

**STUDI *DOCKING* DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA TERPEN DAN FLAVONOID
TANAMAN *ANDROGRAPHIS PANICULATA* SEBAGAI INHIBITOR *DPP4* TERHADAP
PENYAKIT DIABETES MELITUS TIPE-2**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Ilham Kiswandar

11161086



**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS BHAKTI KENCANA BANDUNG
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

STUDI *DOCKING* DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA TERPEN DAN FLAVONOID
TANAMAN *ANDROGRAPHIS PANICULATA* SEBAGAI INHIBITOR *DPP4* TERHADAP
PENYAKIT DIABETES MELITUS TIPE-2

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan program Strata Satu

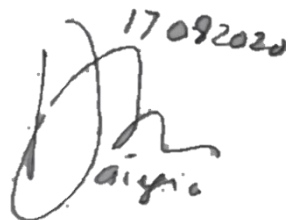
Ilham Kiswandar

11161086

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. Aiya Asnawi, M.Si)

Pembimbing Serta,



(Apt. Purwaniati, M.Si)

ABSTRAK

STUDI *DOCKING* DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA TERPEN DAN FLAVONOID TANAMAN *ANDROGRAPHIS PANICULATA* SEBAGAI INHIBITOR *DPP4* TERHADAP PENYAKIT DIABETES MELITUS TIPE-2

Oleh:

Ilham Kiswanda

11161086

Diabetes melitus (DM) merupakan keadaan kelainan metabolisme yang ditandai dengan resistensi terhadap insulin dan dapat berupa keadaan dimana tubuh tidak dapat mengsekresikan insulin yang cukup, atau keduanya. Herba *sambiloto* telah terbukti dapat menurunkan kadar gula dalam plasma dalam pengujian *in-vivo*. Inhibitor *DPP4* akan meningkatkan kadar hormon inkretin yang akan menstimulasi sekresi insulin dan akan mengontrol kadar gula dalam darah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari dan memprediksi interaksi dari senyawa terpenoid dan flavonoid pada herba *sambiloto* sebagai ligan dengan target reseptor *DPP4*. Dilakukan penambatan molekul 14 ligan dengan target *6b1e* dan diperoleh hasil ligan *bisandrographolide* dengan nilai energi bebas ikatan paling rendah (-8,39 kkal/mol). Sementara ligan *andrographiside* memperoleh nilai energi bebas sebesar (-6,72 kkal/mol). Hasil penambatan molekuler menunjukkan interaksi antara ligan *bisandrographolide* dan *andrographiside* menempati sisi pengikatan dari reseptor target. Analisis dinamika molekul ligan uji dengan RMSD dan RMSF yang stabil pada sisi pengikatan, menunjukkan interaksi stabil dalam waktu simulasi dinamika molekul. Sehingga ligan uji *bisandrographolide* dan *andrographiside* berpotensi sebagai inhibitor *DPP4* dalam upaya pengobatan diabetes melitus tipe-2.

Kata kunci: Docking, dinamika molekul, *sambiloto*, reseptor *DPP4*, diabetes melitus.

ABSTRACT

DOCKING AND MOLECULAR DYNAMICS STUDY OF TERPENES AND FLAVONOIDS PLANT *ANDROGRAPHIS PANICULATA* COMPOUNDS AS *DPP4* INHIBITORS TO DIABETES MELLITUS TYPE-2

By:

Ilham Kiswandaru

11161086

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by resistance to insulin and may be a condition where the body cannot secrete enough insulin, or both. The sambiloto herb has been shown to reduce plasma sugar levels in in-vivo testing. DPP4 inhibitors will increase incretin hormone that will stimulate insulin secretion and will control blood sugar levels. The purpose of the present research is to study and predict interactions of terpenes and flavonoids compounds in the sambiloto herb as a ligand with a DPP4 receptor target. 14 Ligand docking was carried out with the 6b1e target and the result of the ligand could bisandrographolide with the lowest free binding energy value (-8,39 kcal / mol). While andrographiside ligands obtain free energy values (-6,72 kcal/mol). Docking results indicate interactions between bisandrographolide and andrographiside ligands occupying the binding site of the target receptor. Analysis of the molecular dynamics ligands with RMSD and RMSF which were stable on the binding site showed stable interactions in the molecular dynamics simulation time. So that ligand bisandrographolide and andrographiside have the potential as DPP4 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus.

Keywords: Docking, molecular dynamics, sambiloto, DPP4 receptor, diabetes mellitus.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahim

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir dengan judul “STUDI DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA TERPEN DAN FLAVONOID TANAMAN ANDROGRAPHIS PANICULATA SEBAGAI INHIBITOR DPP4 TERHADAP PENYAKIT DIABETES MELITUS TIPE-2”

Dalam laporan tugas akhir ini penulis tidak lepas dari bimbingan serta dorongan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Aiyi Asnawi, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
2. Apt. Purwaniati, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang juga telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
3. Bapak dan Ibu dosen selaku pengajar di fakultas farmasi Universitas Bhakti Kencana.
4. Yang tercinta Ibu, Bapak, Adik dan Teman-teman yang telah memberi dorongan moril dan materil selama penulisan laporan tugas akhir ini.

Dalam penulisan tugas akhir ini penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan tulisan ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Allah Subhanahu wata'ala berkenan untuk memberikan balasan dan kemuliaan kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan tugas akhir ini, dan kepada pihak-pihak yang telah memberikan kritik dan saran atas tersusun nya penelitian ini.

Bandung, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar belakang	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	3
I.4 Hipotesis.....	3
I.5 Waktu dan tempat penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Diabetes melitus	4
II.2 Enzim <i>DPP4</i>	5
II.2.1 Mekanisme enzim <i>DPP4</i> terhadap diabetes.....	6
II.3 <i>Andrographis Paniculata</i>	7
II.4 Optimasi Geometri.....	7
II.5 <i>Docking</i>	8
II.6.1 Parameter Analisis <i>Docking</i>	8
II.6 Simulasi Dinamika Molekul.....	8
II.6.1 Parameter Analisis Dinamika Molekul	9
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....	11
BAB IV PROSEDUR PENELITIAN	12

IV.1	Preparasi Ligan Uji	12
IV.2	Preparasi Target Uji	12
IV.3	Penentuan Parameter Fisikokimia	12
IV.4	Validasi Lokasi Penambatan Ligan	12
IV.5	Simulasi Penambatan Ligan Uji	12
IV.6	Simulasi Dinamika Molekul Ligan-Reseptor.....	13
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		14
V.1	Ligan uji	14
V.2	Enzim target	19
V.3	Parameter sifat fisikokimia.....	21
V.5	Penambatan ligan uji.....	25
V.6	Dinamika Molekul	28
V.6.1	Analisis RMSD Ligan-Reseptor	28
V.6.2	Analisis RMSF Ligan-Reseptor	30
V.6.3	Analisis MM/PBSA dan MM/GBSA Ligan-Reseptor	32
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		33
VI.1	Kesimpulan.....	33
VI.2	Saran	33
DAFTAR PUSTAKA		34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Senyawa Uji.....	37
Lampiran 2 Penambatan Ulang Ligan Alami.....	40
Lampiran 3 Interaksi Senyawa Uji – Target Uji.....	43
Lampiran 4 Tabel Interaksi Reseptor-Ligan	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Enzim DPP4 (a) dan Ligan alami kode LF7 (b)	6
Gambar V.2. Enzim DPP-4 kode PDB 6B1E. (A) dan Ligan alami vildagliptin (LF7) (B) (Berger dkk., 2017)	19
Gambar V.3 Overlay redocking ligan alami. Warna merah menunjukkan ligan alami sebelum redocking dan warna biru menunjukkan ligan alami setelah di redocking (A) Interaksi antara ligan alami dengan target hasil redocking (B)	23
Gambar V.4 Interaksi antara ligan alami dengan target hasil redocking	24
Gambar V.5 Visualisasi Interaksi Senyawa Uji – Target Uji	27
Gambar V.6 RMSD Ligan Alami LF7(a), Ligan L1 (b), dan Ligan L2 (c)	29
Gambar V.7 RMSF Ligan Alami, Ligan L1, dan Ligan L3	30

DAFTAR TABEL

Tabel V. 1 Ligan uji – senyawa terpen dan flavonoid tanaman sambiloto (Okhuarobo dkk., 2014).	15
Tabel V.2 Analisis sifat fisikokimia ligan uji.....	21
Tabel V.3 Energi Hasil Redocking ligan alami	23
Tabel V.4 Energi Bebas Ikatan (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI) Penambatan Ligan Uji - Reseptor.....	25
Tabel V.5 Interaksi Ligan Alami-Reseptor	31
Tabel V.6 Nilai Energi Ikatan	32

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Penyakit diabetes melitus yang paling umum diderita oleh manusia adalah diabetes melitus tipe 2, biasanya pada orang dewasa, terjadi ketika tubuh menjadi resisten terhadap insulin atau tidak menghasilkan cukup insulin (WHO, 2019). Selama dekade terakhir, prevalensi diabetes melitus tipe 2 telah meningkat lebih cepat di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah daripada di negara-negara berpenghasilan tinggi, dan berdasarkan data WHO terdapat 442 juta jiwa yang menderita diabetes melitus (WHO, 2016). Secara keseluruhan prevalensi diabetes melitus tipe 2 di Amerika Serikat adalah sekitar 11,3% pada orang berusia 20 atau lebih. 90% kasus diabetes melitus merupakan diabetes melitus tipe 2 (Bazaldua dkk., 2018). Prevalensi diabetes melitus berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk Indonesia pada tahun 2018 sebesar 1,5% dari total penyakit diabetes melitus di seluruh dunia (Riskesdas, 2018).

Metformin hidroklorida direkomendasikan sebagai pilihan pertama untuk perawatan awal untuk semua pasien diabetes melitus tipe 2. Metformin dipilih sebagai terapi pertama diabetes melitus tipe 2 karena memiliki efek positif pada diabetes tanpa obesitas serta dapat meminimalisir risiko hipoglikemik, dan efek jangka panjang kardiovaskular terkait dengan penggunaannya (BNF, 2018). Jika metformin hidroklorida tidak bisa mengendalikan HbA1c di bawah ambang batas yang disepakati sepanjang modifikasi samping untuk diet, maka pengobatan harus diintensifkan. Metformin hidroklorida dapat dikombinasikan dengan salah satu dari obat antidiabetes golongan inhibitor reseptor DPP4 (vildagliptin, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin, orvildagliptin) (BNF, 2018).

Pilihan pengobatan diabetes melitus dapat langsung menggunakan insulin dari luar tubuh. Hal ini bertujuan untuk membantu tubuh menyeimbangkan kadar glukosa dalam darah. Insulin didapat berkat teknologi DNA rekombinan yang berasal dari bakteri *eschericia coli*. Karena rumitnya cara memperoleh insulin sebagai terapi diabetes melitus, maka harga sediaan insulin di pasaran pun cukup mahal. Dikarenakan pengobatan menggunakan insulin yang relatif mahal dan strategi perawatan yang agak invasif. Dalam beberapa tahun terakhir telah terjadi peningkatan dalam pengembangan obat bertarget protein spesifik sebagai inhibitor spesifik untuk target seperti alfa-glukosidase, *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), peptida seperti reseptor glukagon 1 (GLP-1), dan co-transporter-2 natrium-glukosa (SGLT2) (Pereira dkk., 2019).

Andrographis paniculata merupakan tanaman dari keluarga *acanthaceae* adalah salah satu tanaman obat paling populer yang telah teruji efek farmakologinya dari berbagai ekstrak dan senyawa sebagai anti mikroba, sitotoksisitas, anti protozoa, anti inflamasi, anti oksidan,

imunostimulan, anti diabetes, anti infeksi, dan anti angiogenik (Okhuarobo dkk., 2014). Seluruh bagian tanaman *Andrographis paniculata* telah digunakan selama berabad-abad di Asia sebagai obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit. Tanaman ini telah digunakan oleh praktisi medis tradisional untuk sakit perut, peradangan, demam, dan demam intermiten. Seluruh tanaman telah digunakan untuk beberapa aplikasi seperti penangkal gigitan ular dan sengatan serangga, dan untuk mengobati dispepsia, influenza, disentri, malaria, dan infeksi saluran pernapasan. Ekstrak daunnya merupakan obat tradisional untuk pengobatan penyakit menular, demam, sakit perut, kehilangan nafsu makan, dan diare. Di Malaysia, rebusan tanaman digunakan untuk mengobati pilek, hipertensi, diabetes, kanker, malaria, dan gigitan ular (Okhuarobo dkk., 2014).

Docking, dan simulasi dinamika molekul merupakan metode komputasi yang membantu untuk desain obat dan prediksi aktivitas (Abbasi dkk., 2017). *Docking* digunakan untuk memprediksi mode ikatan dua atau lebih molekul. Pada dua dekade penelitian, banyak metode yang berhasil untuk *docking* ligan untuk target makromolekul telah dikembangkan (Cosconati, 2010). Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi komputer yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara atom dan molekul sebagai fungsi waktu berdasarkan parameter hukum fisika. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk menggambarkan pola, kekuatan, serta sifat aktifitas dari suatu protein tertentu. Kekuatan suatu molekul dihitung menggunakan komputer untuk mengetahui pergerakan molekul tersebut. (Vlachakis dkk., 2014).

I.2 Rumusan masalah

1. Apakah simulasi *docking* dapat menentukan interaksi antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto terhadap target enzim DPP4 ?
2. Apakah simulasi dinamika molekul dapat menentukan stabilitas ikatan antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto terhadap target enzim DPP4 ?

I.3 Tujuan penelitian

1. Mengetahui interaksi antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto terhadap target enzim DPP4.
2. Mengetahui stabilitas ikatan antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto terhadap target enzim DPP4.

