

Daun Cempaka Kuning (*Michelia champaca* Linn) sebagai Kandidat Penghambat Enzim α -glukosidase secara *In Silico*

Riyanti Amalia, Made Laksmi Meiliana, La Hamidu*
STIKes Adila, Bandar Lampung, Indonesia

Article info	Abstrak
History Submission: 15-12-2023 Review: 26-01-2024 Accepted: 21-05-2024 *Email: hamidun30@gmail.com DOI: 10.33096/jffi.v11i1.1183 Kata Kunci: <i>Andrographolide; pimaric acid, α-glukosidase; 3A4A; 2QMJ</i>	Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi di seluruh dunia dan terus meningkat dengan pesat. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas dan mekanisme kerja senyawa antioksidan daun cempaka kuning sebagai antidiabetes dengan metode <i>in silico</i>. Penelitian ini menggunakan 8 senyawa antioksidan daun cempaka kuning, yaitu <i>octadecadienoic acid</i>, <i>butanoic acid</i>, <i>oleic acid</i>, <i>camphorsulfonic acid</i>, <i>pimaric acid</i>, <i>phenol</i>, <i>andrographolide</i> dan <i>benzoic acid</i>. Enzim α-glukosidase yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari situs <i>Protein Data Bank</i> dengan kode PDB ID 3A4A dan 2QMJ. Penambatan ligan-makromolekul menggunakan program <i>AutoDockTools</i> (ADT) dan <i>AutoDock Vina</i>. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa antioksidan daun cempaka kuning yang memiliki nilai ΔG_{bind} paling kecil adalah <i>pimaric acid</i> (-8,9 kcal/mol) dan <i>andrographolide</i> (-8,6 kcal/mol) pada PDB ID 3A4A. Hasil <i>docking</i> menggunakan PDB ID 2QMJ, senyawa dengan ΔG_{bind} paling kecil adalah <i>andrographolide</i> (-7,4 kcal/mol). Hasil visualisasi interaksi ligan dengan residu asam amino makromolekul PDB ID 3A4A menunjukkan residu Arg315, Arg442, dan Tyr158 ditemukan pada senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling kecil. Pada makromolekul PDB ID 2QMJ, residu Asp542 ditemukan pada semua senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling kecil. Berdasarkan hasil tersebut, senyawa <i>pimaric acid</i> dan <i>andrographolide</i> mempunyai potensi sebagai obat antidiabetes dibanding senyawa yang lain dengan mekanisme kerja menghambat enzim α-glukosidase.
Keywords: <i>Andrographolide; pimaric acid; α-glukosidase; 3A4A; 2QMJ</i>	Abstract <i>Diabetes Mellitus (DM) is a chronic disease that occurs worldwide and continues to increase rapidly. The purpose of this study was to determine the activity and mechanism of action of the antioxidant compounds in cempaka kuning leaves as an antidiabetic using the in silico method. This study used 8 antioxidant compounds from cempaka kuning leaves, namely octadecadienoic acid, butanoic acid, oleic acid, camphorsulfonic acid, pimaric acid, phenol, andrographolide, and benzoic acid. The α-glucosidase enzymes used in this study were obtained from the Protein Data Bank website with the PDB ID codes 3A4A and 2QMJ. Ligand-macromolecule docking using AutoDockTools (ADT) and AutoDock Vina programs. The results showed that the antioxidant compounds in cempaka kuning leaves that had the lowest ΔG_{bind} values were pimaric acid (-8.9 kcal/mol) and andrographolide (-8.6 kcal/mol) in PDB ID 3A4A. The docking results used PDB ID 2QMJ, the compound with the smallest ΔG_{bind} was andrographolide (-7.4 kcal/mol). The results of visualization of the interaction of the ligand with the macromolecular amino acid residue PDB ID 3A4A showed that the residues Arg315, Arg442, and Tyr158 were found in the compound with the smallest ΔG_{bind}. In the PDB ID 2QMJ macromolecule, Asp542 residue was found in all compounds with the smallest ΔG_{bind}. Based on these results, the compounds pimaric acid and andrographolide have potential as antidiabetic drugs compared to other compounds with a mechanism of action of inhibiting the α-glucosidase enzyme.</i>



I. Pendahuluan

Cempaka kuning dikenal dengan nama latin *Michelia champaca* (L.) Baill. Ex Pierre (Famili Magnoliaceae) merupakan salah satu tumbuhan asli dari wilayah Indo-malaya (Aditya and Ramadhania, 2019). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa daun cempaka kuning memiliki aktivitas antiinflamasi, antifertilitas, antiulcer, entelmentik, antimikroba, analgesik, diuretik, sitotoksik, dan antidiabetes (Hossain *et al.*, 2009; Geetha, Jeyaprakash and Nagaraja, 2011; Karthikeyan V and Br, 2016; Ruwali, Adhikari and Sharma, 2019). Hasil penelitian yang dilakukan Ruwali *et al.* melaporkan bahwa ekstrak metanol daun cempaka kuning memiliki aktivitas antioksidan (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)) paling tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang lain dengan IC₅₀ sebesar 72,03±1,29 µg/mL. Cempaka kuning juga dilaporkan mengandung senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, tanin, glikosida, karbohidrat, asam amino, saponin, dan senyawa fenolik (Ruwali, Adhikari and Sharma, 2019). Penelitian yang dilakukan oleh (Wei *et al.* (2011) melaporkan bahwa cempaka kuning mengandung senyawa antioksidan seperti *octadecadienoic acid*, *butanoic acid*, *oleic acid*, *camphorsulfonic acid*, *pimaric acid*, *phenol*, *andrographolide*, dan *benzoic acid*.

