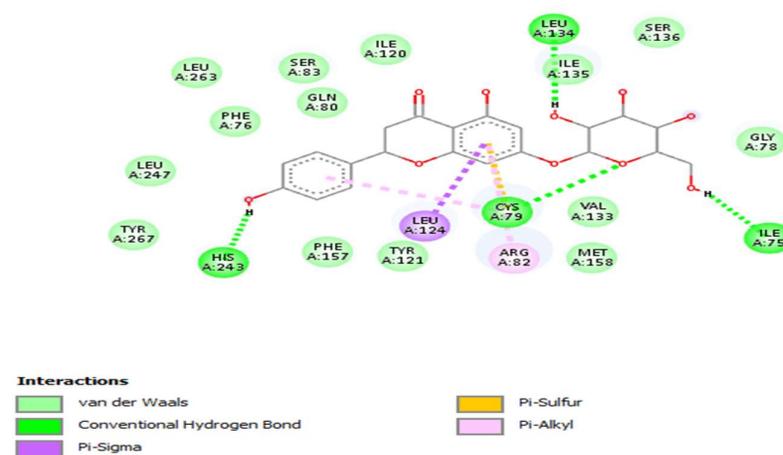
12. Luteolin



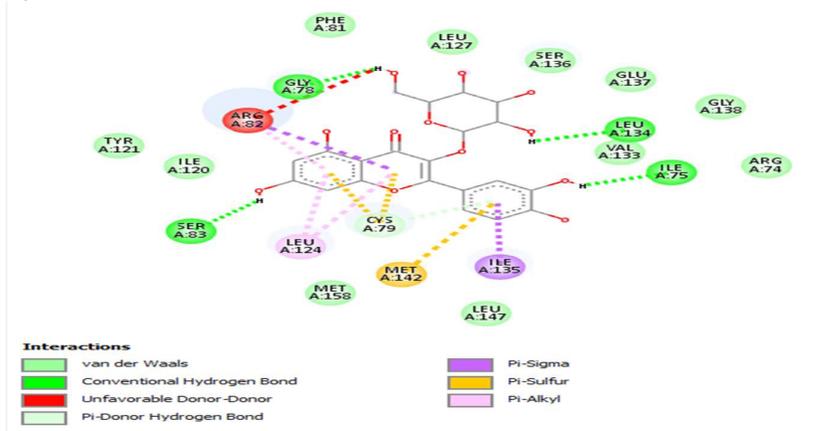
13. Naringenin-7-O-glycoside



14. Luteolin-7-O-glucoside



15. Quercitrin



16. Quercetin