I.4 Hipotesis

1. Diduga interaksi antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto dengan target enzim DPP4 dapat diketahui menggunakan simulasi *docking*.
2. Diduga stabilitas ikatan antara ligan senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto terhadap enzim DPP4 dapat diketahui menggunakan simulasi dinamika molekul.

I.5 Waktu dan tempat penelitian

Waktu penelitian dilakukan dari bulan Februari – Juni 2020 di Laboratorium Penelitian Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana, Jl.Raya Soekarno Hatta No. 754 Cibiru Bandung.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Diabetes melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan keadaan kelainan metabolisme yang ditandai dengan resistensi terhadap insulin dan dapat berupa keadaan dimana tubuh tidak dapat mengsekresikan insulin yang cukup, atau keduanya. Manifestasi klinis utama dari penderita diabetes melitus adalah tingginya kadar gula darah dalam tubuh, disebut juga hiperglikemia (WHO, 2016).

Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi dua kategori umum yaitu, DM tipe 1 yang disebabkan oleh defisiensi absolut insulin, serta DM tipe 2 yang disebabkan oleh adanya resistensi insulin dan disfungsi sel β . Jenis diabetes melitus tipe 1 merupakan 5% -10% dari subyek yang didiagnosis dengan diabetes melitus, terutama disebabkan oleh kerusakan autoimun sel-sel β pankreas melalui respon inflamasi yang dimediasi sel-T (insulitis) serta respon humoral (sel B) (Kharroubi dkk., 2015). Akibatnya, ada kekurangan absolut insulin. Kombinasi kerentanan genetik dan faktor lingkungan seperti infeksi virus, racun, atau beberapa faktor makanan telah terlibat sebagai pemicu autoimunitas. DM tipe 1 paling sering terlihat pada anak-anak dan remaja meskipun dapat berkembang pada usia berapa pun (Goyal dan Jialal, 2018).

Dua patofisiologi utama yang mendasari terjadinya kasus DM tipe 2 secara genetik adalah resistensi insulin dan terganggunya fungsi sel β pankreas. Resistensi insulin merupakan kondisi umum bagi orang-orang dengan obesitas. Insulin tidak dapat bekerja secara optimal di sel otot, lemak, dan hati sehingga memaksa pankreas mengkompensasi untuk memproduksi insulin lebih banyak. Ketika produksi insulin oleh sel β pankreas tidak optimal untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka kadar glukosa darah akan meningkat, pada saatnya akan terjadi hiperglikemia kronik. Hiperglikemia kronik pada DM tipe 2 semakin merusak sel β di satu sisi dan di sisi lain memperburuk resistensi insulin, sehingga penyakit DM tipe 2 semakin progresif. Pada DM tipe 2, sel β pankreas yang mengalami hiperglikemia akan memproduksi *reaktive oxygen species* (ROS). Peningkatan ROS yang berlebihan akan menyebabkan kerusakan sel β pankreas (Decroli, 2019).

Sumber bahan bakar utama tubuh adalah glukosa. Sel memetabolisme glukosa sepenuhnya melalui glikolisis dan siklus krebs, menghasilkan adenosin trifosfat (ATP) sebagai energi. Pankreas dengan fungsi sel β normal mampu menyesuaikan produksi insulin untuk mempertahankan kadar glukosa darah normal. Pada diabetes melitus tipe 2, lebih banyak insulin dikeluarkan untuk mempertahankan kadar glukosa darah normal sampai akhirnya pankreas tidak lagi dapat memproduksi insulin yang cukup. Resistensi terhadap insulin terjadi

pada jaringan adiposa, otot rangka dan hati. Resistensi insulin dalam hati menimbulkan dua kali lipat ancaman karena hati menjadi tidak responsif terhadap insulin untuk pengambilan glukosa, dan produksi glukosa setelah makan tidak berhenti, yang menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah puasa dan pasca makan (Marie, 2016). Dalam pengobatannya, dilakukan dengan menurunkan kadar gula darah dalam tubuh. Mekanisme kerja berbagai obat antidiabetes sebagai inhibitor reseptor target kerja obat diabetes melitus telah diketahui diantaranya, *alpha-glucosidase*, *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) *receptor*, dan *sodium-glucose co-transporter-2* (SGLT2) (Pereira dkk., 2019).

II.2 Enzim DPP4

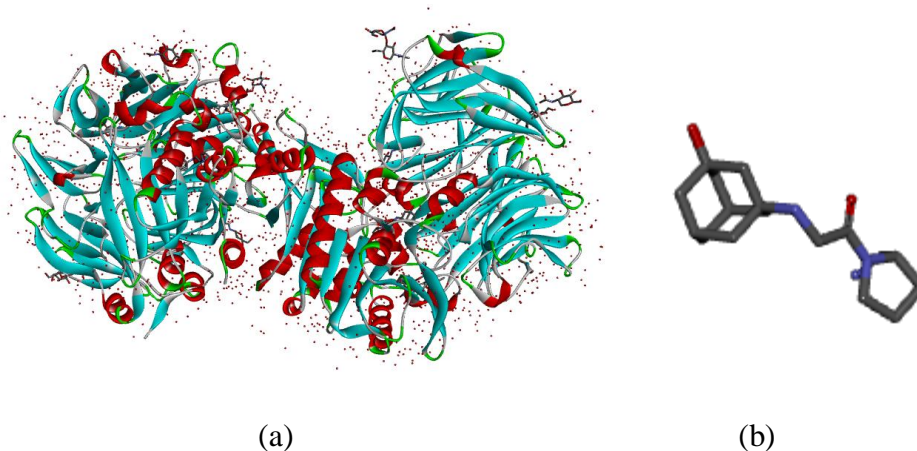
Dipeptidyl peptidase-4 merupakan enzim serin protease yang terdistribusi luas dalam tubuh. Enzim ini memecah dua asam amino dari peptida kecil yang mengandung alanin atau prolin di posisi kedua peptide N-terminus (Flock, 2007). Ekspresi DPP4 secara substansial disregulasi dalam berbagai keadaan penyakit salah satunya diabetes melitus. Hormon inkretin merupakan substrat utama DPP4 pengatur pelepasan insulin setelah asupan makanan. Inhibitor DPP4 mengarah pada ketersediaan hayati yang lebih besar dari enzim ini dan akan memperpanjang waktu kerja hormon inkretin. Mayoritas efek yang terlihat pada pengobatan inhibitor DPP4 dianggap berasal dari peningkatan kadar GLP-1 (Röhrborn dkk., 2015).

Dalam kompleks enzim DPP4 teridentifikasi beberapa gerakan fungsional yang berkontribusi pada situs pengikatan dan gerakan memutar yang menyatakan bagaimana dua rantai enzim saling berhubungan dalam bentuk bioaktif mereka, yang didefinisikan sebagai rantai A dengan residu asam amino 40-767 dan rantai B dengan residu asam amino 40-767. Berdasarkan penelitian *Structural Dynamics of DPP4 and Its Influence on the Projection of Bioactive Ligands* teridentifikasi tiga situs pengikatan dengan residu asam amino yang berbeda di masing-masing rantai A dan B dan direkomendasikan desain struktur mirip dengan 16 molekul yang hasil pencarian situs pengikatan menggunakan *FTSite* dan *FTMap* untuk mendapatkan kandidat inhibitor DPP4 yang efisien (Pantaleão dkk., 2018)

Pendekatan pengobatan diabetes melitus tipe 2 berdasarkan target pengobatan hormon *glucagon-like peptide* (GLP-1), merupakan hormon yang di sekresikan ke dalam peredaran darah seiring dengan masuknya makanan ke dalam tubuh. GLP-1 memiliki kemampuan untuk menstimulasi sekresi insulin dan menekan pelepasan glukagon dan meningkatkan massa sel β pankreas. Namun hormon ini cepat terinaktivasi oleh enzim DPP4. Inhibitor DPP4 akan meningkatkan kadar GLP-1 yaitu dengan cara memperpanjang masa kerja dari hormone GLP-1 dimana akan memperbaiki sel β pankreas serta sekresi insulin dan akan mengontrol kadar gula dalam darah (Sutton dkk., 2012). Obat inhibitor DPP4 yang telah beredar adalah

sitagliptin, vildagliptin, dan saxagliptin. Sitagliptin diedarkan oleh *US food* dan *Federation Drug Administration* (FDA) untuk terapi diabetes melitus tipe 2. Obat ini mempunyai mekanisme kerja menghambat degradasi dari GLP-1 dan GIP, dengan demikian meningkatkan level hormon inkretin. Sebagai hasilnya glukosa dan glukagon menurun dan insulin meningkat (Meece, 2007).

Enzim : *DPP4 – 6b1e*
Klasifikasi : *HYDROLASE*
Organisme : *Homosapiens*
Metode : *X-Ray Diffraction*
Resolusi : 1,62Å



Gambar II.1. Enzim DPP4 (a) dan Ligan alami kode LF7 (b)

Sumber : <https://www.rcsb.org/structure/6B1E>

II.2.1 Mekanisme enzim DPP4 terhadap diabetes

Glukagon-like peptide-1 (GLP1) merupakan hormon yang diekresikan dari sel-L usus ke dalam sirkulasi darah. Setelah mengikat reseptor G-protein berpasangan pada sel β , maka level cAMP intraseluler meningkat dan protein kinase, Epac 1 dan 2 diaktifkan, yang mengarah pada peningkatan sekresi insulin. Selanjutnya GLP-1 meningkatkan massa sel β dengan memediasi proliferasi dan diferensiasi serta menghambat apoptosis (Capuano dkk., 2013).

GLP-1 di pankreas menstimulasi sekresi insulin dengan cara yang bergantung pada asupan glukosa sambil menghambat sekresi glukagon. GLP-1 merangsang sekresi insulin ketika konsentrasi glukosa dalam plasma tinggi tetapi berkurang ketika konsentrasi glukosa plasma dibawah normal. Penelitian pada hewan telah menunjukkan bahwa mekanisme kerja GLP-1 terjadi secara langsung melalui aktivasi reseptor GLP-1 pada sel pankreas dan secara tidak langsung melalui saraf sensorik. GLP-1 memiliki waktu paruh plasma sekitar 2 menit, dan

hilangnya diatur terutama oleh enzim *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), yang dengan cepat membelah dan menonaktifkan GLP-1. (Aronoff dkk., 2004). Mekanisme inhibitor DPP4 adalah pada regulasi glukosa dengan memperpanjang efek GLP-1 dan GIP, maka akan meningkatkan sekresi insulin yang dimediasi glukosa dan menekan sekresi glukagon (Pratley dan Salsali, 2007).

II.3 *Andrographis Paniculata*

Andrographis paniculata merupakan tanaman yang banyak terdapat di benua Asia. Di Indonesia tanaman ini lebih dikenal dengan nama daerah sambiloto, yang juga dikenal dari rasanya yang khas pahit. Sambiloto telah digunakan sebagai obat secara empiris dengan menggunakan semua bagian tanaman atau bisa disebut herba sambiloto. Dari seluruh bagian tanaman sambiloto terkandung senyawa yang telah teruji secara *in-vivo* memiliki efek farmakologi, seperti terpen dan flavonoid (Okhuarobo dkk., 2014).

Andrographis paniculata adalah salah satu tanaman obat paling populer yang telah teruji efek farmakologinya dari berbagai ekstrak dan senyawa sebagai anti mikroba, sitotoksitas, anti protozoa, anti inflamasi, anti oksidan, imunostimulan, anti diabetes, anti infeksi, anti angiogenik. Studi fitokimia *andrographis paniculata* telah berhasil mengisolasi berbagai metabolit sekunder tanaman. Isolat tanaman yang telah teruji memiliki efek farmakologi sebagai antidiabetes berasal dari bagian tanaman sambiloto yang berada di atas tanah (*aerial part*) yang terdiri dari terpenoid yang merupakan sebagian besar komponen yang memiliki aktivitas terapeutik serta kategori lain dari senyawa yang juga telah diisolasi termasuk flavonoid. Maka dalam penelitian ini dipilih metabolit sekunder tanaman sambiloto dari bagian tanaman yang berada di atas tanah yang menghasilkan senyawa golongan terpenoid dan flavonoid (Okhuarobo dkk., 2014).

II.4 Optimasi Geometri

Optimasi geometri atau optimasi energi merupakan suatu langkah untuk mendapatkan struktur dengan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil di alam. Energi paling rendah untuk seluruh struktur yang mungkin ada dikenal sebagai global minimum energi (Leach, 2001).

Pada optimasi geometri, tidak hanya mendapatkan energi terendah saja tetapi juga didapatkan struktur geometri yang baru pada energi terendah itu. Energi terendah dan struktur geometri yang didapatkan dapat digunakan sebagai perbandingan pada eksperimen (Cramer, 2004).

II.5 Docking

Komputasi *docking* digunakan untuk memprediksi mode ikatan dua atau lebih molekul. Komputasi *docking* bergantung pada dua metode: pertama, medan gaya untuk memperkirakan energi bebas dari pengikatan kompleks, diperkirakan berdasarkan konformasi ikatan tertentu, dan kedua, metode pencarian untuk menjelajahi ruang konformasi yang tersedia untuk ligan dan target (Cosconati dkk., 2010). Program komputasi *docking* memiliki dua komponen penting yaitu algoritma pencarian dan fungsi skoring energi (Leach, 2001). Penelusuran algoritma dimulai dari penelusuran konformasi gaya kasar atau algoritma berbasis stokastik lebih efektif dan efisien. Secara umum, pemilihan sampel dari berbagai kemungkinan posisi akan mengarah ke kemungkinan yang lebih tinggi untuk menemukan tempat pengikatan yang benar. Banyak posisi yang dihasilkan dari pencarian ini, maka diperlukan suatu sistem untuk mengelompokkan sampel sesuai dengan kemungkinan ikatan : energetik, afinitas atau beberapa matriks lainnya. Fungsi penilaian evaluasi struktur ini akurat dalam menentukan energi pose serta efisien untuk menentukan peringkat struktur yang paling baik dalam waktu yang singkat (Jain, 2006). Hasil uji *docking* dapat disimulasikan menggunakan software *Discovery Studio Visualizer* dan amati interaksi ikatan ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor (Kroemer, 2007).