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi di seluruh dunia dan terus meningkat dengan pesat (Hamidu, Simanjuntak and Dewi, 2020). *International Diabetes Federation* (IDF) melaporkan bahwa diperkirakan 537 juta orang dewasa umur 20-79 tahun diseluruh dunia menderita DM. Pada tahun 2030 sekitar 643 juta orang dan tahun 2045 sekitar 783 juta orang diperkirakan mengidap DM (*International Diabetes Federation*, 2021). Pendekatan terapi untuk DM yang paling umum adalah menekan hiperglikemia postprandial dengan menghambat enzim α -glukosidase (Kashtoh and Baek, 2022).

Uji inhibisi α -glukosidase selain dengan metode *in vitro* maupun *in vivo*, dapat juga dilakukan dengan metode *in silico* melalui penambatan molekuler (*molecular docking*). *In silico* adalah metode penelitian yang memanfaatkan teknologi komputasi dan database yang memiliki kontribusi tinggi dalam *drug discovery* (Baig *et al.*, 2014). Metode ini akan menghemat biaya dan waktu karena dapat memprediksi struktur obat melalui persamaan matematika, visualisasi dalam bentuk tiga dimensi, serta dapat mengevaluasi interaksi antara senyawa dengan senyawa target sebelum mensintesis struktur tersebut menjadi obat (Leach, Shoichet and Peishoff, 2006; Trott and Olson, 2010).

II. Metode Penelitian

II.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat laptop merk Acer Aspire A514-

54 Core i3 dengan spesifikasi CPU @ 3.00 GHz RAM 4,00 GB, seperangkat komputer dengan spesifikasi Windows 10 64-bit dengan program <http://zinc.docking.org>, program *Open Babel*, Aplikasi *AutoDockTools*, *AutoDock Vina* dan program *Discovery Studio 2019 Client*.

II.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 8 senyawa antioksidan daun cempaka kuning (*Michelia champaca* Linn) yaitu *octadecadienoic acid*, *butanoic acid*, *oleic acid*, *camphorsulfonic acid*, *pimaric acid*, *phenol*, *andrographolide*, dan *benzoic acid*, kontrol positif akarbose dan kuersetin, enzim α -glukosidase dengan kode 3A4A dan 2QMJ.

II.3 Penentuan struktur 3D α -glukosidase

Struktur α -glukosidase yang digunakan adalah cetakan kristal isomaltase *Saccharomyces cerevisiae* yang diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode PDB ID 3A4A (Yamamoto *et al.*, 2010). Makromolekul diunduh dalam format file .pdb. Makromolekul dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu non standar dengan menggunakan program *Discovery Studio 2019 Client*. Hasil pemisahan tersebut akan digunakan untuk penambatan. Hasil pemisahan disimpan dalam format .pdb. Selain itu, juga digunakan makromolekul α -glukosidase dengan kode PDB ID 2QMJ (Sim *et al.*, 2008) yang berasal dari kristal sub-unit N-terminal Maltase-Glukoamilase Manusia (NtMGAM).

II.4 Pembuatan dan Optimasi Struktur Ligan

Struktur ligan dan kontrol positif diambil dari situs <http://zinc.docking.org> dalam bentuk format .sdf. Ligan yang digunakan adalah senyawa antioksidan daun cempaka kuning, yaitu *octadecadienoic acid*, *butanoic acid*, *oleic acid*, *camphorsulfonic acid*, *pimaric acid*, *phenol*, *andrographolide* dan *benzoic acid*, sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah akarbose dan kuersetin. Format .sdf diubah ke dalam bentuk .pdb dengan program *Open Babel*.

II.5 Penambatan Ligan terhadap Makromolekul

Penambatan ligan terhadap α -glukosidase dilakukan dengan program *AutoDockTools* (ADT) dan *AutoDock Vina*. Berkas makromolekul dan berkas ligan diubah dari format .pdb menjadi .pdbqt. Setelah itu dilakukan penentuan batasan ruangan penambatan molekuler (*grid box*). Parameter ukuran grid yang dipilih untuk makromolekul 30 dengan kode 3A4A adalah 28×28×28 Å dengan pusat koordinat X=21,272, Y=-0,752, dan Z=18,637 berdasarkan struktur ligan yang kompleks. Sedangkan Parameter ukuran grid 2QMJ adalah 64×28×28 Å dengan pusat koordinat X=-20,808, Y=-6,58627, dan Z=-5,0737. Pada *command prompt*, dijalankan perintah *vina.exe -config conf.txt*. Hasil akan ditampilkan dalam

bentuk *log.txt* dan *out.pdbqt*.

II.6 Analisis Data

Hasil penambatan yang diperoleh, dilakukan evaluasi penilaian dan visualisasi. Tahapan evaluasi penilaian dan visualisasi hasil penambatan molekuler dapat dilakukan dengan memilih menu *File* → *Open* → Pilih makromolekul dengan format file *.pdb*. Kemudian pilih menu *File* → *Insert From* → *File* → Pilih file *out.pdbqt* → *Scripts* → *Ligan Interaction* → *Show Ligand Binding Site Atoms* (tampilan 3D) → pilih *Show 2D Diagram* (tampilan 2D). Hasil penambatan molekuler yang diamati adalah jenis ikatan dari hasil penambatan ligan dengan makromolekul. Nilai energi bebas (ΔG) dan RMSD dapat dilihat pada file *log.txt*.

III. Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini menggunakan metode *in silico* untuk memprediksi kemampuan penghambatan enzim α -glukosidas dari senyawa bahan alam. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 8 senyawa antioksidan daun cempaka kuning (*Michelia champaca* Linn) yang diperoleh dari hasil penelitian (Wei *et al.*, 2011) yaitu

octadecadienoic acid, *butanoic acid*, *oleic acid*, *camphorsulfonic acid*, *pimaric acid*, *phenol*, *andrographolide*, dan *benzoic acid*. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian adalah akarbose dan kuersetin. Akarbose dipilih karena merupakan obat untuk DM tipe 2 dengan mekanisme kerja menghambat enzim α -glukosidase (Budianto and Hairullah, 2017; Yuniarto and Selifiana, 2018). Sedangkan Kuersetin merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan dan dilaporkan memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase (Rahmi, Jufri and Mun'im, 2020). Oleh sebab itu, kedua senyawa ini sangat cocok digunakan sebagai kontrol positif.

