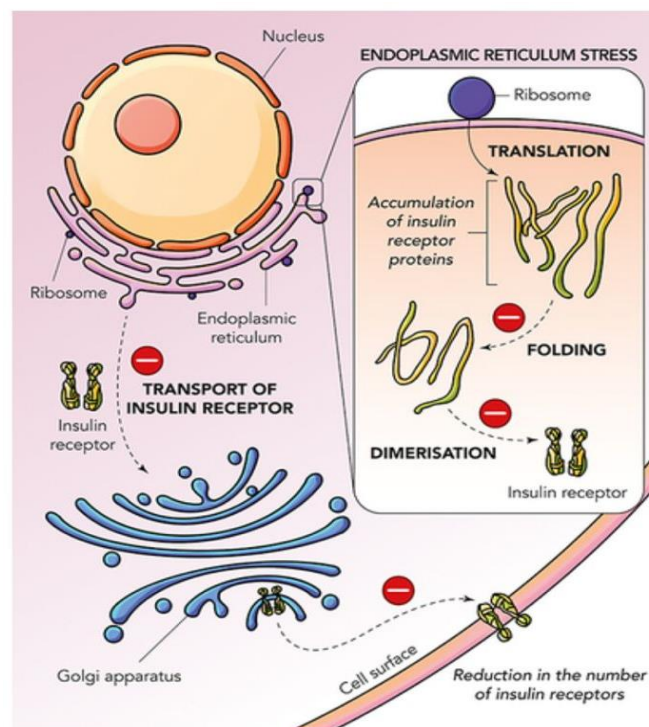


BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit yang ditandai dengan terjadinya *Hiperglikemia* dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang dihubungkan dengan kekurangan secara absolut atau relative dari kerja atau sekresi insulin. Gejala yang dikeluhkan pada penderita Diabetes Melitus yaitu *polydipsia*, *polyuria*, *polyphagia*, penurunan berat badan, dan kesemutan (Wulansari, 2019). Diabetes Melitus merupakan sesuatu yang tidak dapat dituangkan dalam Satu jawaban yang jelas dan singkat, tapi secara umum dapat dikatakan sebagai suatu Kumpulan problema anatomic dan kimiawi yang merupakan akibat dari sejumlah faktor. Diabetes Melitus diklasifikasikan atas DM tipe 1, DM tipe 2, DM tipe lain, dan DM pada kehamilan (Kusumaningrum, 2019).



Gambar 2. 1 Mekanisme yang menyebabkan resistensi insulin Diabetes melitus (Felifur Finerow, 2023)

Diabetes melitus tipe 2 adalah penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah dalam tubuh akibat resistensi insulin atau produksi insulin yang tidak kuat. Kondisi ini memengaruhi cara tubuh menggunakan gula (glukosa) sebagai sumber energi. Diabetes melitus tipe 2 merupakan bentuk diabetes yang paling umum dan biasanya terjadi pada orang dewasa, meskipun dapat juga terjadi pada anak-anak dan remaja (Setiyorini dkk., 2018).

2.2 Jenis-Jenis Diabetes

Ada 4 jenis klasifikasi Diabetes Melitus menurut (American Diabetes Association, 2018) antara lain: Diabetes Melitus tipe 1, Diabetes Melitus tipe 2, Diabetes Melitus tipe lain dan Diabetes kehamilan.

a) Diabetes Melitus tipe 1

Dengan penyakit ini banyak sekali menyerang orang-orang dari segala usia, biasanya terjadi pada anak-anak ataupun orang dewasa muda, orang dengan penyakit diabetes mellitus tipe ini tentu membutuhkan insulin setiap hari untuk bisa mengendalikan kadar glukosa dalam darahnya. Orang yang tanpa insulin pada penderita diabetes mellitus tipe 1 akan menyebabkan kematian. Orang yang memiliki penyakit diabetes mellitus tipe 1 juga memiliki gejala seperti: kehausan dan mulut kering yang tidak normal, sering buang air kecil, kurangnya energy, merasa lemas, merasa lapar terus menerus, penurunan berat badan yang tiba-tiba, dan penglihatan kabur. Biasanya bertubuh kurus pada saat didiagnosa dengan penurunan berat badan yang baru saja terjadi (Tandra, 2017). Angka penderita diabetes mellitus tipe 1 terus meningkat, alasannya masih belum jelas mungkin karena adanya factor didalam lingkungan atau infeksi yang disebabkan oleh virus.