II.6.1 Parameter Analisis Docking

- a. interaksi ikatan, pada fungsi penilaian berbasis medan gaya klasik menilai energi ikatan dengan menghitung jumlah interaksi yang tidak terikat : elektrostatik dan van der waals. Dalam fungsi penilaian empiris energi ikat terurai menjadi beberapa komponen energi seperti : ikatan hidrogen, interaksi ionik, efek hidrofobik dan entropi (Meng dkk., 2012).
- b. Energi bebas gibs (ΔG) dalam satuan kkal/mol yang menyatakan kekuatan interaksi antara molekul ligan dengan targetnya, makin rendah nilai ΔG mendeskripsikan bahwa makin baik afinitas yang terjadi antara ligan dengan reseptor (Kroemer, 2007).
- c. Nilai konstanta inhibisi (K_i) yang menyatakan afinitas ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan bahwa semakin baik suatu ligan dalam menginhibisi suatu protein (Kroemer, 2007).

II.6 Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi komputer yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara atom dan molekul sebagai fungsi waktu berdasarkan parameter hukum fisika. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk menggambarkan pola, kekuatan, serta sifat aktifitas dari suatu protein tertentu. Protein target disini merupakan reseptor target suatu obat

yang digunakan dalam desain obat baru. Kekuatan suatu molekul dihitung menggunakan komputer untuk mengetahui pergerakan molekul tersebut (Vlachakis dkk., 2014).

II.6.1 Parameter Analisis Dinamika Molekul

1. Jumlah Ikatan Hidrogen

Parameter ikatan hidrogen merupakan inti dari pembentukan dan stabilisasi struktur. Keakuratan penggabungan geometri ikatan hidrogen menjadi sangatlah penting dalam fungsi energi potensial. Dalam teori kimia, studi mengenai jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk dari simulasi dinamika molekul memberikan analisis statistik terhadap kestabilan interaksi. Parameter yang dianalisis adalah presentase *occupancy* (*%occupancy*) masing-masing, dan yang dapat dikatakan stabil adalah yang memiliki nilai diatas lima puluh persen (>50%) (Lindhahl, 2008).

2. *Root Mean Square Deviation* (RMSD)

Dalam analisis dinamika molekul, gerakan struktur pada waktu tertentu dapat dianalisis dengan mengamati parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD). RMSD merupakan perpindahan akar rata-rata kuadrat atom pada saat simulasi dibandingkan dengan struktur awalnya atau pada konformasi awal senyawa dengan reseptor saat simulasi pertama. (Martinez, 2016). Dalam simulasi dinamika molekul, analisis RMSD merupakan analisis utama yang memungkinkan untuk mengamati stabilitas, keseimbangan dan fleksibilitas suatu protein (Lindhahl, 2008).

3. *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF)

Root Mean Square Fluctuation (RMSF) merupakan ukuran perpindahan suatu atom atau kelompok atom tertentu terhadap struktur referensi yang dirata-ratakan berdasarkan jumlah atom. RMSF dari masing-masing residu mudah untuk dihitung melalui lintasan, tetapi yang lebih penting mereka dapat dikonversi menjadi faktor suhu yang juga ada untuk setiap atom dalam file PDB. Pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein (Vlachakis dkk., 2014).

4. *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area* (MMGBSA)

Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area (MMGBSA) merupakan metode aksesibilitas pelarut untuk memperoleh energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA adalah parameter dalam perkiraan aditivitas, di mana perubahan energi bebas bersih diperlakukan sebagai jumlah komponen energi individu yang komprehensif, masing-

masing dengan dasar fisik. Pada metode dinamika molekul untuk memperkirakan energi bebas ikatan, dan konstanta inhibisi (Desheng dkk., 2011).

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Metode penelitian ini dilakukan secara kualitatif yang meliputi persiapan ligan dan target uji, optimasi geometri, validasi dan simulasi *docking* senyawa uji dengan target enzim, simulasi dinamika molekuler dan interpretasi hasil.

Penelitian ini dimulai dengan persiapan ligan dan reseptor. Persiapan ligan dilakukan dengan membuat struktur 2D dan 3D dari ligan senyawa terpen dan flavonoid sambiloto menggunakan program *Chem Office*. Target uji yang digunakan adalah enzim DPP4 yang diperoleh dari PDB (Protein Data Bank) dengan kode 6b1e. Optimasi geometri dilakukan terhadap struktur senyawa metabolit sekunder dari tanaman sambiloto dengan metode DFT (*Density Functional Theory*) dan *basis set 6-31G* dengan menggunakan *Gaussian09*.

Validasi *docking* dilakukan dengan melihat parameter nilai *RMSD*. Metode penelitian dinyatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$. Selanjutnya dilakukan *docking* masing-masing senyawa uji dari sambiloto dengan reseptor target DPP4 menggunakan *Autodocktools 4.2.3* untuk mengetahui nilai energi bebas (*Gibbs Energy/ ΔG*), konstanta inhibisi (*Ki*) dan interaksinya dengan target.

Simulasi dinamika molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak *AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement)* versi 16 yang dilakukan terhadap senyawa yang memiliki energi bebas (*Gibbs Energy/ ΔG*), konstanta inhibisi (*Ki*) dan interaksi yang paling baik dengan target DPP4 untuk melihat stabilitas ikatan interaksi antara senyawa uji dan target yang dihasilkan dari proses *docking* senyawa.

BAB IV PROSEDUR PENELITIAN

IV.1 Preparasi Ligan Uji

Senyawa terpen dan flavonoid dari tanaman sambiloto dibuat struktur dua dan tiga dimensi terlebih dahulu, dilanjutkan dengan analisis sifat fisikokimia molekul masing-masing senyawa uji. Struktur dua dimensi dibuat menggunakan *ChemDrawProfessional* 2015 dalam paket program *ChemOffice* 2015.

IV.2 Preparasi Target Uji

Struktur makromolekul enzim *DPP4* diunduh melalui *Protein Data Bank* dengan kode *PDB 6b1e*.

IV.3 Penentuan Parameter Fisikokimia

Optimasi geometri dilakukan menggunakan *software Gaussian09* untuk mendapatkan nilai energi minimum dan posisi molekul senyawa uji yang paling stabil. Metode optimasi geometri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Density Functional Theory (DFT)* dengan fungsi *Hybrid B3LYP* dan basis set *6-31G*. Penentuan parameter fisikokimia yang diperlukan untuk mengetahui karakteristik senyawa uji. Parameter fisikokimia yang dianalisis antara lain nilai *CLogP*, *BM*, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen..

IV.4 Validasi Lokasi Penambatan Ligan

Validasi metode *docking* dilakukan dengan menambahkan kembali ligan alami pada struktur Kristal *PDB* yang telah dipisahkan sebelumnya. *Gridbox* diatur pada daerah sentral dari ligan alami. Perhitungan *docking* dengan *Number of GA Runs* sebanyak 100 dan *Maksimum Number of elevans long*. Validasi metode *docking* dinyatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$. Kemudian analisis interaksi ligan alami pada sisi aktif target *6b1e*.

IV.5 Simulasi Penambatan Ligan Uji

Simulasi *docking* dilakukan dengan mengganti ligan alami dengan ligan uji yang telah dilakukan optimasi geometri, selanjutnya dilakukan *docking* senyawa uji terhadap target *6b1e* pada sisi aktifnya sesuai dengan ukuran dan daerah *gridbox* yang telah ditentukan dari hasil validasi. Perhitungan *autogrid* dilakukan dengan parameter yang didapat pada saat validasi *docking*. Interpretasi hasil dengan melihat *binding energy ΔG* (kkal/mol) yang menyatakan kekuatan interaksi ligan dengan reseptor dan nilai Konstanta inhibisi (*Ki*) yang menggambarkan afinitas ligan dengan reseptor. Hasil dari *docking* senyawa uji divisualisasikan dengan

menggunakan *software Discovery Studio Visualizer* untuk melihat interaksi ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada sisi aktif target.

IV.6 Simulasi Dinamika Molekul Ligan-Reseptor

Simulasi dinamika molekul senyawa terpen dan flavonoid dari sambiloto dengan target DPP4 dilakukan dengan program AMBER 15. Dinamika molekul dilakukan untuk mendapatkan simulasi interaksi antara target enzim dan ligan uji yang mendekati kondisi fisiologis tubuh manusia. Terdapat beberapa tahapan simulasi dinamika molekul yaitu ;

1. Persiapan file target enzim dan ligan uji simulasi dinamika molekul dimulai dengan mempersiapkan masing-masing ligan dan reseptor. Ligan yang digunakan adalah senyawa terbaik yang didapatkan dari hasil *docking* senyawa uji. Pemeriksaan target enzim yang diunduh dari website www.rcsb.org dengan kode 6b1e meliputi urutan asam amino serta muatan hidrogen.
2. Persiapan topologi yang meliputi persiapan target enzim dan persiapan molekul ligan yang akan digabungkan kembali menjadi kompleks. Tahapan topologi menggambarkan susunan atom – atom pada suatu molekul susunannya tidak mengalami perubahan baik dari awal sampai akhir simulasi namun posisinya berubah.
3. Tahapan solvasi protein dan ligan menggunakan *grid box* untuk simulasi, yang kemudian ditambahkan dengan pelarut air, ion seperti (Na⁺ , K⁺ , Ca²⁺ , Cl⁻ H) untuk mencapai keadaan netral dengan tujuan mengkondisikan sesuai dengan fisiologis tubuh manusia.
4. Minimisasi energi, untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan, terdiri dari tiga tahap yaitu, tahap pertama minimisasi air tanpa melibatkan molekul enzim. Tahap kedua minimisasi terhadap backbone enzim untuk menghilangkan interaksi yang tidak diharapkan. Tahap ketiga minimisasi seluruh topologi.
5. Pemanasan topologi yang dilakukan dalam tiga tahap sampai pada temperatur fisiologis 310°K dengan tekanan 1Atm. tahap pertama pemanasan dari tempertatur 0 – 100°K. Tahap kedua pemanasan pada temperatur 100 - 200°K. Tahap ketiga pemanasan pada temperatur 200 - 310°K. Dilakukan tiga tahap pemanasan topologi dengan tujuan menghindari rusaknya enzim terhadap pemanasan dengan temperatur tinggi.
6. Equilibrasi dilakukan agar suhu, tekanan dan volume dalam keadaan konstan saat simulasi.
7. Produksi dilakukan dalam selang waktu ≥ 50 ns.
8. Analisis trajektori ligan dan reseptor protein dilakukan dengan menentukan RMSD dan RSMF terhadap struktur asal.
9. Visualisasi hasil produksi dinamika molekul dapat menggunakan aplikasi VMD.

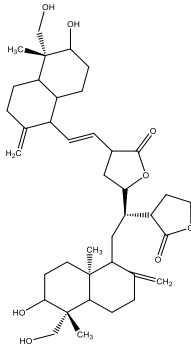
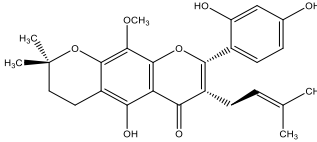
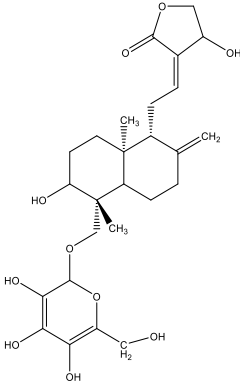
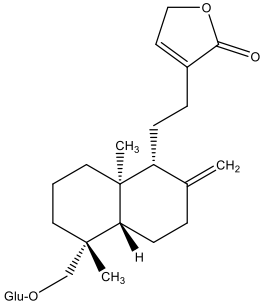
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

Herba sambiloto telah dikenal memiliki aktivitas sebagai antidiabetes secara *in vitro* dan *in vivo*. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan diteliti untuk pengembangan senyawa golongan terpen dan flavonoid dari sambiloto secara *in silico* untuk mendapatkan senyawa induk yang berpotensi sebagai antidiabetes. Metode yang digunakan adalah penambatan molekul dan dinamika molekul.

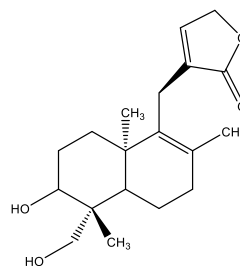
V.1 Ligan uji

Dalam penelitian ini terdapat 14 ligan uji (tabel VI.1) yang dipilih yaitu berasal dari tanaman *Andrographis paniculata* dengan nama lain sambiloto. Senyawa yang dipilih merupakan metabolit sekunder yang terdiri dari 4 senyawa flavonoid dan 10 senyawa terpen (Tabel VI.1). Senyawa yang memiliki aktivitas antidiabetes terletak pada bagian tanaman yang berada di atas tanah, dimana terdapat beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu golongan flavon dan terpen (Okhuarobo dkk., 2014).

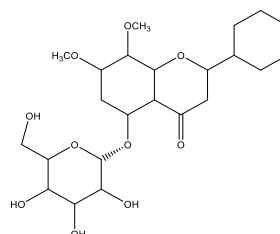
Tabel V. 1 Ligan uji – senyawa terpen dan flavonoid tanaman sambiloto (Okhuarobo dkk., 2014).