Makromolekul yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim α -glukosidase yang berasal dari struktur kristal isomaltase dari *Saccharomyces cerevisiae* yang di download dari situs <https://www.rcsb.org/> dengan PDB ID 3A4A, resolusi 1,6 Å dan dalam format file *.pdb*. Selain itu, digunakan juga makromolekul PDB ID 2QMJ, dimana enzim α -glukosidase berasal dari struktur kristal Subunit N-terminal Maltase-Glukoamilase Manusia dari *Homo sapiens* dengan resolusi 1,9 Å.



Gambar 1. Enzim α -glukosidase PDB ID 3A4A (a) dan 2QMJ (b) tanpa ligan dan molekul air

File struktur makromolekul α -glukosidase yang didownload dari database umumnya masih mengandung ligan dan molekul air. Ligan dan molekul air harus dihilangkan sebelum digunakan karena dapat mengganggu proses *docking*. Pada penelitian ini, ligan dan molekul air dihilangkan menggunakan program *Discovery Studio 2019 Client*.

Selanjutnya, Optimasi makromolekul meliputi penambahan atom hidrogen dan pengaturan *grid box parameter*. Penambahan atom hidrogen (protonasi) dimaksudkan agar suasana ketika melakukan *docking* antara ligan dan makromolekul mendekati suasana pH sitoplasma sel (pH 7) seperti pH yang didalam tubuh. Sedangkan, pengaturan *grid box parameter* bertujuan untuk menentukan ruang tambat ligan pada makromolekul saat proses *docking*.

Pengaturan pada *grid box* meliputi *center_x*, *center_y*, *center_z* untuk mengatur letak *parameter box* pada makromolekul protein, kemudian *size_x*, *size_z*, *size_y* dan *spacing* (Angstrom) untuk menentukan besar kecilnya *grid box* untuk ruang tambat ligan tersebut. Parameter ukuran *grid* yang dipilih untuk makromolekul dengan kode 3A4A adalah 28×28×28 Å dengan pusat koordinat X=21,272; Y=-0,752; dan Z=18,637 berdasarkan struktur ligan yang kompleks. Sedangkan Parameter ukuran *grid* 2QMJ adalah 64×28×28 Å dengan pusat koordinat X=-20,808, Y=-6,58627, dan Z=-5,0737 dan *spacing* (Angstrom) = 1. Setelah semua proses optimasi makromolekul selesai, file disimpan dalam format *.pdbqt*. Format file *.pdbqt* menunjukkan bahwa file *.pdb* makromolekul sebelumnya sudah diberikan muatan *gasteiger* agar makromolekul dapat menyesuaikan

dengan lingkungan *docking* nantinya, sehingga dapat dilakukan perhitungan dengan benar (Morris *et al.*, 2012).

Struktur ligan dan kontrol positif pada penelitian ini diambil dari situs database <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan format file *.sdf*. File Ligan dan kontrol positif dengan format *.sdf* kemudian dikoversi menjadi format *.pdb* dengan menggunakan program *Open Babel GUI*. Hal ini dilakukan agar ligan dan kontrol positif dapat dioptimasi menggunakan program *AutoDockTools*. Optimasi ligan dan kontrol positif meliputi penambahan muatan *gasteiger* dan pengaturan *number of active torsion*. Penambahan muatan *gasteiger* adalah penambahan atom hidrogen pada ligan dan kontrol positif, dimana muatan *gasteiger* ini akan secara otomatis ditambahkan pada saat file ligan dan kontrol positif dibuka menggunakan program *AutodockTools*. Selanjutnya, diatur *number of active torsion* yang bertujuan untuk menentukan ikatan-ikatan aktif pada ligan dan kontrol positif yang diputar selama proses *docking* berlangsung, sehingga mengurangi kinerja dan juga waktu yang diperlukan untuk proses *docking*. Torsi aktif tersebut hanya ada pada molekul yang memiliki ikatan sigma saja. Semakin banyak ikatan sigma pada molekul semakin banyak torsi aktifnya, sehingga perlu dibatasi (Fikry, 2014). Pada penelitian ini, *number of active torsion* yang dipilih adalah 6, berdasarkan pada standar yang biasa digunakan dalam pengaturan torsi aktif. Ligan dan kontrol positif yang telah dioptimasi kemudian disimpan dalam format file *.pdbqt*.

Pada penelitian ini digunakan program *AutoDock Vina* untuk melakukan *docking*. Program ini dipilih karena proses *docking* yang cepat dan hasil yang akurat dibandingkan dengan *AutoDock 4* dalam memprediksi afinitas pengikatan antara ligan dan makromolekul (Trott and Olson, 2010; Li *et al.*, 2015). Proses *docking* diawali dengan

menyimpan file ligan dan makromolekul dengan format file *.pdbqt* yang telah dibuat sebelumnya dan file *vina.exe*, *vina licence*, dan *vina_split* kedalam folder yang sama. Kemudian dibuat file *notepad* dengan nama *conf.txt*. Penulisan isi konfigurasi file *conf.txt* disesuaikan dengan nama file ligan, makromolekul, dan pengaturan *grid box parameter* yang telah diatur sebelumnya seperti pada Gambar 9.

Setelah file konfigurasi dalam *notepad* selesai dibuat, proses *docking* siap dijalankan dengan menggunakan perintah *command prompt*. *Command prompt* dapat dibuka dengan cara mengaktifkan *address bar* → ketik *cmd* → tekan enter. setelah *command prompt* terbuka, jalankan perintah *vina.exe -config conf.txt* → tekan enter. Setelah proses *docking* selesai, maka akan muncul file baru dengan nama *log.txt* yang berisikan nilai afinitas ikatan dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dari hasil *docking* dan file *out.pdbqt* yang merupakan hasil konformasi dari ligan yang telah *didocking*. File *out.pdbqt* ini kemudian dibuka dengan *AutoDockTools* untuk melihat posisi dan orientasi dari ligan pada protein dan juga asam-asam amino yang terikat pada ligan. Data hasil *docking* antara ligan dengan makromolekul dapat dilihat pada Tabel 2.