b) Diabetes Melitus tipe 2

Diabetes Melitus tipe 2 ini adalah tipe yang sangat tinggi yang sering terjadi pada penderita diabetes (Yustiana & Sumargi, 2017). Diabetes tipe 2 ini lebih banyak menyerang orang dewasa, namun saat ini meningkat pada anak-anak dan remaja. Pada diabetes mellitus tipe 2 ini tubuh biasa memproduksi insulin namun insulin menjadi resisten sehingga insulin menjadi tidak efektif bagi tubuh dan semakin lama kadar insulin menjadi tidak efektif bagi tubuh dan semakin lama

kadar insulin menjadi tidak mencukupi, resisten insulin dan penurunan kadar insulin, sama-sama menyebabkan kadar glukosa darah tinggi.

c) Diabetes Melitus tipe lain

Diabetes Melitus tipe lain ini merupakan penyakit gangguan metabolic yang ditandai oleh kenaikan gula darah akibat efek genetic fungsi sel beta, efek genetic kerja insulin, penyakit eksorin, endokrinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, sebab imunolgi yang jarang, sindrom genetic lain yang berkaitan dengan diabetes mellitus (Prasetyo, 2019).

d) Diabetes Gestasional

Wanita dengan kadar glukosa darah sedikit meningkat diklasifikasikan memiliki diabetes mellitus pada kehamilan, diabetes pada kehamilan mulai terjadi pada trimester kedua atau ketiga sehingga perlu dilakukan skrining atau tes toleransi glukosa pada semua wanita hamil dengan usia kehamilan antara 24 sampai 28 minggu (Angraini dkk., 2023). Wanita yang terdeteksi hiperglikemia beresiko lebih besar mengalami kerugian. Wanita yang dengan hiperglikemia selama kehamilan dapat mengontrol kadar glukosa darah dengan melakukan diet yang sehat, olahraga ringan dan pemantauan gula darah. Dalam beberapa kasus, insulin yang diberikan maupun oral dapat diberikan.

e) Diabetes Melitus Tipe 3

Adalah kondisi yang disebabkan oleh kurangnya suplai insulin ke dalam otak. Minimnya kadar insulin dalam otak dapat menurunkan kerja dan regenerasi sel otak sehingga memicu terjadinya penyakit Alzheimer (Harjanto, 2022).

2.3 Gejala

Berdasarkan gejalanya Diabetes Melitus dibagi menjadi 2, yaitu gejala Utama dan gejala tambahan. Diantaranya adalah sebagai berikut :

- a. Gejala Utama, intensitas buang air kecil yang cukup sering, cepat merasa lapar, dan sering merasa haus.
- b. Gejala tambahan, berat badan menurun cepat tanpa ada penyebab yang jelas, kesemutan, gatal di daerah kemaluan pada wanita, keputihan pada wanita, luka yang sulit sembuh, impotensi pada pria, bisul yang hilang timbul, penglihatan yang kabur, cepat lelah, dan mudah mengantuk.

2.4 Pengobatan

Pengobatan yang dapat dilakukan untuk penderita diabetes melitus yaitu dengan terapi insulin, mengonsumsi obat diabetes, mencoba pengobatan alternatif, menjalani operasi dan memperbaiki *Life style* (pola hidup sehat) dengan memakan makanan yang bergizi atau sehat, olahraga. Menurut Kementerian Kesehatan (2010), dengan memahami faktor risiko, diabetes melitus dapat dicegah. Faktor risiko DM dibagi menjadi beberapa faktor risiko, namun ada beberapa yang dapat diubah oleh manusia, dalam hal ini dapat berupa pola makan, pola aktivitas, dan pengelolaan stres. Faktor kedua merupakan faktor risiko, namun sifatnya tidak dapat diubah, seperti umur, jenis kelamin, dan faktor penderita diabetes dengan latar belakang keluarga (Lestari & Zulkarnain, 2021).

2.5 Water Kefir

Water kefir merupakan minuman fermentasi yang dihasilkan dari interaksi simbiotik berbagai mikroorganisme, telah menunjukkan potensi sebagai sumber senyawa bioaktif. Penelitian sebelumnya telah mengungkapkan bahwa *Water kefir* mengandung molekul-molekul dengan aktivitas biologis yang beragam, termasuk potensi antidiabetes. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul dari komponen-komponen *Water kefir* terhadap enzim α -Glikosidase.