Kode Senyawa	Nama Senyawa	Struktur dua dimensi
L1	Bisandrographolide	
L2	Dihydroskullcaplavone	
L3	Andrographiside	
L4	Neoandrographolide	

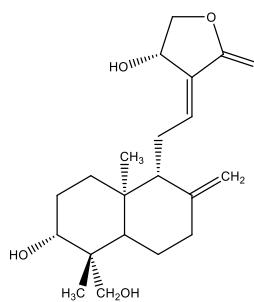
L5 Deoxyandrographolide



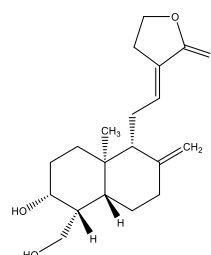
L6 Andrographidin A



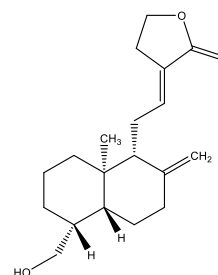
L7 Andrographolide



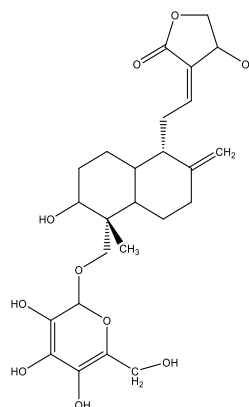
L8 14-deoxy-11,12-
Didehydroandrographolide



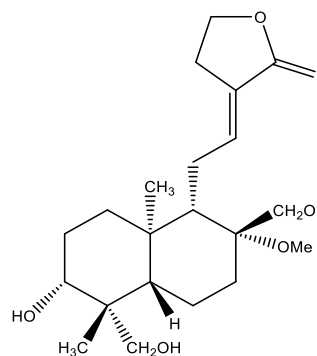
L9 Andrographanin



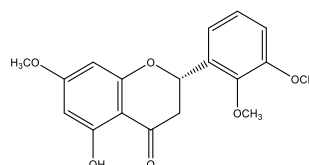
L10 Andrographoside



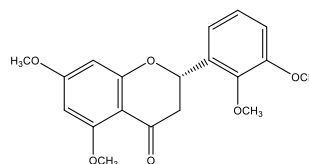
L11 8a-methoxyl-14-deoxy-
176-
hydroxyandrographolid
e



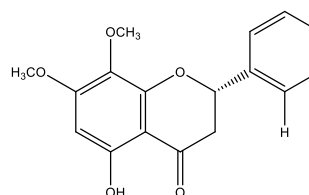
L12 5-hidroksi-7,2',3'-
trimethoxyflavones



L13 5,7,2',3'-
tetramethoxyflavones



L14 7-O-methylwogonin



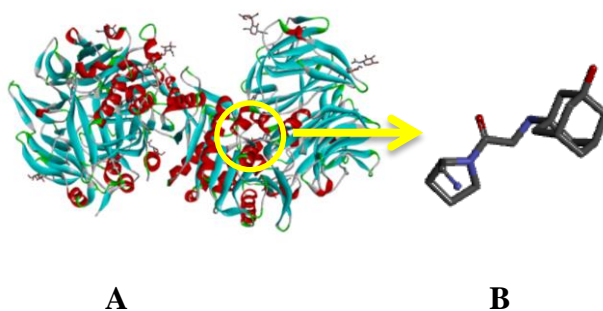
Berdasarkan studi *in vivo* diketahui 14 senyawa metabolit sekunder dari tanaman sambiloto yang terdiri dari 10 senyawa terpen yang ditandai dengan kode L1, L3 – L11 serta 4 senyawa flavonoid yang ditandai dengan kode L2, L12 – L14. Senyawa telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, dimana diujikan bahan kering tanaman atau simplisia dan ekstrak kering dari tanaman sambiloto terhadap tikus yang diinduksi streptozotocin yang membuat keadaan tikus menjadi hiperglikemik dengan kadar gula darah antara 300-500mg/dL. Berdasarkan hasil pengujian dinyatakan bahwa bahan kering dan ekstrak kering dari sambiloto dapat menurunkan kadar gula darah tikus secara signifikan yaitu bahan kering sambiloto sebesar 52,89% dan ekstrak kering sambiloto sebesar 61,81% (Husen dkk., 2004). Namun belum diketahui dengan pasti target kerja dari senyawa ini, maka untuk itu perlu dilakukan analisis target senyawa antidiabetes menggunakan studi penambatan molekul dan dinamika molekul.

V.2 Enzim target

Pengujian senyawa sebagai antidiabetes akan diujikan terhadap enzim DPP4, dimana enzim ini berperan terhadap regulasi glukosa dalam plasma. Inhibitor enzim DPP4 telah digunakan dalam pengobatan diabetes yang berkorelasi langsung terhadap penurunan glukosa plasma (Meece, 2007). Enzim yang dipilih adalah DPP4 dengan identitas sebagai berikut.

Tabel V.2. Identitas Reseptor 6B1E (Berger dkk., 2017)

<i>PDB ID</i>	6B1E
Metode	Difraksi sinar-X (XRD)
Resolusi	1,77 Å
Jumlah Rantai	2
Jumlah Residu	728
Komponen Protein	2- <i>[(1r,3s,5R,7S)-3-hydroxytricyclo[3.3.1.1~3,7~]decan-1-yl]amino</i> -1- <i>[(2S)-2-[(E)-iminomethyl]pyrrolidin-1-yl]ethan-1-one (LF7), N-ACETYL-D-GLUCOSAMINE (NAG), ION Sodium (NA)</i>



Gambar V.2. Enzim DPP-4 kode PDB 6B1E. (A) dan Ligan alami vildagliptin (LF7) (B) (Berger dkk., 2017)

Enzim ini memiliki situs pengikatan yang relatif besar sehingga membuat konformasi ligan lebih fleksibel terlepas dari struktur kimianya yang memungkinkan konformasi inhibitor yang beragam. Situs pengikatan enzim DPP4 terbagi menjadi 4 bagian dengan kode (S1, S1', S2, dan S2') dimana setiap inhibitor dapat menempati salah satu sisi pengikatan tersebut. DPP4

secara khusus memotong di peptida dari ujung N substrat peptida yang biasanya memiliki residu prolin (Pro) atau alanin (Ala) pada posisi kedua dari belakang (posisi P1). Substrat P1 terikat di situs protein S1 yaitu pada Ser630 secara hidrofobik. Pada posisi P2 terdapat N-terminus substrat peptide yang berinteraksi dengan residu Glu 205 dan Glu206 yang merupakan bagian dari sisi S2, sisi ini sebagian besar hidrofobik termasuk rantai samping Arg125, Phe357 dan Tyr547. Residu asam amino Arg125 membentuk ikatan hidrogen dengan atom oksigen karbonil substrat Tyr1 dan Ser3 pada sisi S1'. Sedangkan pada sisi S2' terdapat residu asam amino Trp629 yang membentuk interaksi hidrofobik untuk rantai Lys4. Vildagliptin merupakan ligan alami dari enzim DPP-4 dengan kode PDB 6B1E yang merupakan inhibitor kovalen reversibel yang menempati sisi S2 (Berger dkk., 2017).

V.3 Parameter sifat fisikokimia

Sifat fisikokimia senyawa memiliki peran nya masing-masing dalam menentukan karakteristik dari senyawa tersebut. Maka diperlukan adanya analisis parameter fisikokimia dari senyawa yang akan diujikan lebih lanjut dengan tujuan untuk memprediksi karakteristik senyawa serta proses metabolismenya di dalam tubuh. Parameter yang dianalisis meliputi BM, CLogP, donor dan akseptor hidrogen (Tabel V.2).

Tabel V.2 Analisis sifat fisikokimia ligan uji

Senyawa	BM (g/mol)	CLogP	Donor H	Akseptor H
L1	664,88	4,57	4	8
L2	422,48	4,17	4	7
L3	480,27	3,11	6	9
L4	480,60	2,27	4	7
L5	334,36	2,72	2	3
L6	474,55	0,32	4	10
L7	350,46	1,97	3	4
L8	332,44	2,61	2	3
L9	318,46	4,02	1	2
L10	512,60	0,23	6	9
L11	382,24	1,69	4	6
L12	330,11	3,29	4	6
L13	344,36	2,29	4	6
L14	298,29	2,43	1	5

V.3.1 Bobot molekul (BM)

Bobot molekul (BM) menunjukkan besar atau kecilnya suatu senyawa yang dapat menentukan distribusi obat di dalam tubuh. Senyawa akan didistribusikan di dalam tubuh dan menembus membran sel melalui proses difusi (Syahputra dkk., 2014). Maka, senyawa yang terlalu besar akan sukar didistribusikan di dalam tubuh. Berdasarkan aturan Lipinski, syarat dari BM tidak lebih dari 500. Ligan L1, L3 dan L10 memiliki nilai BM yang besar, artinya ligan memiliki konformasi struktur yang besar yang mana akan mempegaruhi proses distribusi nya dalam tubuh, walaupun nilai fisikokimia dari ligan tidak memenuhi kriteria Lipinski, jika memiliki aktivitas yang baik maka dapat dilanjutkan analisis calon obat dengan memodifikasi rute pemberian.

V.3.2 *Calculated LogP* (CLogP)

Seluruh ligan uji memiliki nilai CLogP kurang dari 5. Nilai CLogP yang terlalu tinggi dapat menyebabkan senyawa akan menetap lebih lama pada membran lipid yang akan cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi. Sedangkan jika nilai CLogP terlalu negatif akan menyebabkan senyawa memiliki karakteristik yang hidrofilik dan menyebabkan senyawa akan sulit dalam menembus membrane lipid (Syahputra dkk., 2014).

V.3.3 Donor dan akseptor hidrogen

Analisis jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen menyatakan jika semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi juga energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi, dengan pembatasan dalam aturan Lipinski bahwa jumlah donor ikatan hydrogen kurang dari 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski dkk., 1997). Terdapat ligan yang tidak memenuhi syarat yaitu L3 dan L10 dengan nilai donor hidrogen 6, hal ini akan menyebabkan susahnya proses absorpsi ligan.

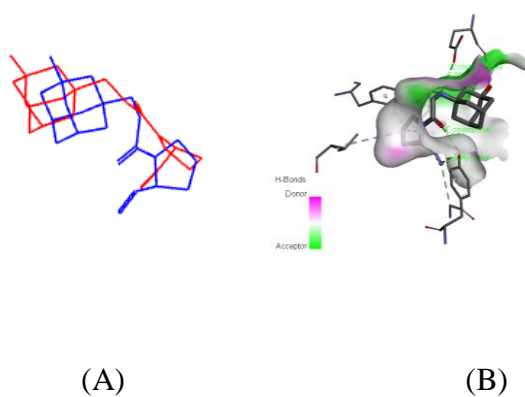
V.4 Validasi lokasi penambatan ligan

Validasi penambatan molekul dilakukan dengan menambatkan ulang reseptor dengan ligan alaminya. Tujuannya adalah untuk menentukan lokasi pengikatan dari ligan alami dengan target, dari validasi yg dilakukan diperoleh bahwa lokasi penambatan ligan yang diperoleh adalah pada ukuran grid 40x, 70y, dan 40z dengan hasil (Tabel VI.4).

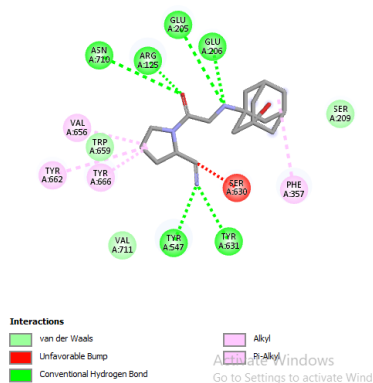
Tabel V.3 Energi Hasil Redocking ligan alami

Kode	Nama Senyawa	RMSD	ΔG (kkal/mol)	Ki (μM)
	Ligan			
LF7	Alami	1,7 Å	-6,72	11,91
	LF7			

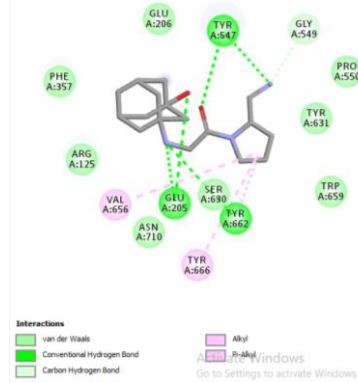
Redocking Ligan Alami LF7



Gambar V.3 Overlay redocking ligan alami. Warna merah menunjukkan ligan alami sebelum redocking dan warna biru menunjukkan ligan alami setelah di redocking (A) Interaksi antara ligan alami dengan target hasil redocking (B)



Ligan alami sebelum validasi



Ligan alami setelah validasi

Gambar V.4 Interaksi antara ligan alami dengan target hasil redocking

Hasil dari penambatan ulang ligan alami dapat dilihat dari gambar VI.4, dimana ligan alami lf7 masih menempati sisi pengikatan S2 yang mana terdiri dari dengan residu asam amino Glu 205 dan Glu206 (Tabel VI.5) yang merupakan bagian dari sisi S2, sisi ini sebagian besar hidrofobik termasuk rantai samping Arg125, Phe357 dan Tyr547 (Berger dkk., 2017). Hasil ini juga selaras dengan RMSD yang diperoleh dimana RMSD ini merupakan parameter validasi metode penambatan molekul yang menunjukkan nilai $1,7\text{\AA}$ atau $< 2\text{\AA}$ yang menunjukkan jika metode yang akan digunakan telah valid. RMSD disini menyatakan kesamaan posisi struktur sebelum dan setelah dilakukan penambatan ulang ligan alami (sargsyan dkk.,2017).