Analisa *docking* molekular pada penelitian ini meliputi pemeriksaan ΔG_{bind} dan RMSD serta interaksi ligan dengan residu protein. Nilai ΔG_{bind} yang kecil menunjukkan konformasi yang terbentuk adalah stabil, sedangkan nilai ΔG_{bind} yang besar menunjukkan kurang stabilnya kompleks yang terbentuk. Adapun nilai RMSD digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil dan penting untuk validasi program *docking*. Pada umumnya, nilai RMSD dikatakan baik jika memiliki nilai $< 2 \text{ \AA}$ (Cole *et al.*, 2005; Trott and Olson, 2010).

Tabel 2. Hasil *docking* antara ligan dengan protein

Senyawa Kimia	MW	Log P	Hasil Docking			
			3A4A		2QMJ	
			ΔG_{bind} (kcal/mol)	RMSD (Å)	ΔG_{bind} (kcal/mol)	RMSD (Å)
Akarbose	601,91	-5,53	-9,1	0,0	-7,5	0,0
Quercetin	291,96	1,834	-8,9	0,0	-7,4	0,0
Andrographolide	319,97	2,913	-8,6	0,0	-7,4	0,0
Benzoic Acid	115,99	0,982	-5,1	0,0	-5,9	0,0
Butanoic Acid	79,99	0,742	-4,3	0,0	-3,9	0,0
Camphorsulfonic Acid	215,95	0,592	-5,7	0,0	-4,1	0,0
Octadecadienoic Acid	247,99	8,153	-5,5	0,0	-4,6	0,0
Oleic Acid	247,99	8,192	-5,8	0,0	-4,9	0,0
Pimaric Acid	271,99	6,935	-8,9	0,0	-6,5	0,0
Phenol	87,99	0,946	-4,7	0,0	-5,0	0,0

Setelah dilakukan analisa terhadap perubahan energi bebas (ΔG_{bind}) hasil *docking* dan RMSD, diperoleh hasil bahwa senyawa antioksidan daun cempaka kuning yang memiliki nilai ΔG_{bind}

paling kecil adalah *pimaric acid* (-8,9 kcal/mol) dan *andrographolid* (-8,6 kcal/mol) pada PDB ID 3A4A. Nilai ΔG_{bind} senyawa *pimaric acid* sama dengan kontrol kuersetin dan mendekati nilai

ΔG_{bind} akardose. Hasil *docking* menggunakan PDB ID 2QMJ, senyawa dengan ΔG_{bind} paling kecil adalah *andrographolide* (-7,4 kcal/mol). Hasil ini sama dengan nilai ΔG_{bind} kuersetin dan tidak berbeda nyata dengan ΔG_{bind} akardose (-7,5 kcal/mol).

Senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling besar pada makromolekul PDB ID 3A4A berturut-turut adalah *butanoic acid*, *phenol*, *benzoic acid*, *octadecadienoic acid*, *camphorsulfonic acid*, dan *oleic acid*. Sedangkan senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling besar pada makromolekul PDB ID 2QMJ berturut-turut adalah *butanoic acid*, *octadecadienoic acid*, *camphorsulfonic acid*, *oleic acid*, *phenol*, dan *benzoic acid*. Berdasarkan nilai ΔG_{bind} , menunjukan bahwa senyawa-senyawa tersebut kemungkinan memiliki aktivitas sedang sampai yang rendah dalam menghambat enzim α -glukosidase dibandingkan dengan kontrol positif. Hasil ini didukung dengan belum adanya penelitian yang menjelaskan tentang aktivitas dari senyawa *butanoic acid*, *phenol*, *camphorsulfonic acid* dalam menghambat enzim α -glukosidase.

Senyawa *benzoic acid* dan *octadecadienoic acid* juga belum pernah dilaporkan, namun beberapa derivat dari kedua senyawa tersebut seperti 4-[(2-[(4-phenylpiperazin-1-yl)methyl]-4-oxoquinazolin-3(4*H*)-ylidino)methyl]benzoic acid dan 9,12-octadecadienoic acid dilaporkan memiliki aktivitas yang bagus dalam menghambat enzim α -glukosidase (Yang *et al.*, 2017; Sinan-Tokali, 2022). Berdasarkan hal tersebut, *benzoic acid* dan *octadecadienoic acid* masih berpotensi untuk dikembangkan.

Senyawa *oleic acid* berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh menunjukan aktivitas yang sedang dibandingkan dengan kontrol positif. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian yang menyebutkan bahwa *oleic acid* memiliki potensi aktivitas yang baik dalam menghambat *starch digestion* (percernaan/penguraian pati) dibandingkan akardose dan dapat menghambat enzim α -glukosidase secara kompetitif (Su, Hsu and Ng, 2013), sehingga senyawa *oleic acid*

memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai penghambat enzim α -glukosidase.

Penelitian terkait aktivitas senyawa *pimaric acid* dalam menghambat enzim α -glukosidase ataupun sebagai antidiabetes belum pernah dilaporkan sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengkonfirmasi hasil yang diperoleh. Namun senyawa *pimaric acid* pernah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan, sehingga hal ini memungkinkan senyawa *pimaric acid* mempunyai aktivitas yang baik dalam menghambat enzim α -glukosidase. Sedangkan senyawa *andrographolide* dilaporkan memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar gula darah secara signifikan (Nugroho *et al.*, 2012; Naik, Munipally and Nagaraju, 2017; Masaenah *et al.*, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa *andrographolide* dan *pimaric acid* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai penghambat enzim α -glukosidase.