2.5.1 Senyawa bioaktif pada *Water Kefir*

Tabel 2. 1 Senyawa Bioaktif pada *Water Kefir* (Guzel-Seydim dkk., 2021)

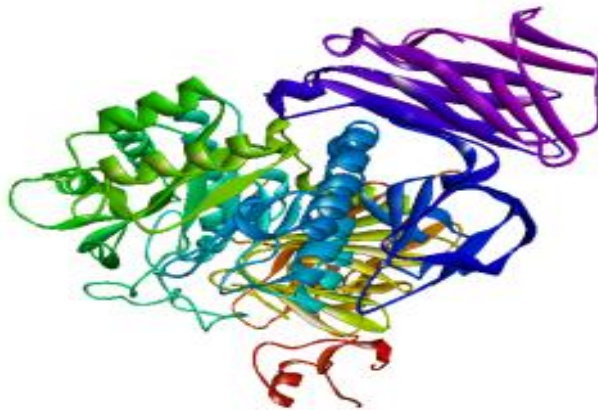
No	Nama Senyawa	Kode Smile
1	1,3 -Propanediol	<chem>C1=CC(=CC=C1C(C(CO)NC(=O)C(Cl)Cl)O)[N+](=O)[O-]</chem>
2	1 -Octanol	<chem>CCCCCCCCO</chem>
3	2,4 -di-tert-butylphenol	<chem>CC(C)(C)C1=CC(=C(C=C1)O)C(C)(C)C</chem>
4	2 -Phenylethanol	<chem>C1=CC=C(C=C1)CCO</chem>
5	4 -Ethylguaiaicol	<chem>CCC1=CC(=C(C=C1)O)OC</chem>
6	4 -Ethylphenol	<chem>CCC1=CC=C(C=C1)O</chem>
7	Benzaldehyde	<chem>C1=CC=C(C=C1)C=O</chem>

8	Benzyl alcohol	<chem>C1=CC=C(C=C1)CO</chem>
9	Butylhydroxytoluene	<chem>CC1=CC(=C(C(=C1)C(C)(C)C)O)C(C)(C)C</chem>
10	Diethyl succinate	<chem>CCOC(=O)CCC(=O)OCC</chem>
11	Ethyl Benzenepropanoate	<chem>CCOC(=O)CCC1=CC=CC=C1</chem>
12	Ethyl Butanoate	<chem>CCCC(=O)OCC</chem>
13	Ethyl Decanoate	<chem>CCCCCCCCC(=O)OCC</chem>
14	Ethyl hexanoate	<chem>CCCCCC(=O)OCC</chem>
15	Ethyl Heptanoate	<chem>CCCCCCC(=O)OCC</chem>
16	Ethyl Octanoate	<chem>CCCCCCCC(=O)OCC</chem>
17	Furfural	<chem>C1=COC(=C1)C=O</chem>
18	Hexanal	<chem>CCCCCC=O</chem>
19	Isoamyl acetate	<chem>CC(C)CCOC(=O)C</chem>
20	Methyl octanoate	<chem>CCCCCCCC(=O)OC</chem>
21	Nonanoate	<chem>CCCCCCCCC(=O)[O-]</chem>
22	Styrene	<chem>C=CC1=CC=CC=C1</chem>

2.6 Enzim α -Glukosidase

Enzim alfa-glukosidase adalah enzim yang terdapat pada dinding usus halus dan bekerja untuk menghidrolisis oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida yang dapat diserap oleh usus halus. Inhibisi kerja enzim ini dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa postprandial pada penderita diabetes.

Sebagai pem-banding digunakan acarbose yang merupakan agen antidiabetic komersial yang bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase.



Gambar 2. 2 Enzim α -glukosidase (Sumber RSCB Protein Data Bank)

CRYSTAL STRUCTURE OF HUMAN LYSOSOMAL ACID-ALPHA-GLUCOSIDASE, GAA, IN COMPLEX WITH ACARBOSE

Classification : HYDROLASE

Organism(s) : Homo sapiens

Method : X-RAY DIFFRACTION

Resolution : 2.45 Å

Ligan Alami : TRIETHYLENE GLYCOL (C₆ H₁₄ O₄)

ZIBGPFATKBEMQZ-UHFFFAOYSA-N

Released : 2017-10-25

2.7 Mekanisme Kerja Obat Terhadap Enzim α -Glukosidase

Pengobatan antidiabetes di indikasikan menggunakan acarbosa dan miglitol. Acarbosa adalah obat yang digunakan untuk mengelola diabetes tipe 2, dan mekanisme kerjanya berhubungan dengan penghambatan enzim alfa-glukosidase di saluran pencernaan. Acarbosa bekerja dengan menghambat enzim alfa-glukosidase, yang ditemukan di permukaan sel-sel mukosa usus. Enzim ini bertanggung jawab untuk memecah karbohidrat kompleks (seperti amilosa dan maltose) menjadi glukosa dan oligosakarida yang lebih sederhana yang dapat diserap ke dalam aliran darah. Dengan menghambat alfa-glukosidase acarbosa memperlambat proses pencernaan karbohidrat di usus halus. Hal ini menyebabkan

penurunan laju penyerapan glukosa ke dalam aliran darah setelah makan. Penurunan penyerapan glukosa, kadar glukosa darah setelah makan (glukosa postprandial) menjadi lebih rendah. Ini membantu mengenalkan lonjakan gula darah pasca makan, yang penting dalam manajemen diabetes tipe 2 (Marisa & PD, 2024).

