

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 tinggi nya 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 masuk nya makanan ke dalam tubuh. GLP-1 memiliki kemampuan untuk menstimulasi sekresi insulin dan menekan pelepasan glucagon 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 and 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).

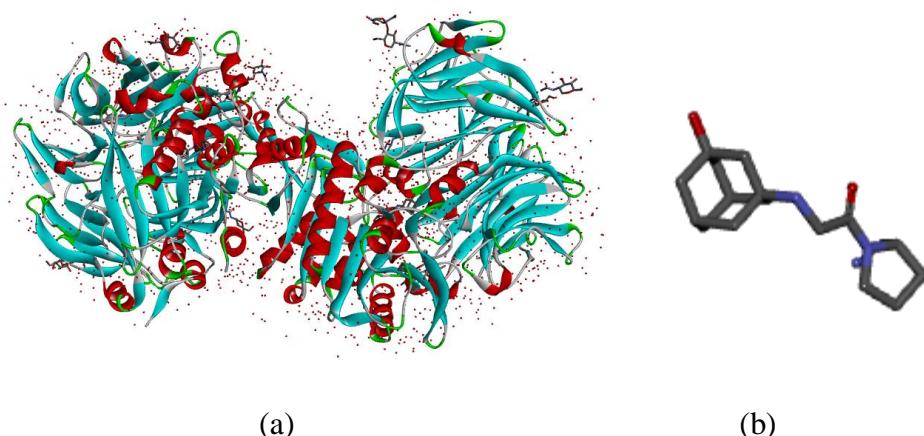
Enzim : *DPP4 – 6b1e*

Klasifikasi : *HYDROLASE*

Organisme : *Homosapiens*

Metode : *X-Ray Diffraction*

Resolusi : 1,62Å



Gambar II.1. Enzim DPP4 (a) dan Ligand 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 rasa nya 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 farmakologi nya 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 berhasi 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 diatas tanah yang menghasilkan senyawa golongan terpenoid dan flavonoid (Okuhuarobo 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 mengelompokan 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 gibbs (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 persentase *occupancy* (%occupancy) masing-masing, dan yang dapat dikatakan stabil adalah yang memiliki nilai diatas lima puluh persen (>50%) (Lindahl, 2008).

2. *Root Mean Square Devation* (RMSD)

Dalam analisis dinamika molekul, gerakan struktur pada waktu tertentu dapat dianalisis dengan mengamati parameter *Root Mean Square Devation* (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 (Lindahl, 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).