Hasil *docking* juga menunjukkan bahwa penghambatan senyawa kimia terhadap makromolekul dengan PDB ID 3A4A dan 2QMJ memiliki nilai afinitas yang berbeda dimana nilai afinitas antara ligan dan PDB ID 2QMJ lebih kecil dibanding dengan 3A4A, tetapi perbedaan tersebut tidak signifikan. Perbedaan ini dapat disebabkan karena spesifikasi sumber enzim α -glukosidase kedua PDB ID tersebut berbeda. Enzim α -glukosidase PDB ID 3A4A berasal dari struktur kristal isomaltase dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan *expression system* dari *Escherichia coli*, sedangkan enzim α -glukosidase PDB ID 2QMJ berasal dari struktur kristal Subunit N-terminal Maltase-Glukoamilase Manusia dari *Homo sapiens* dengan *expression system* dari *Drosophila melanogaster*.

Selain melihat nilai ΔG_{bind} , interaksi yang terjadi antara ligan dan residu-residu asam amino protein juga dapat dilihat menggunakan metode *in silico*. Identifikasi interaksi ini menggunakan program *Discovery Studio 2019 Client*. Visualisasi interaksi ligan dan residu asam amino protein dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1-4.

Tabel 2. Interaksi ligan dengan residu asam amino protein

Makromolekul	Ligan	Interaksi Ligan Dengan Residu Asam Amino
3A4A	<i>Andrographolide</i>	Arg315 , Tyr158 , Pro312, Asp242, His280, Glu411, Arg442
	<i>Benzoic Acid</i>	Asp215, Phe178, Glu277, Val216, Arg442, Asp352, Asp69
	<i>Butanoic Acid</i>	Arg442, Asp352, Tyr72, His351, Phe178, His112
	<i>Camphorsulfonic Acid</i>	Arg315 , Ser240
	<i>Octadecadienoic Acid</i>	Arg315 , Tyr158, Phe178, Phe303, His280
	<i>Oleic Acid</i>	Glu411, Arg442, Asp69, His351, Tyr72, Asp215, Asp352, Phe178, His280, Gln279, Tyr158 , Phe159, Glu277
	<i>Pimaric Acid</i>	Phe178, Tyr158

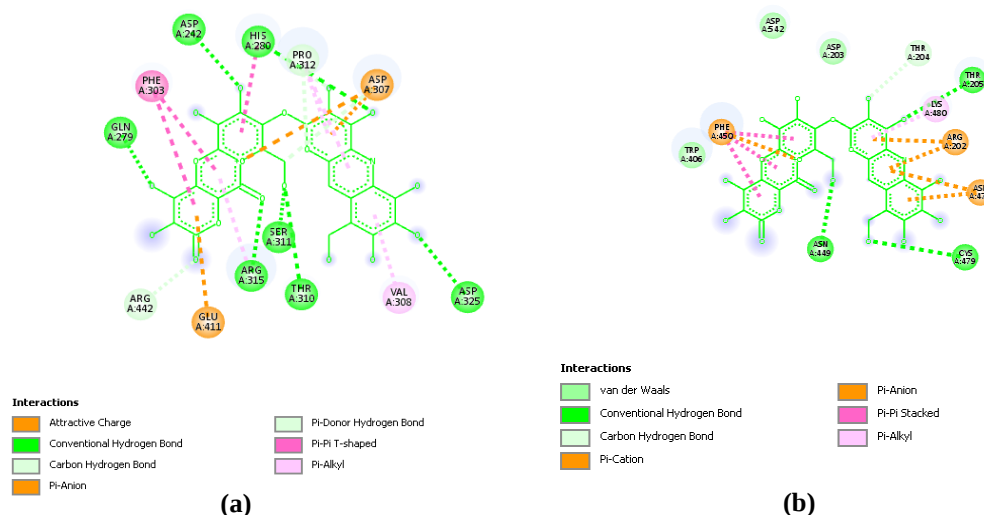
2QMJ	<i>Phenol</i>	Arg442, Asp215, Val216, His351, Asp352, Tyr72
	<i>Akarbose</i>	Gln279, Phe303, Asp242, His280, Pro312, Asp307, Asp325, Val308, Thr310, Ser311, Arg315 , Glu411, Arg442
	<i>Kuersetin</i>	Pro312, Tyr158 , Gln279, Arg315 , Thr310
	<i>Andrographolide</i>	Tyr605, Trp406, Tyr299, Phe575, Asp443, Ile364, Asp327, Trp441, His600, Asp203, Met444, Asp542
	<i>Benzoic Acid</i>	Glu182, Leu540, Trp552, Asp549, Pro206, Pro570, Ser553, Gly556, Val184, His183
	<i>Butanoic Acid</i>	Tyr299, Ile328, Asp443, Trp406, Asp542 , Trp441, His600, Phe575, Asp327
	<i>Camphorsulfonic Acid</i>	Phe575, Tyr299, Trp406, Gln603, Tyr605, Asp542
	<i>Octadecadienoic Acid</i>	Phe450, Trp406, Arg526, Tyr299, Asp203, Tyr605, Phe575, Gln603, Ala576, Tyr214, Thr205, Asp542,
	<i>Oleic Acid</i>	Asp203, Met444, Arg526, Asp327, Ile364, Ile328, Asp443, Tyr299, Trp406, Phe450, Phe575, Asp542 , Ala576
	<i>Pimaric Acid</i>	Asp542 , Tyr299, Phe575, Trp406, Asp203, Phe450, Ser448, Asn449, Lys480
	<i>Phenol</i>	-
	<i>Akarbose</i>	Asn449, Trp406, Phe450, Asp542, Asp203, Thr204, Thr205, Lys480, Arg202, Asp474, Cys479
	<i>Kuersetin</i>	Phe575, Tyr299, Ile364, Asp327, Trp441, Asp443, Trp539, Arg526, Trp406, Asp542 , Asp203, Phe450

Hasil visualisasi interaksi ligan dengan residu asam amino makromolekul PDB ID 3A4A menunjukkan residu Arg315, Arg442, dan Tyr158 ditemukan pada senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling kecil. Sedangkan pada makromolekul PDB ID 2QMJ, residu Asp542 ditemukan pada semua senyawa yang memiliki ΔG_{bind} paling kecil.