Miglitol adalah obat yang digunakan untuk mengontrol kadar glukosa darah pada pasien dengan diabetes tipe 2. Mekanisme kerja miglitol melibatkan penghambatan enzim alfa-glukosidase. Miglitol menghambat enzim alfa-glukosidase yang terdapat di permukaan usus halus. Enzim ini bertanggung jawab untuk memecah karbohidrat kompleks menjadi gula sederhana, seperti glukosa, yang kemudian diserap ke dalam aliran darah. Dengan menghambat alfa-glukosidase, miglitol memperlambat proses pencernaan karbohidrat. Akibatnya, pembentukan glukosa dari karbohidrat yang dikonsumsi menjadi lebih lambat. Karena glukosa dilepaskan secara bertahap ke dalam aliran darah, ada penurunan dalam lonjakan kadar glukosa darah pasca makan. Ini membantu mengurangi fluktuasi kadar glukosa darah yang sering terjadi pada diabetes tipe 2 (Lestari & Zulkarnain, 2021).

2.8 Lipinski Rule of Five

Penelitian penambatan molekul bertujuan untuk merancang sebuah molekul obat untuk menemukan senyawa obat baru yang mampu berinteraksi dengan efektif terhadap reseptor target, sehingga dapat menghasilkan aktivitas biologis. *Lipinski Rule Of five* juga dikenal sebagai *Pfizer Rule of Five* atau *Rule of Five* (RO5). RO5 merupakan peoman praktis untuk mengevaluasi obat atau menentukan apakah senyawa kimia dengan aktivitas farmakologi atau biologi tertentu memiliki sifat yang membuat aktif sebagai obat yang dapat diberikan pada manusia. Aturan ini merincikan sifat molekul penting yang mempengaruhi farmakokinetik obat dalam tubuh manusia, termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Oleh karena itu, untung merancang obat yang aktif untuk diberikan pada manusia harus memenuhi kriteria '*Lipinski Rule of Five*'. Kriterianya adalah sebagai berikut:

1. Berat molekul kurang dari 500 dalton (Da).

2. Nilai LogP tidak lebih dari 5
3. Ikatan hydrogen donor tidak lebih dari 5
4. Ikatan aseptor hidroken tidak lebih dari 5
5. *Molar refractivity* sebaiknya diantara 40-130

2.9 Penambatan Molekul

Penambatan molekul atau disebut juga Molecular Docking merupakan pendekatan metodologis untuk memperkirakan ikatan antara satu molekul dengan molekul lainnya. Salah satu contoh ketika terjadi interaksi elektrostatik antara satu molekul dengan molekul lainnya untuk membentuk molekul yang stabil. Penambatan molekul obat ke tempat pengikatan reseptor dilakukan dan afinitas pengikatan ligan dihitung. Ini merupakan bagian terpenting dari proses desain obat berbasis struktur.

Tujuan utama dari penambatan molekul adalah untuk memahami dan memprediksi pengenalan molekul baik secara struktural yaitu menemukan kemungkinan mode pengikatan dan secara energetik yaitu memprediksi afinitas pengikatan. Docking molekul awalnya dirancang untuk dilakukan antara molekul kecil (ligan) dan makromolekul target (protein). Namun, selama dekade terakhir, minat terhadap protein-protein, asam nukleat (DNA dan RNA) dan docking ligan, serta docking asam nukleat-protein-ligan telah meningkat.

2.9.1 Tahapan Penambatan Molekul

Tahapan dari penambatan molekul adalah sebagai berikut :

1. Preparasi Target Kerja

Preparasi target kerja yang akan digunakan dapat ditemukan pada website Protein Data Bank. Dalam mempersiapkan target kerja terdapat beberapa parameter yang dapat dijadikan kriteria apakah target kerja tersebut akan digunakan atau tidak. Parameter ini meliputi analisis metode, organisme, resolusi, dan aktivitas ligan yang akan digunakan.

2. Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul merupakan langkah untuk menentukan apakah target kerja dan ligan alami layak digunakan. Tujuannya adalah untuk mendapatkan

metode grid box yang valid. Validasi atau docking ulang dalam aplikasi self-docking dengan mengikat ligan alami ke protein target. Bentuk dan tempat interaksi ligan ditentukan oleh penempatan kotak grid. Jika hasil relokasi posisi ikatan optimal bernilai $\text{RMSD} < 2\text{\AA}$, maka dianggap valid. Selain itu, susunan grid box digunakan dalam metode docking sambungan uji. Perlu diperhatikan bahwa penambatan molekul lainnya dapat menghasilkan nilai RMSD yang lebih tinggi dan nilai Einter yang lebih rendah. Hal ini menunjukkan bahwa pengikatan ligan lain yang berpotensi berinteraksi harus dipertimbangkan.

3. Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan setelah diperoleh hasil validasi penambatan molekul yang valid. Pengaturan grid mencakup penentuan jarak grid dan pusat grid sesuai dengan pengaturan yang digunakan selama validasi. Dianalisis untuk mengamankan koneksi pengujian. Tujuannya untuk mengukur afinitas pengikatan daerah tempat pengikatan dan mengetahui interaksi pengikatan yang terjadi antara benda kerja dengan senyawa uji. Interpretasi hasil berdasarkan nilai dan analisis energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Nilai (ΔG dan K_i) mengacu pada afinitas pengikatan selama pembentukan interaksi untuk menentukan tempat interaksi antara senyawa uji dan tujuan penelitian (Elsiana dkk., 2023). Berikut beberapa tahapan penambatan molekul adalah sebagai berikut :

- a. Pencarian algoritma bertujuan untuk menentukan posisi ligan yang paling relatif stabil terhadap reseptornya guna mengambil kompleks ligan yang terbentuk. Ikatan dihasilkan dari interaksi antara residu asam amino dan gugus fungsi. Setiap jarak farmakofor dalam protein dan ligan dihitung kecocokannya. Konformasi ligan baru ditentukan oleh matriks jarak antara farmakofor dan atom ligan yang bersesuaian. Sifat kimia seperti donor dan akseptor ikatan hidrogen dapat diperhitungkan pada saat perpaduan. Algoritma pencocokan memiliki keunggulan kecepatan. Oleh karena itu, dapat digunakan untuk meningkatkan senyawa bahan aktif (Andrian, 1995).
- b. Afinitas kompleks ligan-reseptor-protein yang terbentuk ditentukan dengan menggunakan skoring. Langkah ini didasarkan pada beberapa teori, seperti teori energi bebas Gibbs. Kompleks dengan nilai energi bebas Gibbs yang

kecil menunjukkan bahwa strukturnya stabil. Sebaliknya bila nilai energi bebas Gibbs besar maka kompleks yang terbentuk menjadi tidak stabil. Algoritma ini digunakan untuk menentukan konformasi paling stabil dari kompleks yang terbentuk. Ikatan antarmolekul terjadi karena gugus fungsi ligan berinteraksi dengan residu asam amino protein reseptor. Kekuatan ikatan ini dihitung dan diberi peringkat berdasarkan fungsi penilaian.

2.9.2 Parameter Penambatan Molekul

Terdapat beberapa parameter penambatan molekul yang menjadi pedoman untuk interpretasi hasil proses penambatan molekul :

1. Energi Bebas Ikatan (ΔG)

Energi ikatan bebas dapat menunjukkan kestabilan ikatan dengan reseptor. Nilai ΔG yang lebih tinggi menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk kurang stabil, dan nilai ΔG yang lebih rendah menunjukkan stabilitas yang lebih besar, sehingga ikatan yang terbentuk semakin kuat (Arwansyah dkk., 2014).

Persamaan energy bebas ikatan sebagai berikut:

$$\Delta G = \Delta EEL + \Delta EVDW + \Delta GPOL + \Delta GNP \quad (II.1)$$

Keterangan tiga istilah pertama merujuk pada standar energy mekanika molekuler, yang mencakup interaksi ikatan elektrostatik dan *Van der Waals*. Gpol dan Gnp mewakili kontribusi polar dan non-polar terhadap energy bebas solvasi. Gpol biasanya didapatkan menggunakan persamaan PB (Poisson Boltzman) atau model GB (Generalized Born), sedangkan istilah non-polar diperkirakan melalui hubungan linier dengan luas permukaan pelarut. Istilah terakhir yaitu suhu absolut (T) yang dikalikan dengan entropi (S) (Juwinar Suharti, 2021).

2. Konstanta Inhibisi (K_i)

Analisis *docking* mengungkapkan bahwa konstanta inhibisi (K_i) berhubungan dengan afinitas pengikatan. Kemampuan suatu obat untuk berikatan dengan reseptor disebut afinitas pengikatan. Afinitas ligan yang tinggi ditunjukkan dengan nilai konstanta inhibisi (K_i) yang rendah (Fakih dkk., 2022).