V.5 Penambatan ligan uji

Penambatan 14 ligan uji dilakukan menggunakan algoritma yang sudah tervalidasi. Kekuatan serta kestabilan ikatan pada kompleks target enzim dan ligan uji dapat dilihat dari besarnya energi ikatan yang terbentuk. Energi ikatan berasal dari energi bebas yang dilepaskan saat interaksi terjadi pada kompleks target enzim dan senyawa uji yang terbentuk.

Tabel V.4 Energi Bebas Ikatan (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI) Penambatan Ligan Uji - Reseptor

Kode	ΔG (kcal/mol)	Ki (μM)	Jumlah ikatan hidrogen	Donor	Akseptor	Jarak
LF7	-6,72	11,91	5	LF7 : O20	TYR547 : OH	2,58
				LF7 : N2	TYR547 : OH	2,70
				LF7 : N12	TYR662 : OH	3,01
				LF7 : O4	GLU205 : O	2,99
				LF7 : N12	GLU205 : OE2	2,86
L1	-8,39	0,71	3	S1 : H96	GLU206 : OE1	1,96
				S1 : H90	GLU206 : OE1	2,24
				S1 : H95	ASP709 : OD2	1,85
L2	-6,60	14,47	-	-	-	-
L3	-6,72	11,90	7	ARG125 : NH2	S3 : O9	2,94
				SER630 : OG	S3 : O3	2,65
				ASN710 : ND2	S3 : O9	3,12
				S3 : H74	TYR662 : OH	1,90
				S3 : H73	GLU205 : OE2	3,05
L4	-6,34	22,37	-	S3 : H58	S3 : O2	2,01
				S3 : H75	ASP739 : OD1	2,35
				-	-	-

L5	-5,94	44,34	-	-	-	-
L6	-5,36	118,6 7	-	-	-	-
L7	-6,45	18,76	-	-	-	-
L8	-5,59	80,01	-	-	-	-
L9	-6,26	25,74	-	-	-	-
L10	-5,24	114,3 8	-	-	-	-
L11	-5,43	103,8 7	-	-	-	-
L12	-6,46	18,34	-	-	-	-
L13	-5,46	99,63	-	-	-	-
L14	-5,99	40,45	-	-	-	-

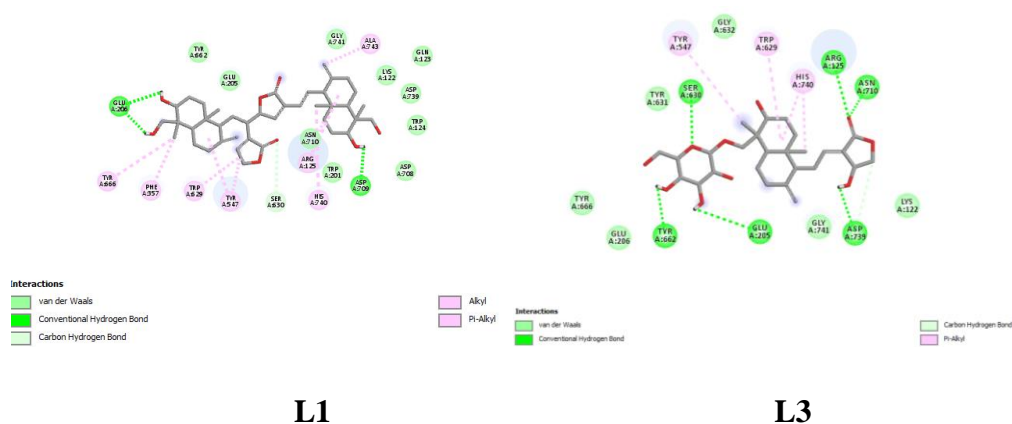
Keterangan : (-) tidak dilakukan analisis ikatan hidrogen

Berdasarkan data penelitian tersebut terdapat dua ligan uji yang memiliki nilai energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih kecil dari ligan alami yaitu ligan L1 dan L3. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan yang terjadi antara ligan uji dengan target lebih stabil dari ligan alami serta memiliki aktivitas yang lebih baik. Energi ikatan merupakan salah satu sumber energi bebas yang digunakan oleh enzim untuk menurunkan energi aktivasi dalam reaksi katalik. Semakin negatif nilai energi ikatan maka interaksi yang terjadi semakin stabil dan kuat (Kim dan Skolnick, 2008).

Penambatan molekul antara protein DPP-4 dengan ligan vildagliptin menunjukkan situs pengikatan pada protein DPP-4 dengan asam amino berikut terlibat dalam interaksi ikatan hidrogen: Arg125, Glu205, Glu206, Ser209, Arg358, Tyr547, Tyr631, Tyr662, Tyr666, dan Asn710. Hasil penambatan molekul mendapatkan nilai energi $-5,64$ kkal/mol (Meduru dkk., 2016).

Tingginya energi ikatan dapat dipengaruhi oleh jumlah derajat torsional (*rotatable bonds*) yang dimiliki oleh suatu senyawa sehingga akan menurunkan afinitas ikatannya. Hal ini juga terlihat pada konstanta inhibisi (K_i) dari senyawa yang memiliki nilai yang besar. K_i dapat memberikan gambaran mengenai afinitas interaksi, semakin kecil K_i maka kesetimbangan reaksi cenderung ke arah pembentukan kompleks. Kompleks dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik jika memiliki K_i pada skala mikromolar. Pada data penelitian didapat senyawa L1 dan L3 memiliki nilai energi bebas dan konstanta inhibisi yang lebih rendah dari ligan alami, hal ini menunjukkan bahwa hubungan antara nilai energi ikatan dengan konstanta inhibisi adalah berbanding lurus (Kim dan Skolnick, 2008).

Interaksi Senyawa Uji – Target Uji



Gambar V.5 Visualisasi Interaksi Senyawa Uji – Target Uji

Ikatan yang terjadi pada kompleks target enzim dan senyawa uji dianalisis menggunakan software *Discovery Studio*. Ikatan yang diamati yaitu ikatan hidrogen yang memiliki kriteria yaitu jarak antara hidrogen dengan atom keelektronegatif berada dalam rentang 2,5-3,5Å. Residu asam amino enzim yang membentuk ikatan hidrogen dengan ligan alami dan senyawa uji dapat dilihat pada tabel V.6 dengan keterangan donor, akseptor dan jarak ikatan. Ikatan hidrogen memberikan kontribusi terhadap afinitas ligan terhadap enzim karena terjadinya interaksi elektrostatik antara atom oksigen atau nitrogen ligan dengan atom hidrogen residu asam amino enzim atau sebaliknya (Kim dan Skolnick, 2008).

Untuk menghasilkan suatu respon biologis yang baik, ikatan yang terjadi antara reseptor – ligan harus relatif lemah, tetapi masih cukup kuat untuk berkompetisi dengan ikatan lain pada situs pengikatan. Gabungan antara ikatan-ikatan yang relatif lemah seperti ikatan hidrogen, ikatan ionik (elektrostatik), van der Waals dan ikatan hidrofobik akan memperkuat interaksi antara reseptor dengan ligan (Diyah dkk., 2015). Berdasarkan nilai energi bebas, konstanta inhibisi dan interaksi yang terbentuk antara target enzim dan senyawa uji dipilih 2 senyawa terbaik, yaitu senyawa L1 dan L3 untuk diujikan secara dinamika molekul. Senyawa L1 menempati sisi pengikatan S2, S1' dan S2' dikarenakan senyawa L1 mempunyai struktur yang besar, hal ini menunjukkan senyawa berpotensi sebagai inhibitor emzim DPP4. Kemudian untuk senyawa L3 menempati semua sisi pengikatan dari enzim DPP4, hal ini menunjukkan jika senyawa L3 memiliki konformasi yang fleksibel, senyawa ini dapat berpotensi menjadi inhibitor enzim DPP4.

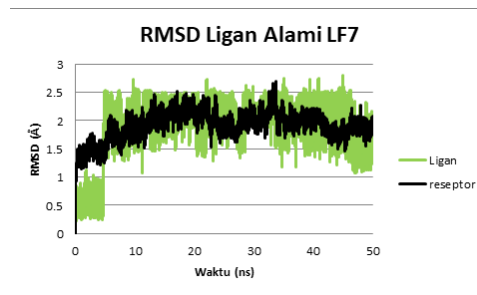
Berdasarkan hasil penentuan parameter fisikokimia serta analisis energi dan ikatan penambatan molekul, diperoleh ligan yang dapat dilanjutkan analisis menggunakan dinamika molekul adalah L1 dan L3. Pemilihan ligan L1 dan L3 berdasarkan energi penambatan molekul, namun perlu adanya modifikasi struktur untuk mengoptimalkan kemampuan absorpsi ligan.

V.6 Dinamika Molekul

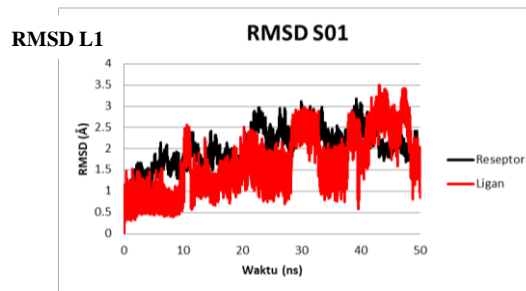
Dari studi hasil penambatan ligan dipilih 2 senyawa terbaik dari 14 senyawa dengan parameter energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi terbaik yang lebih kecil dari ligan alami, kemudian dilanjutkan ke analisis dinamika molekul.

V.6.1 Analisis RMSD Ligan-Reseptor

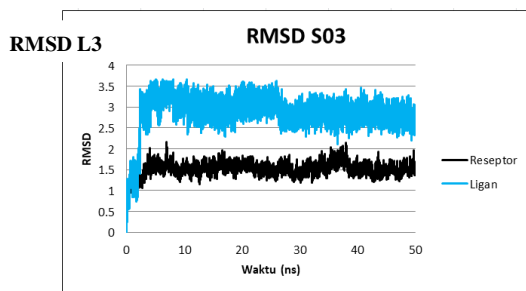
RMSD memungkinkan perbandingan antara struktur protein awal yang terlipat dan struktur yang sebagian atau seluruhnya terbuka. Oleh karena itu, telah digunakan sebagai koordinat reaksi dalam simulasi pelipatan protein. Hal ini juga memungkinkan pelacakan perubahan dinamis mengikuti modifikasi protein. Simulasi MD dari protein yang lebih besar sering menghasilkan RMSD yang lebih besar (Sargsyan dkk., 2017).



(a)



(b)



(c)

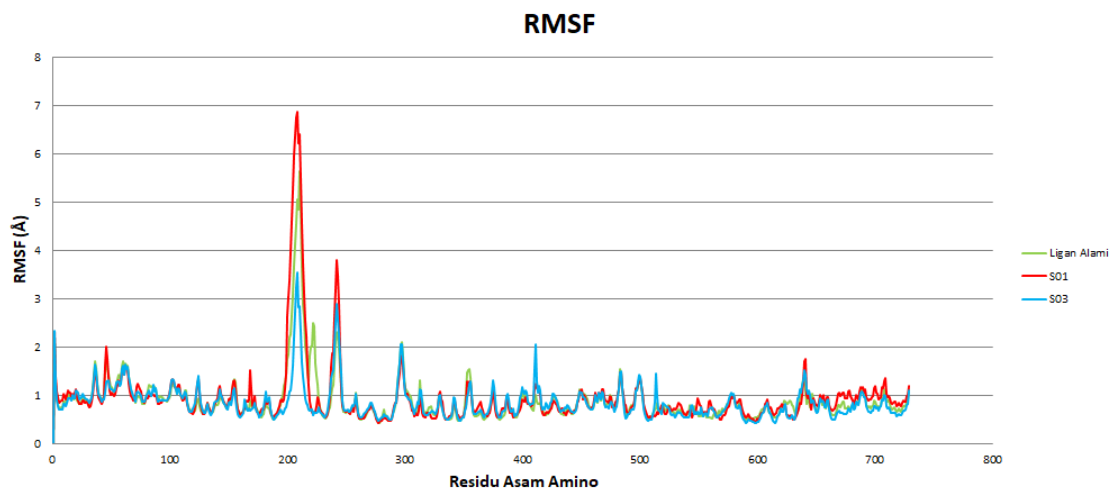
Gambar V.6 RMSD Ligan Alami LF7(a), Ligan L1 (b), dan Ligan L2 (c)

Hasil grafik RMSD struktur protein dengan 728 asam amino menunjukkan fluktuasi yang bervariasi, ini menunjukkan protein yang digunakan bergerak dinamis selama waktu simulasi 50ns. Ligan yang berinteraksi dengan protein memiliki nilai RMSD yang berbeda-beda. Ligan alami bergerak secara fleksibel pada situs pengikatan protein yang menyebabkan tingginya nilai RMSD pada waktu 5ns, yang kemudian cukup stabil. Ligan uji L1 bergerak secara fleksibel selama waktu simulasi 50ns dan tidak mendapatkan konformasi yang stabil. Berbeda dengan ligan L1, RMSD ligan L3 menunjukkan hasil bahwa ligan L3 mengalami pergerakan dinamis pada saat simulasi dinamika molekul berlangsung 4ns, yang kemudian stabil sampai simulasi berhenti pada waktu 50ns. Berdasarkan hasil pengamatan terhadap grafik RMSD dapat diketahui bahwa ligan L3 menunjukkan interaksi ligan-reseptor yang stabil.

Berdasarkan penelitian RMSD dari ligan alami vildagliptin (lf7) menunjukkan nilai $1,64\text{\AA} \pm 0,26\text{\AA}$ dengan pengujian selama 1000 ns menunjukkan bahwa ligan stabil selama proses dinamika molekul.

V.6.2 Analisis RMSF Ligan-Reseptor

RMSF merupakan ukuran perpindahan atom atau kelompok atom tertentu yang terkait dengan struktur referensi yang dirata-rata berdasarkan jumlah atom (Zubair dkk., 2014).