Hasil visualisasi interaksi akkarbose dengan residu asam amino (Gambar 1) menunjukkan bahwa terdapat 13 residu asam amino yang terlibat pada PDB ID 3A4A, yaitu interaksi dengan residu asam amino Gln279, Asp242, His280, Asp235, Thr310, Ser311, dan Arg315 yang dimediasi oleh ikatan *conventional hydrogen bond*. Interaksi dengan Arg442, His280, Pro312, Asp307, dan Arg315 yang dimediasi oleh *carbon hydrogen bond* dan *pi-donor hydrogen bond*. Interaksi dengan Val308, Arg315, dan Pro312 yang dimediasi oleh ikatan *pi-alkyl*. Interaksi dengan Phe303 dan His280 dengan ikatan *pi-pi t-shaped*. Dan yang terakhir interaksi dengan Glu411 dan Asp307 dengan ikatan *attractive charge* dan *pi-anion*.

Pada PDB ID 2QMJ, akkarbose berinteraksi dengan residu asam Asp542, Asp203, dan Trp406 yang dimediasi oleh gaya *van der waals*. Interaksi dengan Asp542, Asp203, Thr204, Thr205, Trp406,

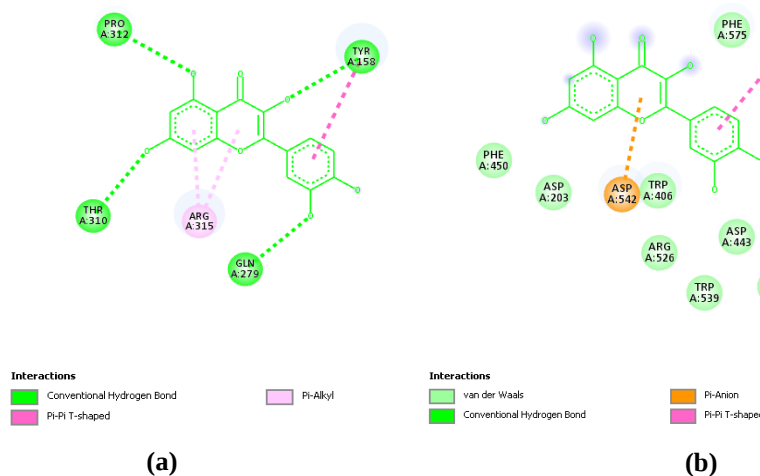
dan Phe450 dengan ikatan *carbon hydrogen bond*. Interaksi dengan Phe450, Arg202, dan Asp474 dengan jenis ikatan *pi-cation* dan *pi-anion*. Interaksi dengan Phe450 dengan ikatan *pi-pi stacked*. Dan yang terakhir interaksi dengan Lys480 dengan ikatan *pi-alkyl*.



Gambar 1. Visualisasi interaksi antara ligan akarbose dengan residu asam amino protein PDB ID 3A4A (a) dan 2QMJ (b)

Hasil visualisasi senyawa kuersetin pada PDB ID 3A4A (Gambar 2) menunjukkan bahwa terdapat 5 residu asam amino yang terlibat. Interaksi tersebut antara lain dengan Thr310, Pro312, Tyr158, dan Gln279 yang dimediasi oleh ikatan *conventional hydrogen bond*. Interaksi dengan Arg315 dengan ikatan *pi-alkyl*. Dan yang terakhir interaksi dengan Tyr158 dengan ikatan *pi-pi t-shaped*.

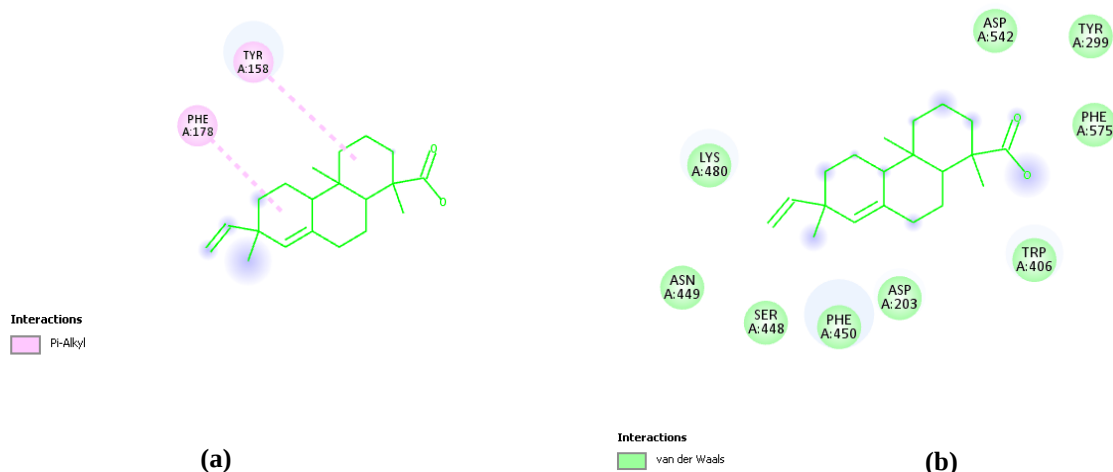
Pada hasil visualisasi dengan PDB ID 2QMJ, terdapat 12 residu asam amino yang terlibat. Interaksi tersebut antara lain dengan Phe450, Asp203, Trp406, Arg526, Asp443, Trp539, Trp441, Ile364, dan Phe575 yang dimediasi oleh gaya *van der waals*. Interaksi dengan Asp327 dengan jenis ikatan *conventional hydrogen bond*. Interaksi dengan Asp542 dengan ikatan *pi-anion*. Dan yang terakhir interaksi dengan Tyr299 dengan ikatan *pi-pi t-shaped*.