Persamaan nilai konstanta inhibisi (K_i) sebagai berikut:

$$K_i = e^{-\Delta G / RT} \quad (11.2)$$

ΔG adalah energy penambatan molekul, R adalah konstanta gas, dan T adalah suhu. Konstanta inhibisi adalah penghambatan terhadap aktivitas protein suatu ligan. Nilai K_i menginterpretasikan kestabilan kompleks yang terbentuk antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai K_i , semakin tinggi afinitas ligan pada sisi aktif protein, sehingga aktivitas senyawa semakin baik.

3. Interaksi Ikatan

Suatu senyawa atau obat harus berikatan dengan reseptor, terdapat beberapa ikatan yang dapat terjadi diantaranya :

a. Ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang dapat berinteraksi antara ligan dan protein. Ikatan hidrogen ini terbentuk karena adanya gugus donor ikatan hidrogen dan gugus akseptor ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan interaksi pengikatan terkuat ketika molekul berada dalam orientasi interaksi tipe ikatan kapasitif. Namun pada kondisi normal, ikatan hidrogen tidak mudah lepas dari situs aktifnya dan tidak bersifat permanen sehingga menjadikannya salah satu ikatan terbaik untuk interaksi obat (Putra, 2022).

b. Ikatan Ionik

Ikatan ionik adalah interaksi elektrostatis antara ion-ion dalam senyawa ionik. Ion-ion dalam ikatan ini adalah kation dan anion. Kekuatan ikatan-ikatan ini kira 5-10 kkal/mol. Dengan demikian, ikatan ionik tergolong ikatan yang berikatan sangat kuat pada tempat pengikatnya dan sulit dihilangkan, sehingga ikatan tersebut tidak cocok untuk berikatan dengan reseptor. Namun, ikatan ionik dapat berinteraksi dengan obat dan berikatan dengan reseptor, sehingga ikatan ionik dapat meningkat secara signifikan ketika molekul obat berdifusi mendekati reseptor (Saito, 1996).

c. Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik dapat menghasilkan pengikatan yang sangat lemah pada reseptor, berkisar antara 0,5 hingga 1 kkal/mol. Ikatan ini biasanya

berkontribusi terhadap aviditas yang menarik ligan alami ke reseptor senyawa organik non polar. Obligasi tahan air ini disebut juga obligasi *Van der Waals*, yang menunjukkan kurang efektifnya ikatan ini untuk berikatan dengan binding site karena ikatan tersebut terlalu lemah dan mudah putus.

d. Ikatan *Van Der Waals*

Ikatan *van der waals* merupakan ikatan antara dua atom yang saling mendekati satu sama lain, kemudian kedua atom membentuk gaya tarik menarik yang lemah dan nonspesifik yang akan menyebabkan interaksi *van der waals* (Su'ud & Hufri, 1998).

2.10 Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan untuk mendapatkan pengaturan metode yang valid. Validasi penambatan molekul dalam aplikasi Autodock dengan cara penambatan ulang ligan alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi di tentukan dengan pengaturan gridbox. Dikatakan valid jika hasil penambatan ulang pada pose pengikatan paling baik mendapatkan nilai *Root Mean Square Devition* (RMSD) $< 2\text{\AA}$. Selanjutnya pengaturan gridbox tersebut yang digunakan dalam metode penambatan molekul senyawa uji water kefir.

2.11 Visualisasi Penambatan Molekul

Visualisasi penambatan molekul menggambar interaksi ligan dengan protein yang membentuk ikatan intermolekul dengan residu asam amino. Ada tiga dasar visualisasi yaitu atomic, permukaan dan representasi grid. Representasi atom biasanya digunakan saat penilaian berdasarkan fungsi energy potensial dan paling banyak digunakan dalam visualisasi. Metode permukaan mewakili topografi molekul menggunakan fungsi geometric. Metode grid menjelaskan molekul menggunakan diskrit 3D, fungsi yang membedakan permukaan dari interior dari molekul target.