Keterangan :

- LF7 : 
- L1 : 
- L2 : 

Gambar V.7 RMSF Ligan Alami, Ligan L1, dan Ligan L3

Grafik RMSF menunjukkan terjadi fluktuasi yang sangat tinggi pada residu asam amino urutan 200-300. Residu asam amino hidrofobik cenderung memiliki puncak yang lebih tinggi dibandingkan residu asam amino yang bersifat polar. Grafik RMSF menunjukkan bahwa protein memiliki fleksibilitas yang tinggi dilihat dari fluktuasi yang terjadi pada residu asam amino pada situs pengikatan yang dapat diamati pada tabel VI.7.

Tabel V.5 Interaksi Ligan Alami-Reseptor

Interaksi	Residu	Interaksi	Residu
Van Der Waals	ARG87	Π -Alkyl	VAL618
Van Der Waals	GLU167	Van Der Waals	TRP621
Van Der Waals	GLU168	Conventional H-Bond	TYR624
Van Der Waals	PHE319	Conventional H-Bond	TYR628
Van Der Waals	TYR509	Van Der Waals	ARG631
Van Der Waals	GLY511	Van Der Waals	ASN672
Van Der Waals	PRO512	Van Der Waals	VAL673
Van Der Waals	SER592	Van Der Waals	HID702
Van Der Waals	TYR593		

Berdasarkan data RMSF (Gambar VI.7) residu yang berperan pada interaksi ikatan ligan dan reseptor menunjukkan fluktuasi yang rendah menggambarkan interaksi yang stabil. Asam amino Tyr624 dan Tyr628 merupakan asam amino penting dalam pembentukan ikatan hidrogen kompleks pada simulasi dinamika molekul dan menunjukkan fluktuasi yang rendah dilihat dari nilai RMSF $<1\text{\AA}$. Residu yang memiliki fleksibilitas yang rendah dinyatakan lebih stabil (Meduru dkk.,2016).

V.6.3 Analisis MM/PBSA dan MM/GBSA Ligan-Reseptor

MM/PBSA dan MM/GBSA digunakan untuk menentukan peringkat afinitas pengikatan kompleks ligan-reseptor dengan analisis energi bebas total dari kompleks ligan-reseptor. Panjang simulasi MD memiliki dampak yang jelas pada prediksi, dan simulasi MD yang lebih lama tidak selalu diperlukan untuk mencapai prediksi yang lebih baik. Prediksi MM/GBSA sangat sensitif terhadap konstanta dielektrik terlarut, yang berhubungan langsung dengan karakteristik ikatan. Konstanta dielektrik pada MMGBSA mempengaruhi stabilitas dan afinitas ikatan ligan-reseptor (Hou, 2011).

Tabel V.6 Nilai Energi Ikatan

Senyawa	Komponen Energi (Kcal/mol)						
	vdW	EEL	EGB	ESURF	ΔG gas	ΔG solv	ΔG tot
L3	-37,94	-23,19	36,67	-5,66	-61,13	31,01	-30,12
L1	-40,06	-39,94	56,26	-4,90	-79,99	51,36	-28,63
LF7	-15,58	-12,33	20,96	-2,01	-27,91	18,95	-8,96

Keterangan :

vdW : Interaksi van der Waals

EEL : Energi elektrostatik

EGB : Kontribusi elektrostatik terhadap energi bebas solvasi

ESURF : Kontribusi non-polar terhadap energi bebas solvasi

ΔG_{gas} : vdW + EEL (Energi mekanika molekul dalam fase gas)

ΔG_{solv} : EGB + ESURF (Energi bebas solvasi)

ΔG_{tot} : vdW + EEL + EGB + ESURF (Energi bebas ikatan)

Tabel VI.8 menunjukkan senyawa uji L3 dan L1 lebih baik dari ligan alami, maka dapat diprediksi jika senyawa uji memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik dari ligan alami. Dari Tabel VI.8 pun diketahui bahwa energi dari interaksi van der Waals merupakan komponen energi yang paling berpengaruh terhadap sistem yang menunjukkan bahwa residu asam amino penyusun binding site reseptor DPP-4 didominasi oleh residu yang bersifat hidrofobik terutama pada sisi S2.

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

VI.1 Kesimpulan

Hasil docking paling baik diperoleh ligan bisandrographolide yang memiliki energi bebas ikatan -8,39 kkal/mol, dan andrographiside memiliki energi bebas ikatan -6,72 kkal/mol dan memiliki interaksi yang sama dengan ligan alami pada binding site enzim DPP4.

Hasil dinamika molekul ligan 1 (bisandrographolide) menunjukkan interaksi yang kurang stabil dalam waktu pengujian 50ns. Sedangkan untuk ligan 3 (andrographiside) menunjukkan interaksi yang stabil pada waktu simulasi 4ns dalam 50ns.

VI.2 Saran

Pada penelitian yang dilakukan ini, diperlukan adanya penelitian lebih lanjut apakah efek farmakologi dan toksisitas dari senyawa flavonoid dan terpen terhadap target reseptor DPP4 sebagai antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrew, R. L. (2001). *Molecular modeling principles and applications*. Prentice Hall, London.
- Aronoff, S. L., Berkowitz, K., Shreiner, B., & Want, L. (2004). Glucose metabolism and regulation: beyond insulin and glucagon. *Diabetes spectrum*, 17(3), 183-190.
- Berger, J. P., SinhaRoy, R., Poci, A., Kelly, T. M., Scapin, G., Gao, Y. D., ... & Zhang, X. (2018). A comparative study of the binding properties, dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory activity and glucose-lowering efficacy of the DPP-4 inhibitors alogliptin, linagliptin, saxagliptin, sitagliptin and vildagliptin in mice. *Endocrinology, diabetes & metabolism*, 1(1), e00002.
- Capuano, A., Sportiello, L., Maiorino, M. I., Rossi, F., Giugliano, D., & Esposito, K. (2013). Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes therapy—focus on alogliptin. *Drug design, development and therapy*, 7, 989.
- Cosconati, S., Forli, S., Perryman, A. L., Harris, R., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2010). Virtual screening with AutoDock: theory and practice. *Expert opinion on drug discovery*, 5(6), 597-607.
- Cramer, C. J. (2013). *Essentials of computational chemistry: theories and models*. John Wiley & Sons.
- Desheng, L., Jian, G., Yuanhua, C., Wei, C., Huai, Z., & Mingjuan, J. (2011). Molecular dynamics simulations and MM/GBSA methods to investigate binding mechanisms of aminomethylpyrimidine inhibitors with DPP-IV. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 21(22), 6630-6635.
- Diyah, N. W., Purwanto, B. T., & Siswandono, S. (2015). Synthesis, molecular docking and anti tumor activity of N, N-Carbonylbis (N-ethylbenzamide). *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(7), 1324-1329.
- Eva, D. (2019). *Diabetes Mellitus Tipe 2*. Padang: Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas.
- Goyal, R., & Jialal, I. (2018). Diabetes mellitus, type 2. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.
- Hou, T., Wang, J., Li, Y., & Wang, W. (2011). Assessing the performance of the MM/PBSA and MM/GBSA methods. 1. The accuracy of binding free energy calculations based on molecular dynamics simulations. *Journal of chemical information and modeling*, 51(1), 69-82.

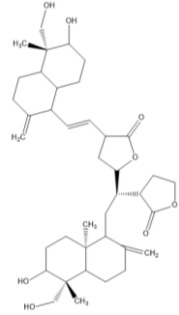
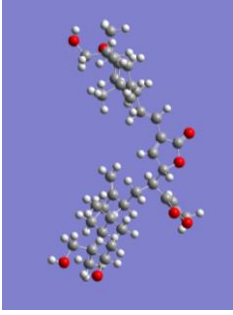
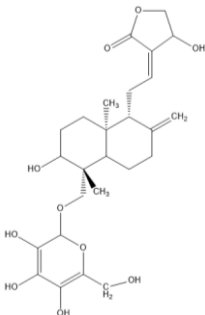
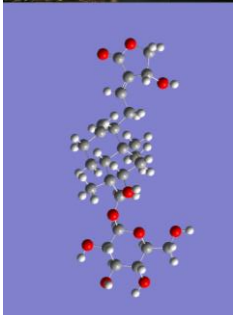
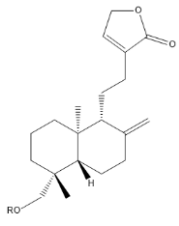
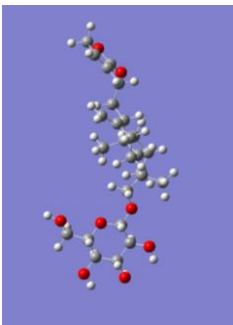
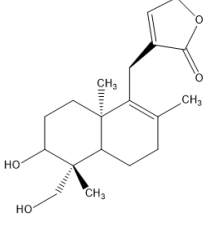
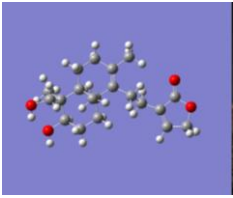
- Husen, R., Pihie, A. H. L., & Nallappan, M. (2004). Screening for antihyperglycaemic activity in several local herbs of Malaysia. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 205-208.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.
- Jain, A. N. (2006). Scoring functions for protein-ligand docking. *Current Protein and Peptide Science*, 7(5), 407-420.
- Kharroubi, A. T., & Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World journal of diabetes*, 6(6), 850.
- Kim, R., & Skolnick, J. (2008). Assessment of programs for ligand binding affinity prediction. *Journal of computational chemistry*, 29(8), 1316-1331.
- Kroemer, R. T. (2007). Structure-based drug design: docking and scoring. *Current protein and peptide science*, 8(4), 312-328.
- Leach, A. R., & Leach, A. R. (2001). *Molecular modelling: principles and applications*. Pearson education.
- Lindahl, E. R. (2008). Molecular dynamics simulations. In *Molecular modeling of proteins* (pp. 3-23). Humana Press.
- Martínez, L., Webb, P., Polikarpov, I., & Skaf, M. S. (2006). Molecular dynamics simulations of ligand dissociation from thyroid hormone receptors: evidence of the likeliest escape pathway and its implications for the design of novel ligands. *Journal of medicinal chemistry*, 49(1), 23-26.
- Meduru, H., Wang, Y. T., Tsai, J. J., & Chen, Y. C. (2016). Finding a potential dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor for type-2 diabetes treatment based on molecular docking, pharmacophore generation, and molecular dynamics simulation. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 920.
- Meece, J. (2007). Pancreatic islet dysfunction in type 2 diabetes: a rational target for incretin-based therapies. *Current medical research and opinion*, 23(4), 933-944.
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146-157.

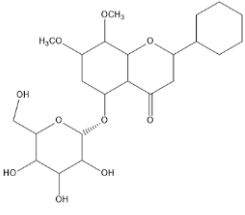
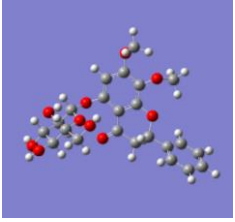
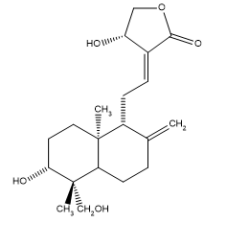
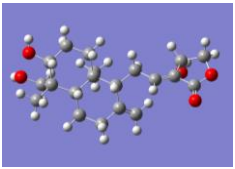
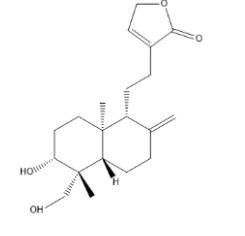
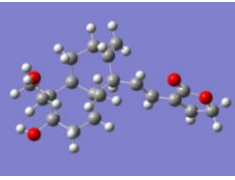
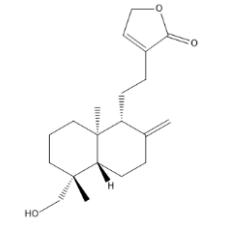
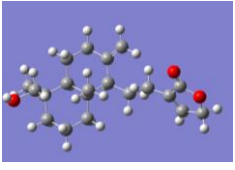
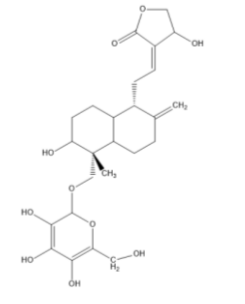
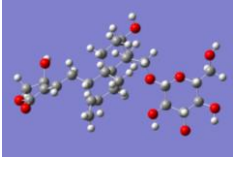
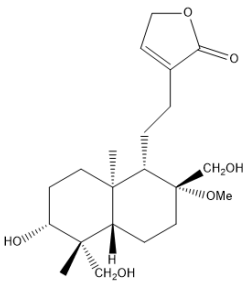
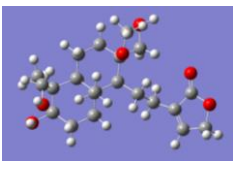
- Okhwarobo, A., Falodun, J. E., Erharuyi, O., Imieje, V., Falodun, A., & Langer, P. (2014). Harnessing the medicinal properties of *Andrographis paniculata* for diseases and beyond: a review of its phytochemistry and pharmacology. *Asian Pacific journal of tropical disease*, 4(3), 213-222.
- Pantaleão, S. Q., Philot, E. A., Resende-Lara, D., Túlio, P., Lima, A. N., Perahia, D., ... & Honorio, K. M. (2018). Structural dynamics of DPP-4 and its influence on the projection of bioactive ligands. *Molecules*, 23(2), 490.
- Pereira, A. S., Banegas-Luna, A. J., Peña-García, J., Pérez-Sánchez, H., & Apostolides, Z. (2019). Evaluation of the Anti-Diabetic Activity of Some Common Herbs and Spices: Providing New Insights with Inverse Virtual Screening. *Molecules*, 24(22), 4030.
- Pratley, R. E., & Salsali, A. (2007). Inhibition of DPP-4: a new therapeutic approach for the treatment of type 2 diabetes. *Current medical research and opinion*, 23(4), 919-931.
- Roglic, G. (2016). WHO Global report on diabetes: A summary. *International Journal of Noncommunicable Diseases*, 1(1), 3.
- Röhrborn, D., Wronkowitz, N., & Eckel, J. (2015). DPP4 in diabetes. *Frontiers in immunology*, 6, 386.
- Sargsyan, K., Grauffel, C., & Lim, C. (2017). How molecular size impacts RMSD applications in molecular dynamics simulations. *Journal of chemical theory and computation*, 13(4), 1518-1524.
- Sutton, J. M., Clark, D. E., Dunsdon, S. J., Fenton, G., Fillmore, A., Harris, N. V., ... & Duttaroy, A. (2012). Novel heterocyclic DPP-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 22(3), 1464-1468.
- Syahputra, G. (2014). Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1).
- Vlachakis, D., Bencurova, E., Papangelopoulos, N., & Kossida, S. (2014). Current state-of-the-art molecular dynamics methods and applications. In *Advances in protein chemistry and structural biology* (Vol. 94, pp. 269-313). Academic Press.
- Zubair, M. T., Yusuff, O. K., & Tunde, A. A. (2020). Molecular Dynamics Simulation Study of the Structural Changes of Calcitonin in an Explicit Solvent. *International Journal of Current Research in Applied Chemistry & Chemical Engineering [ISSN: 2581-5385 (online)]*, 4(2).