Gambar 2. Visualisasi interaksi antara ligan kuersetin dengan residu asam amino protein PDB ID 3A4A (a) dan 2QMJ (b)

Hasil visualisasi senyawa *pimaric acid* dengan PDB ID 3A4A menunjukkan bahwa terjadi interaksi dengan residu asam amino Tyr158 dan Phe178 yang dimediasi oleh ikatan *pi-alkyl* yang juga terjadi pada kontrol positif kuersetin. Terjadi interaksi dengan residu asam amino Asp542, Tyr299, Phe575, Trp406, Asp203, Phe450, Ser448, Asn449, Lys480 yang dimediasi oleh gaya *van der waals* (PDB ID 2QMJ) (Gambar 3). Interaksi ini kemungkinan yang menyebabkan *pimaric acid* memiliki nilai ΔG_{bind} yang sama dengan kontrol kuersetin pada PDB ID 3A4A, sedangkan pada

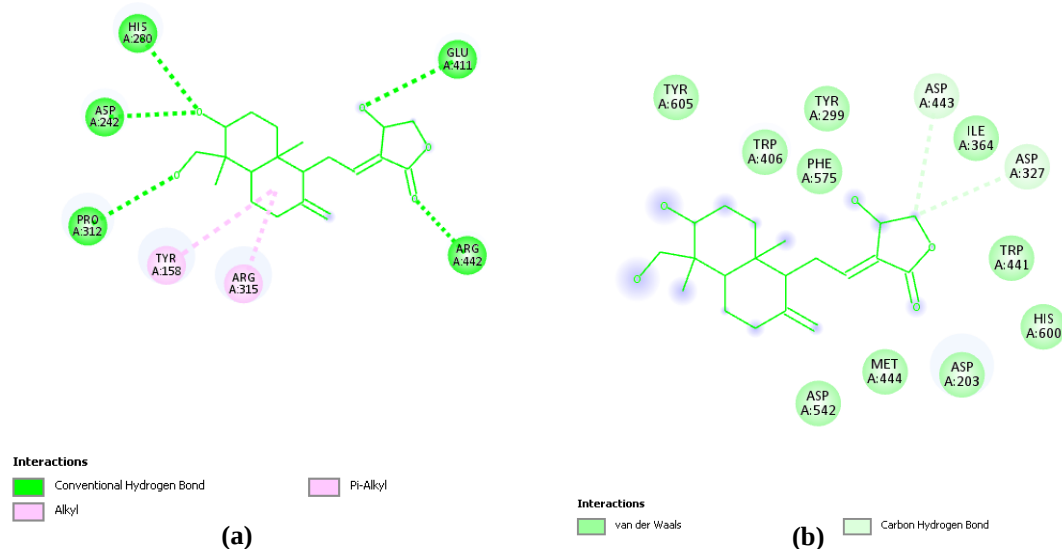
PDB ID 2QMJ tidak memiliki interaksi dengan residu asam amino Asp542 sehingga memiliki nilai ΔG_{bind} lebih besar dibandingkan kontrol positif.



Gambar 3. Visualisasi interaksi antara ligan *pimarinic acid* dengan residu asam amino protein PDB ID 3A4A (a) dan 2QMJ (b)

Hasil penelitian menunjukkan *Andrographolide* memiliki interaksi dengan residu asam amino Arg315 dan Tyr158, dimediasi oleh ikatan *alkyl* dan *Pi-alkyl* (Gambar 4). Ikatan ini ditemukan juga pada kontrol positif akarbose dan kuersetin (PDB ID 3A4A). Interaksi yang lain terjadi dengan residu asam amino Pro312, Asp242, His280, Glu411, dan Arg442 dengan ikatan *conventional hydrogen bond*.

Pada makromolekul PDB ID 2QMJ, *Andrographolide* memiliki interaksi dengan residu asam amino Asp542, Met444, Asp203, His600, Trp441, Ile364, Tyr299, Phe575, Trp406, dan Tyr605 yang dimediasi oleh gaya *van der Waals*. Interaksi ini juga terjadi pada kontrol positif kuersetin tetapi dengan jenis ikatan yang berbeda. Terjadi juga interaksi dengan residu asam amino Asp443 dan Asp327 dengan ikatan *carbon hydrogen bond*.



Gambar 4. Visualisasi interaksi antara ligan *andrographolide* dengan residu asam amino protein PDB ID 3A4A (a) dan 2QMJ (b)

IV. Kesimpulan

Daun cempaka kuning mengandung senyawa antioksidan *andrographolide* dan *pimarinic acid* yang berpotensi sebagai kandidat penghambat enzim α -glukosidase.

Daftar Pustaka

Aditya, W.A. and Ramadhania, Z.M. (2019) 'Artikel Ulasan: Kandungan dan Aktivitas

Farmakologi Tanaman Cempaka Kuning (*Michelia Champaca* Linn.)', *Farmaka*, 16(3), pp. 10–19.

Baig, M.H. *et al.* (2014) 'Drug Discovery and In Silico Techniques: A Mini-Review', *Enzyme Engineering*, 3(2), pp. 1–3. Available at: <https://doi.org/10.4172/2329-6674.1000123>.