2.12 Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul merupakan metode pengujian *in silico* yang dapat memprediksi bagaimana ligan uji akan berinteraksi dengan reseptor protein target dan memastikan mekanisme kerjanya. Studi docking ini mengeksplorasi berbagai struktur molekul yang saling berhubungan dalam tiga dimensi dengan mempelajari dan memprediksi teknik molekuler serta mengidentifikasi konformasi dan afinitas pengikatan di antara keduanya (Saputra, 2018)

Simulasi dinamika molekul mengasumsikan bahwa setiap atom senyawa obat terus bergerak di dalam tubuh. Perubahan struktur, pengikatan ligan, dan pelipatan protein merupakan beberapa proses biomolekuler yang dapat diprediksi dengan simulasi dinamika molekul. Selain itu, simulasi ini juga dapat memprediksi pada tingkat atom respon biomolekul terhadap adanya gangguan seperti mutasi, protonasi, fosfolirasi, atau penambahan atau penghapusan ligan. Penggunaan simulasi dinamika molekul dalam mengombinasikan berbagai teknik seperti transfer energi resonansi forster (FRET), biologi *structural* eksperimental, *Electron Paramagnetic Resonance* (EPR), termasuk kristalografi sinar-X, *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), dan *mikroskop cryoelektron* (cryo-EM).

2.12.1 Tahapan simulasi dinamika molekul

Simulasi dinamika molekul ini terdiri dari beberapa tahapan antara lain persiapan berkas ligand dan reseptor, pembuatan topologi dan koordinat ligand reseptor, solvasi, minimisasi, ekulibrasi, produksi, dan interpretasi hasil simulasi dinamika molekul.

1. Persiapan file ligand reseptor, simulasi dinamika molekul dimulai dengan mempersiapkan berkas masukan, yaitu masing-masing ligand an reseptor. Ligan yang digunakan adalah senyawa terbaik dari hasil penambatan molekul senyawa uji.
2. Pembuatan topologi dan koordinat, pembuatan dibuat melalui berkas ligan, reseptor, dan kompleks ligan-reseptor dalam kondisi vakum dan dalam pelarut air. Tahapan topologi menggambarkan susunan atom-atom pada suatu molekul susunannya tidak mengalami perubahan baik dari awal sampai akhir simulasi namun posisinya berubah. Tahapan ini dilakukan agar simulasi

berlangsung pada susunan atom yang tetap dan tidak ada perubahan struktur atom-atom backbone residu maupun ligan.

3. Solvasi, system dilarutkan dalam suatu model pelarut air. Model air digunakan supaya ligan-reseptor dilarutkan dalam suatu model air tujuannya mengkoordinasikan sesuai dengan fisiologis tubuh manusia, yang kandungan terbesarnya adalah air.
4. Netralisasi, muatan listrik yang ditimbulkan oleh air dapat menimbulkan gangguan terhadap system, tujuan netralisasi adalah agar system menjadi keadaan netral, dengan penambahan ion seperti Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- .
5. Minimisasi, untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan (merelaksasi system). Terdiri dari tiga tahap yakni tahap pertama minimisasi terhadap molekul air saja, tahap kedua merupakan tahapan yang diberi tahapan terhadap proteinnya saja dan tahap terakhir merupakan minimisasi terhadap seluruh system yang tidak diberi tahanan agar minimisasinya maksimal
6. Ekuilibrasi, dilakukan untuk menstabilkan suhu, volume dan tekanan pada system, sehingga system mencapai keadaan konstan sebelum menjalani simulasi dinamika molekul. Ada empat parameter yang harus diamati setelah ekuilibrasi dilakukan. Keempat parameter tersebut adalah temperature, berat jenis, energy potensial, dan RMSD (Root Mean Square Deviation)
7. Produksi, sebelumnya dilakukan pengecekan terhadap temperature, berat jenis, energy potensial, dan RMSD. Parameter tersebut dilihat untuk menentukan apakah system telah siap untuk dilakukan proses produksi atau tidak

2.12.2 Parameter Simulasi Dinamika Molekul

Terdapat beberapa parameter simulasi dinamika molekul untuk mengetahui hasil dari simulasi dinamika molekul diantaranya sebagai berikut :

1. Jumlah Ikatan Hidrogen

Parameter ikatan hidrogen merupakan inti dari pembentukan dan stabilitas 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 persentase *occupancy* (*%occupancy*) masing-masing, dan yang dapat dikatakan stabil adalah yang memiliki nilai diatas lima puluh persen (>50%) (Juwinar Suharti, 2021).

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 (Kiswandaru, 2020). Dalam simulasi dinamika molekul, analisis RMSD merupakan analisis utama yang memungkinkan untuk mengamati stabilitas keseimbangan dan fleksibilitas suatu protein.

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 (Kiswandaru, 2020)

4. Analisis Interaksi

Ikatan yang terbentuk diantaranya ikatan hydrogen, ikatan ionic, dan ligan lainnya. Ikatan hydrogen yang terbentuk oleh simulasi dinamika molekul memberikan analisis statistik stabilitas setiap interaksi tersebut. Parameter yang akan dianalisis adalah persentase *occupancy*. Singkatnya semakin besar nilai numeric dari persentase *occupancy*, semakin baik. Pada simulasi dinamika molekul analisis kondisi ikatan hydrogen dilakukan ketika tercapai kestabilan pada proses simulasi yang ditandai dengan stabilnya RMSD dan energy potensial.