LAMPIRAN

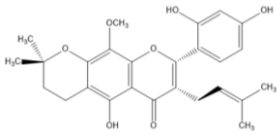
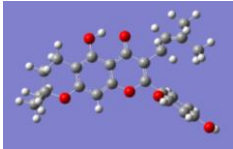
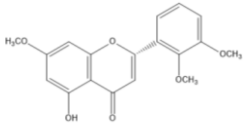
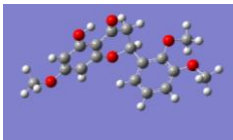
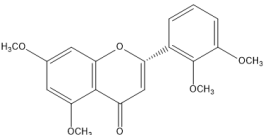
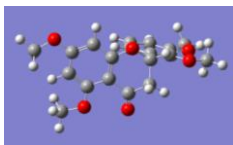
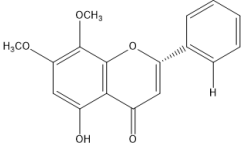
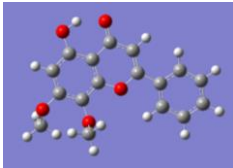
Lampiran 1 Senyawa Uji

Terpen dari *andrographis paniculata*

Senyawa	Struktur 2D	Struktur 3D	Referensi
L1			(Okhuarobo dkk., 2014)
L3			(Okhuarobo dkk., 2014)
L4			(Koteswara dkk., 2004)
L5			(Okhuarobo dkk., 2014)

L6			(Okhuarobo dkk., 2014)
L7			(Reddy dkk., 2003)
L8			(Koteswara dkk., 2004)
L9			(Aromdee, 2012)
L10			(Koteswara dkk., 2004)
L11			(Okhuarobo dkk., 2014)

Flavonoid dari andrographis paniculata

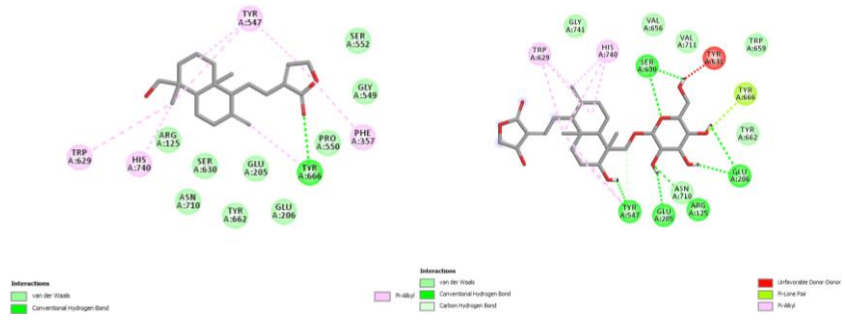
Senyawa	Struktur 2D	Struktur 3D	Referensi
L2	 <p>2-(2,3-dimethoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one</p>		(Kishore dkk., 2003)
L12	 <p>2-(2,3-dimethoxyphenyl)-5-hydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one</p>		(Koteswara dkk., 2004)
L13	 <p>2-(2,3-dimethoxyphenyl)-5,7-dimethoxy-4H-chromen-4-one</p>		(Koteswara dkk., 2004)
L14	 <p>5-hydroxy-7,8-dimethoxy-2-phenyl-4H-chromen-4-one</p>		(Koteswara dkk., 2004)

Lampiran 2 Penambatan Ulang Ligan Alami

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	88	-6,72	0	1,76	RANKING
1	2	31	-6,58	0,61	1,59	RANKING
1	3	72	-6,57	0,59	1,6	RANKING
1	4	81	-6,57	0,44	1,65	RANKING
1	5	3	-6,54	0,49	1,66	RANKING
1	6	22	-6,52	0,54	1,64	RANKING
1	7	57	-6,5	1,03	1,75	RANKING
1	8	23	-6,47	1,05	1,76	RANKING
1	9	36	-6,46	1,07	1,74	RANKING
1	10	87	-6,46	1,09	1,73	RANKING
1	11	29	-6,45	1,35	1,93	RANKING
1	12	74	-6,45	1,07	1,72	RANKING
1	13	58	-6,44	1,07	1,73	RANKING
1	14	91	-6,44	1,09	1,74	RANKING
1	15	41	-6,41	1,13	1,7	RANKING
1	16	92	-6,39	1,14	1,69	RANKING
1	17	7	-6,39	1,07	1,71	RANKING
1	18	40	-6,38	1,16	1,68	RANKING
1	19	52	-6,37	0,9	1,62	RANKING
1	20	27	-6,36	0,54	1,62	RANKING
1	21	25	-6,3	0,86	1,54	RANKING
1	22	12	-6,17	1,08	1,5	RANKING
1	23	98	-6,1	1,76	1,9	RANKING
1	24	53	-6,09	1,71	1,97	RANKING
1	25	28	-6,09	1,7	1,91	RANKING
1	26	43	-6,04	0,34	1,71	RANKING
1	27	60	-6,03	1,6	1,94	RANKING
1	28	96	-6,02	1,15	1,88	RANKING
1	29	49	-5,98	1,74	1,88	RANKING
1	30	55	-5,93	1,44	1,62	RANKING
1	31	65	-5,91	1,7	2	RANKING

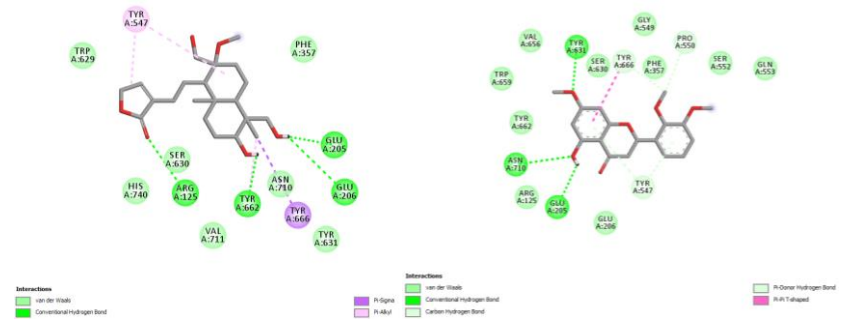
1	32	2	-5,86	1,48	1,52	RANKING
2	1	17	-6,62	0	3,93	RANKING
2	2	24	-6,59	0,19	3,91	RANKING
2	3	11	-6,58	0,09	3,94	RANKING
2	4	82	-6,58	0,14	3,87	RANKING
2	5	5	-6,57	0,41	3,8	RANKING
2	6	47	-6,52	0,19	4,01	RANKING
2	7	10	-6,45	0,3	4,04	RANKING
2	8	14	-6,31	1,67	3,8	RANKING
2	9	69	-6,31	1,68	3,8	RANKING
2	10	8	-6,31	1,66	4,47	RANKING
2	11	76	-6,29	1,66	3,81	RANKING
2	12	59	-6,29	1,65	3,77	RANKING
2	13	21	-6,29	1,66	3,78	RANKING
2	14	48	-6,28	1,66	3,72	RANKING
2	15	94	-6,28	1,42	3,58	RANKING
2	16	100	-6,28	1,67	3,76	RANKING
2	17	80	-6,28	1,67	3,72	RANKING
2	18	99	-6,28	1,65	3,83	RANKING
2	19	62	-6,27	1,69	3,76	RANKING
2	20	33	-6,27	1,67	3,79	RANKING
2	21	64	-6,26	1,68	3,77	RANKING
2	22	95	-6,26	1,67	3,71	RANKING
2	23	45	-6,25	1,68	3,72	RANKING
2	24	73	-6,25	1,67	4,41	RANKING
2	25	15	-6,25	1,67	3,77	RANKING
2	26	86	-6,25	1,66	3,74	RANKING
2	27	90	-6,25	1,66	3,72	RANKING
2	28	9	-6,25	1,63	3,69	RANKING
2	29	56	-6,25	1,69	3,72	RANKING
2	30	1	-6,25	1,7	3,76	RANKING
2	31	6	-6,24	1,7	4,25	RANKING
2	32	85	-6,24	1,7	3,7	RANKING
2	33	44	-6,22	1,44	3,65	RANKING

2	34	19	-6,22	1,69	4,24	RANKING
2	35	66	-6,21	1,7	4,23	RANKING
2	36	42	-6,21	1,7	4,23	RANKING
2	37	50	-6,2	1,7	4,14	RANKING
2	38	70	-6,2	1,69	4,17	RANKING
2	39	84	-6,2	1,7	4,16	RANKING
2	40	54	-6,2	1,71	4,15	RANKING
2	41	51	-6,2	1,71	4,16	RANKING
2	42	4	-6,19	1,72	4,3	RANKING
2	43	68	-6,19	1,72	4,17	RANKING
2	44	34	-6,18	1,74	4,18	RANKING
2	45	26	-6,18	1,7	4,24	RANKING
2	46	13	-6,18	1,69	4,29	RANKING
2	47	78	-6,18	1,33	3,83	RANKING
2	48	89	-6,17	1,38	3,83	RANKING
2	49	75	-6,17	1,75	4,24	RANKING
2	50	46	-6,16	1,37	4	RANKING
2	51	37	-6,15	1,75	4,26	RANKING
2	52	77	-6,14	1,63	4,32	RANKING
2	53	71	-6,13	1,42	3,74	RANKING
2	54	38	-6,05	1,77	4,39	RANKING
2	55	39	-6	1,3	3,65	RANKING
2	56	83	-5,99	1,75	4,41	RANKING
2	57	16	-5,97	1,75	4,37	RANKING
2	58	61	-5,93	1,74	4,45	RANKING
2	59	97	-5,8	1,95	4,28	RANKING
3	1	30	-6,53	0	3,81	RANKING
3	2	20	-5,91	1,46	3,91	RANKING
4	1	63	-6,19	0	2,56	RANKING
4	2	18	-6,15	0,19	2,55	RANKING
4	3	32	-6,06	0,27	2,49	RANKING
4	4	93	-5,5	1,86	2,1	RANKING
4	5	35	-5,48	1,9	2,17	RANKING
5	1	67	-6,13	0	4,5	RANKING