- Budianto, N.E.W. and Hairullah, H. (2017) 'Perbedaan Efektivitas Acarbose dengan Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum melongena* L) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa', *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 6(2), pp. 14–20.
- Cole, J.C. *et al.* (2005) 'Comparing Protein–Ligand Docking Programs is Difficult', *Protein*, 60(3), pp. 325–332. Available at: <https://doi.org/10.1002/prot.20497>.
- Fikry, M.A. (2014) *Studi Penambatan Molekul Senyawa–Senyawa Flavonoid Dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) Pada Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ)*. UIN Syarif Hidayatulla Jakarta.
- Geetha, K.N., Jeyaprakash, K. and Nagaraja, Y.P. (2011) 'A Preliminary Pharmacognostical Study on Leaves and Flowers of *Michelia champaca* L. Magnoliaceae', *Journal of Applied and Natural Science*, 3(2), pp. 228–231. Available at: <https://doi.org/10.31018/jans.v3i2.184>.
- Hamidu, L., Simanjuntak, P. and Dewi, R.T. (2020) 'Potensi Ekstrak Buah Buni (*Antidesma bunius* (L) Spreng) Sebagai Inhibitor Enzim α -Glukosidase', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 7(1), pp. 27–30. Available at: <https://doi.org/10.33096/jffi.v7i1.598>.
- Hossain, Md.M. *et al.* (2009) 'Antioxidant, Analgesic and Cytotoxic Activity of *Michelia champaca* Linn. Leaf', *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(2), pp. 1–7.
- International Diabetes Federation (2021) *IDF Diabetes Atlas*. 10th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation.
- Karthikeyan V and Br, B. (2016) 'Pharmacognostical, Phyto-Physicochemical Profile of the Leaves of *Michelia champaca* Linn', *Internasional Journal Of Pharmacy & Pharmaceutical Research.Human*, 7(1), pp. 331–344.
- Kashtoh, H. and Baek, K.H. (2022) 'Recent Updates on Phytoconstituent Alpha-Glucosidase Inhibitors: An Approach towards the Treatment of Type Two Diabetes', *Plants*, 11(20), pp. 1–25. Available at: <https://doi.org/10.3390/plants11202722>.
- Leach, A.R., Shoichet, B.K. and Peishoff, C.E. (2006) 'Prediction of protein-ligand interactions. Docking and scoring: Successes and gaps', *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(20), pp. 5851–5855. Available at: <https://doi.org/10.1021/jm060999m>.
- Li, H. *et al.* (2015) 'Improving AutoDock Vina Using Random Forest: The Growing Accuracy of Binding Affinity Prediction by the Effective Exploitation of Larger Data Sets', *Molecular Informatic*, 34(2–3), pp. 115–126. Available at: <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/minf.201400132>.
- Masaenah, E. *et al.* (2021) 'Antidiabetic Activity and Acute Toxicity of Combined Extract of *Andrographis paniculata*, *Syzygium cumini*, and *Caesalpinia sappan*', *Heliyon*, 7(12), p. e08561. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08561>.
- Morris, G.M. *et al.* (2012) *AutoDock Version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors*. La Jolla, CA USA: The Scripps Research Institute.
- Naik, R.R., Munipally, P.K. and Nagaraju, T. (2017) 'Andrographolide Reorganise Hyperglycaemia and Distorted Antioxidant Profile in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats', *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*, Oct 26. Available at: <https://doi.org/10.2174/1871525715666171026115248>.
- Nugroho, A.E. *et al.* (2012) 'Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-Fructose-fat-fed Rats', *Indian Journal of Pharmacology*, 44(3), pp. 377–381.
- Rahmi, I.A., Jufri, M. and Mun'im, A. (2020) 'Extraction of quercetin from nothopanax scutellarium leaves via ionic liquid-based microwave-assisted extraction', *Pharmacognosy Journal*, 12(6), pp. 1512–1517. Available at: <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.207>.
- Ruwali, P., Adhikari, M. and Sharma, S. (2019) 'Phytochemical and Antioxidant Properties of Various Extracts of *Michelia champaca* Leaves', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 11(5), pp. 56–61. Available at: <https://doi.org/10.22159/ijpps.2019v11i5.31745>.
- Sim, L. *et al.* (2008) 'Human Intestinal Maltase–Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity', *Journal of Molecular Biology*, 375(3), pp. 782–792. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.10.069>.
- Sinan-Tokah, F. (2022) 'Novel Benzoic Acid Derivatives Bearing Quinazolin-4(3H)-one Ring: Synthesis, Characterization, and Inhibition Effects on α -Glucosidase and α -Amylase', *ChemistrySelect*, 7(48), p.

- e202204019. Available at:
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/slct.202204019>.
- Su, C.H., Hsu, C.H. and Ng, L.T. (2013) 'Inhibitory Potential of Fatty Acids on Key Enzymes Related to Type 2 Diabetes', *BioFactors*, 39(4), pp. 415–421. Available at: <https://doi.org/10.1002/biof.1082>.
- Trott, O. and Olson, A.J. (2010) 'Autodock Vina: Improving The Speed And Accuracy Of Docking With A New Scoring Function, Efficient Optimization And Multithreading', *Journal of Computational Chemistry*, 31, p.) 455-461.
- Wei, L.S. *et al.* (2011) 'Characterization of Antimicrobial, Antioxidant, Anticancer Property and Chemical Composition of *Michelia champaca* Seed and Flower Extracts', *Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1), pp. 19–24. Available at: <https://doi.org/10.3329/sjps.v4i1.8862>.
- Yamamoto, K. *et al.* (2010) 'Crystal Structures of Isomaltase from *Saccharomyces cerevisiae* and in Complex with Its Competitive Inhibitor Maltose', *FEBS Journal*, 277(20), pp. 4205–4214. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07810.x>.
- Yang, J.Y. *et al.* (2017) 'Inhibitory Potential of Constituents from *Osmanthus fragrans* and Structural Analogues Against Advanced Glycation End Products, α -Amylase, α -Glucosidase, and Oxidative Stress', *Scientific Reports*, 7(October 2016), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep45746>.
- Yuniarto, A. and Selifiana, N. (2018) 'Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-glukosidase dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) secara In vitro', *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 2(1), pp. 22–25. Available at: <https://doi.org/10.24123/mpi.v2i1.1299>.