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

Parameter MMGBSA bertujuan untuk menghitung energi bebas ikatan antara protein dan ligan dalam simulasi dinamika molekuler dengan menggabungkan perhitungan mekanika molekuler menggunakan model Generalized Born (GB) dengan perhitungan solvasi kontinum. MMGBSA dapat memprediksi afinitas pengikatan protein-ligan dan memahami interaksi pada tingkat atom (Kiswandaru, 2020).

2.13 Perangkat Lunak

A. Autodock

Autodock adalah perangkat lain yang dirancang untuk melakukan molekuler docking dan skrining pada senyawa kecil seperti reseptor dan makromolekul biologi dengan struktur yang diketahui. Proses ini dilakukan, diimplementasikan, dan diuji dengan berbagai kumpulan protein-ligan (Imroatul, 2023).

Autodock dibuat untuk membantu menghubungkan berbagai sistem komputer. Mekanisme kerjanya menerima file reseptor dan ligan dan kemudian memprediksi interaksi reseptor dan ligan. Pengguna biasanya memulai dengan reseptor dan kristalografi atau spektroskopi NMR, serta ligan yang dibuat dari string SMILES, atau bisa juga menggunakan metode lain (Prasetyo dkk., 2019).

B. GROMACS

GROMACS adalah salah satu kode perangkat lunak sumber terbuka dan gratis yang paling banyak digunakan dalam bidang kimia, terutama untuk simulasi dinamika molekul. Tujuan dari GROMACS adalah untuk memberikan kinerja dan efisiensi setinggi mungkin pada perangkat keras apa pun, sehingga hasil maksimum yang dapat dicapai sehingga memanfaatkan sumber daya yang langka dengan sebaik mungkin (Mazyadi, 2023).

Metode komputasi program GROMACS menggunakan proses stokastik dan mendukung operasional multiparalel dengan beberapa prosesor sekaligus, program ini berjalan lebih cepat saat menjalankan program. Simulasi membran, simulasi protein membran, interaksi molekul dengan sinar X, studi mekanika kuantum dan klasik, simulasi pembentukan konformasi 3D protein (folding), mekanisme docking ligan dengan molekul tertentu, dan pengujian stabilitas makromolekul adalah

beberapa aplikasi GROMACS yang dapat digunakan (Iswandoko, 2023).

C. Avogadro

Perangkat lunak yang dapat digunakan untuk membuat bentuk molekul tiga dimensi adalah Avogadro. Visualisasi dengan program Avogadro dapat membuat pemahaman konsep abstrak lebih mudah dipahami dan lebih menyenangkan untuk menyampaikan pengetahuan tersebut. Avogadro memiliki fitur visualisasi molekul yang luar biasa dan akan sangat membantu siswa dalam mempelajari teori VSEPR dan kimia organik. Selain itu, dalam bidang komputasi, program Avogadro digunakan untuk menyusun input file (Yuanita dkk., 2018).

D. Discovery Studio Visualizer

Software Discovery Studio digunakan untuk visualisasi yang bertujuan untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara ligan dan protein. Software ini dapat menampilkan interaksi ligan yang terjadi serta residu asam amino apa pun yang terlibat dalam proses pengikatan antara ligan dan protein. Kelebihan software Discovery Studio adalah dapat menampilkan hasil interaksi dalam bentuk tiga dimensi dan dua dimensi. Interaksi seperti ikatan hidrogen dan ikatan antara C-H adalah beberapa contoh interaksi yang dapat ditampilkan. Interaksi-interaksi ini memainkan peran dalam mengikat ligan dengan reseptor (Iswandoko, 2023).

E. Visual Molecular Dynamic

Visual Molecular Dynamic adalah program grafis molekuler yang dirancang untuk tampilan dan analisis molekul, khususnya biopolymer seperti protein dan asam nukleat. VMD dapat secara bersamaan menampilkan sejumlah struktur menggunakan berbagai gaya rendering dan metode pewarnaan. Molekul ditampilkan sebagai satu atau lebih “representasi”, dimana setiap representasi mewujudkan metode rendering tertentu dan skema pewarnaan untuk subset atom yang dipilih. Atom yang ditampilkan dalam setiap representasi dipilih menggunakan sintaks pemilihan atom ekstensif yang mencakup operator Boolean dan ekspresi regular (Iswandoko, 2023b).