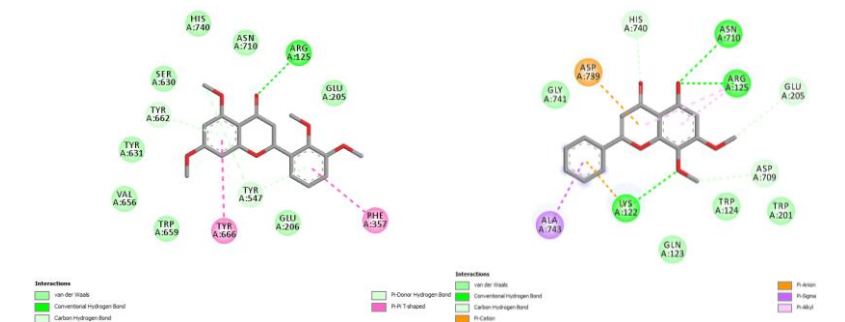
L9

L10



L11

L12



L13

L14

Lampiran 4 Tabel Interaksi Reseptor-Ligan

Senyawa	#Acceptor	DonorH	Donor	Frames	Frac	AvgDist	AvgAng
LF7	GLU_168@OE2	LF7_729@H27	LF7_729@N2	3856	0,08	2,82	158,26
	GLU_167@OE2	LF7_729@H16	LF7_729@N12	2279	0,05	2,87	158,04
	LF7_729@O20	TYR_509@HH	TYR_509@OH	1884	0,04	2,71	163,35
	LF7_729@O20	SER_592@HG	SER_592@OG	1108	0,02	2,72	163,14
	LF7_729@N2	TYR_624@HH	TYR_624@OH	432	0,01	2,79	163,77
	GLY_703@O	LF7_729@H27	LF7_729@N2	302	0,01	2,85	156,68
	LF7_729@N15	SER_592@HG	SER_592@OG	136	0,00	2,92	158,95
	TYR_509@OH	LF7_729@H16	LF7_729@N12	123	0,00	2,93	160,00
	LF7_729@N15	TYR_624@HH	TYR_624@OH	45	0,00	2,92	143,93
	LF7_729@O20	TYR_624@HH	TYR_624@OH	34	0,00	2,84	144,71
	ASN_672@OD1	LF7_729@H16	LF7_729@N12	33	0,00	2,89	156,84
	SER_171@OG	LF7_729@H13	LF7_729@O4	27	0,00	2,83	160,07
	GLU_167@O	LF7_729@H13	LF7_729@O4	27	0,00	2,84	166,69
	LF7_729@O4	TYR_509@HH	TYR_509@OH	22	0,00	2,85	158,23
	LF7_729@N2	TYR_509@HH	TYR_509@OH	19	0,00	2,84	157,30
	LF7_729@N2	TYR_628@HH	TYR_628@OH	18	0,00	2,87	163,38
	GLY_703@O	LF7_729@H13	LF7_729@O4	14	0,00	2,84	155,50
	GLU_167@OE1	LF7_729@H13	LF7_729@O4	7	0,00	2,78	163,93
	TYR_509@OH	LF7_729@H13	LF7_729@O4	7	0,00	2,86	152,31
	HID_702@O	LF7_729@H13	LF7_729@O4	5	0,00	2,82	154,60
	HID_702@NE2	LF7_729@H16	LF7_729@N12	5	0,00	2,91	167,25
	TRP_591@O	LF7_729@H13	LF7_729@O4	5	0,00	2,93	146,77
	GLU_167@O	LF7_729@H27	LF7_729@N2	4	0,00	2,85	164,77
	TYR_509@OH	LF7_729@H27	LF7_729@N2	4	0,00	2,90	154,09
	HID_702@NE2	LF7_729@H13	LF7_729@O4	3	0,00	2,87	157,56
	LF7_729@O4	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	2	-	2,88	147,69
	HID_702@O	LF7_729@H27	LF7_729@N2	2	-	2,93	166,37
	PRO_512@O	LF7_729@H27	LF7_729@N2	2	-	2,93	157,35
	HID_702@NE2	LF7_729@H27	LF7_729@N2	1	-	2,90	143,99
	LF7_729@N2	SER_514@HG	SER_514@OG	1	-	2,91	138,88
	LF7_729@N12	ARG_87@HH21	ARG_87@NH2	1	-	2,92	138,33
	LF7_729@O4	HIE_88@HE2	HIE_88@NE2	1	-	2,93	173,06
TRP_591@NE1	LF7_729@H27	LF7_729@N2	1	-	2,98	161,79	
TYR_624@OH	LF7_729@H27	LF7_729@N2	1	-	2,99	138,95	

Senyawa	#Acceptor	DonorH	Donor	Frames	Frac	AvgDist	AvgAng
L1	ASP_671@OD1	RES_729@H101	RES_729@O4	12786	0,26	2,65	165,05
	RES_729@O3	GLN_515@H	GLN_515@N	4309	0,09	2,90	154,01
	RES_729@O2	ASN_672@HD22	ASN_672@ND2	3132	0,06	2,88	160,06
	RES_729@O8	ARG_87@HH12	ARG_87@NH1	2550	0,05	2,85	152,79
	ASP_671@OD2	RES_729@H101	RES_729@O4	2130	0,04	2,67	164,63
	GLU_167@OE2	RES_729@H95	RES_729@O2	1501	0,03	2,75	162,70
	ASP_671@OD2	RES_729@H95	RES_729@O2	870	0,02	2,73	157,86
	GLN_515@O	RES_729@H96	RES_729@O3	749	0,02	2,75	155,73
	RES_729@O3	LYS_516@HZ2	LYS_516@NZ	687	0,01	2,87	152,83
	RES_729@O3	LYS_516@HZ3	LYS_516@NZ	635	0,01	2,86	152,93
	RES_729@O3	LYS_516@HZ1	LYS_516@NZ	571	0,01	2,86	151,97
	GLN_85@O	RES_729@H95	RES_729@O2	492	0,01	2,76	160,75
	RES_729@O6	ARG_87@HH12	ARG_87@NH1	475	0,01	2,89	148,62
	ASP_671@OD1	RES_729@H95	RES_729@O2	445	0,01	2,76	157,85
	RES_729@O7	ARG_87@HH11	ARG_87@NH1	399	0,01	2,85	146,63
	RES_729@O8	ARG_87@HH11	ARG_87@NH1	381	0,01	2,86	153,63
	RES_729@O2	TRP_163@HE1	TRP_163@NE1	380	0,01	2,90	155,44
	RES_729@O6	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	241	0,00	2,90	149,76
	RES_729@O7	LYS_84@HZ1	LYS_84@NZ	234	0,00	2,85	152,44
	RES_729@O2	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	195	0,00	2,88	150,40
	SER_514@OG	RES_729@H96	RES_729@O3	191	0,00	2,85	153,50
	RES_729@O7	LYS_84@HZ2	LYS_84@NZ	189	0,00	2,83	150,18
	RES_729@O7	LYS_84@HZ3	LYS_84@NZ	183	0,00	2,83	149,28
	ALA_705@O	RES_729@H95	RES_729@O2	176	0,00	2,79	156,14
	GLU_167@OE1	RES_729@H95	RES_729@O2	164	0,00	2,78	158,44
	ASP_701@OD2	RES_729@H101	RES_729@O4	126	0,00	2,72	162,30
	RES_729@O8	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	123	0,00	2,87	150,66
	TRP_86@O	RES_729@H95	RES_729@O2	120	0,00	2,76	160,48
	RES_729@O4	LYS_84@HZ2	LYS_84@NZ	105	0,00	2,86	153,93
	RES_729@O1	LYS_516@HZ2	LYS_516@NZ	79	0,00	2,88	157,23
	RES_729@O4	LYS_84@HZ3	LYS_84@NZ	71	0,00	2,86	154,22
	TYR_509@OH	RES_729@H96	RES_729@O3	59	0,00	2,83	154,22
	RES_729@O4	LYS_84@HZ1	LYS_84@NZ	58	0,00	2,86	154,95
	RES_729@O7	ARG_87@HH12	ARG_87@NH1	55	0,00	2,86	149,89
	GLN_515@O	RES_729@H90	RES_729@O1	50	0,00	2,79	149,32
	ASP_671@O	RES_729@H101	RES_729@O4	44	0,00	2,72	159,11
	RES_729@O3	SER_514@HG	SER_514@OG	43	0,00	2,83	151,47
	RES_729@O4	TRP_163@HE1	TRP_163@NE1	37	0,00	2,91	147,18
	RES_729@O3	TYR_509@HH	TYR_509@OH	35	0,00	2,80	151,19
	RES_729@O1	LYS_516@HZ1	LYS_516@NZ	29	0,00	2,88	154,48

RES_729@O2	LYS_84@HZ1	LYS_84@NZ	27	0,00	2,87	154,84
RES_729@O2	LYS_84@HZ2	LYS_84@NZ	18	0,00	2,93	153,17
RES_729@O1	LYS_516@HZ3	LYS_516@NZ	15	0,00	2,90	147,64
RES_729@O7	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	12	0,00	2,84	151,67
RES_729@O6	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	12	0,00	2,91	144,92
ASP_701@OD1	RES_729@H101	RES_729@O4	11	0,00	2,80	159,19
RES_729@O2	LYS_84@HZ3	LYS_84@NZ	10	0,00	2,90	155,12
CYS_513@O	RES_729@H96	RES_729@O3	9	0,00	2,88	147,14
RES_729@O6	ARG_87@HH11	ARG_87@NH1	7	0,00	2,91	140,84
RES_729@O4	ASP_671@H	ASP_671@N	7	0,00	2,95	148,21
RES_729@O4	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	5	0,00	2,90	160,46
ASN_672@OD1	RES_729@H95	RES_729@O2	4	0,00	2,82	156,31
GLN_85@O	RES_729@H101	RES_729@O4	3	0,00	2,80	146,45
ASN_672@ND2	RES_729@H101	RES_729@O4	2	-	2,78	151,40
TYR_509@OH	RES_729@H90	RES_729@O1	2	-	2,80	149,81
ASN_672@OD1	RES_729@H101	RES_729@O4	2	-	2,84	144,96
RES_729@O1	TYR_509@HH	TYR_509@OH	2	-	2,90	150,89
LYS_84@O	RES_729@H95	RES_729@O2	1	-	2,77	164,70
RES_729@O1	GLN_515@HE21	GLN_515@NE2	1	-	2,87	149,63
SER_706@OG	RES_729@H95	RES_729@O2	1	-	2,96	158,83

Senyawa	#Acceptor	DonorH	Donor	Frames	Frac	AvgDist	AvgAng
	ASP_625@OD1	RES_729@H74	RES_729@O7	22592	0,45	2,75	159,10
	ASP_625@OD1	RES_729@H73	RES_729@O6	20261	0,41	2,79	160,41
	ASP_625@OD2	RES_729@H74	RES_729@O7	19134	0,38	2,76	159,29
	ASP_625@OD2	RES_729@H73	RES_729@O6	18716	0,37	2,78	160,44
	ASN_672@OD1	RES_729@H58	RES_729@O1	8090	0,16	2,84	150,36
	TYR_624@OH	RES_729@H76	RES_729@O10	4869	0,10	2,88	150,66
	ASP_671@OD2	RES_729@H75	RES_729@O8	1332	0,03	2,72	162,22
	GLU_168@OE2	RES_729@H73	RES_729@O6	803	0,02	2,74	158,50
L3	GLU_168@OE2	RES_729@H74	RES_729@O7	695	0,01	2,75	160,49
	TYR_624@OH	RES_729@H74	RES_729@O7	389	0,01	2,88	151,16
	RES_729@O7	TYR_624@HH	TYR_624@OH	237	0,00	2,90	155,51
	HIE_88@ND1	RES_729@H75	RES_729@O8	180	0,00	2,86	147,01
	RES_729@O3	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	124	0,00	2,95	147,87
	SER_592@OG	RES_729@H76	RES_729@O10	113	0,00	2,92	152,46
	TYR_509@OH	RES_729@H58	RES_729@O1	108	0,00	2,85	146,12
	ARG_87@O	RES_729@H75	RES_729@O8	96	0,00	2,83	145,77
	ASN_672@OD1	RES_729@H76	RES_729@O10	87	0,00	2,84	153,16

ASP_701@OD1	RES_729@H75	RES_729@O8	80	0,00	2,72	159,48
ASP_701@OD2	RES_729@H75	RES_729@O8	69	0,00	2,72	158,95
GLY_703@O	RES_729@H75	RES_729@O8	57	0,00	2,82	148,03
RES_729@O10	TYR_624@HH	TYR_624@OH	41	0,00	2,88	148,53
RES_729@O1	SER_592@HG	SER_592@OG	32	0,00	2,88	150,89
RES_729@O10	SER_592@HG	SER_592@OG	20	0,00	2,90	145,54
RES_729@O9	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	17	0,00	2,89	149,32
RES_729@O9	ASN_672@HD22	ASN_672@ND2	17	0,00	2,93	152,03
RES_729@O5	LYS_84@HZ1	LYS_84@NZ	15	0,00	2,93	142,84
RES_729@O7	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	9	0,00	2,97	145,68
HID_702@NE2	RES_729@H58	RES_729@O1	8	0,00	2,91	159,98
TYR_628@OH	RES_729@H76	RES_729@O10	8	0,00	2,93	154,82
RES_729@O10	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	7	0,00	2,91	155,55
RES_729@O9	ARG_87@HH12	ARG_87@NH1	7	0,00	2,94	156,78
RES_729@O5	LYS_84@HZ3	LYS_84@NZ	7	0,00	2,94	146,27
GLU_167@OE2	RES_729@H70	RES_729@O4	5	0,00	2,82	141,98
GLU_168@OE2	RES_729@H70	RES_729@O4	4	0,00	2,91	148,48
RES_729@O5	LYS_84@HZ2	LYS_84@NZ	4	0,00	2,92	138,48
ARG_87@NH1	RES_729@H58	RES_729@O1	4	0,00	2,95	166,83
RES_729@O4	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	4	0,00	2,97	150,21
TRP_86@O	RES_729@H75	RES_729@O8	2	-	2,73	161,45
HID_702@NE2	RES_729@H76	RES_729@O10	2	-	2,84	169,06
RES_729@O6	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	2	-	2,88	143,38
GLU_167@OE1	RES_729@H70	RES_729@O4	2	-	2,88	151,01
RES_729@O9	ASN_672@HD21	ASN_672@ND2	2	-	2,90	146,98
RES_729@O8	ARG_87@HH12	ARG_87@NH1	2	-	2,97	156,89
RES_729@O8	GLY_703@H	GLY_703@N	1	-	2,79	139,00
GLU_168@OE1	RES_729@H70	RES_729@O4	1	-	2,81	135,37
ASP_671@OD1	RES_729@H75	RES_729@O8	1	-	2,82	135,14
ASP_671@O	RES_729@H75	RES_729@O8	1	-	2,83	155,81
RES_729@O10	TYR_628@HH	TYR_628@OH	1	-	2,86	156,70
RES_729@O1	ARG_87@HE	ARG_87@NE	1	-	2,90	145,60
TYR_509@OH	RES_729@H76	RES_729@O10	1	-	2,96	145,38
RES_729@O6	ASN_672@HD22	ASN_672@ND2	1	-	2,97	141,33
RES_729@O9	LYS_84@HZ3	LYS_84@NZ	1	-	2,97	146,93
RES_729@O2	ARG_87@HE	ARG_87@NE	1	-	2,99	136,24
RES_729@O8	ARG_87@HH22	ARG_87@NH2	1	-	2,99	137,45
RES_729@O9	LYS_84@HZ1	LYS_84@NZ	1	-	2,99	146,33
RES_729@O1	TYR_509@HH	TYR_509@OH	1	-	2,99	149,83

