

## Studi *In Silico* Senyawa *Erythroxyllum laurifolium* sebagai Inhibitor $\alpha$ -Glukosidase untuk Terapi Diabetes Tipe 2

### *In Silico* Study of *Erythroxyllum laurifolium* Compounds as $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors for Type 2 Diabetes Therapy

Aina Syifa Insanikamilia, Aunur Ramadhani, Nabila Trilia Azzahra, Popy Kurnia, Ervina Dayanti, Naura Nurnahari, Winni Nur Auli\*

Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan, Lampung 35365, Indonesia

#### ARTIKEL INFO

##### Kata Kunci:

Diabetes tipe 2, *Erythroxyllum laurifolium*, *in silico*,  $\alpha$ -glukosidase, MGAM

##### Keywords:

$\alpha$ -Glucosidase, *Erythroxyllum laurifolium*, *in silico*, MGAM, Type 2 diabetes

#### ABSTRAK

Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit metabolik kronis yang memerlukan terapi jangka panjang dengan efek samping yang minimal. Salah satu target terapi potensial adalah enzim  $\alpha$ -glukosidase, yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi glukosa. Dalam studi ini, tujuh senyawa dari *Erythroxyllum laurifolium* dievaluasi menggunakan pendekatan *in silico* untuk menilai potensinya sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Hasil evaluasi menunjukkan bahwa meskipun sebagian besar senyawa tidak memenuhi kriteria Lipinski's Rule of Five, efektivitasnya tetap terjamin karena aksi lokal di lumen usus. Senyawa proisianidin B1 memiliki nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) sebesar  $-6,93$  kkal/mol dengan konstanta inhibisi  $8,30$   $\mu\text{M}$ , diikuti oleh proisianidin B2 dengan  $\Delta G$   $-5,74$  kkal/mol dan konstanta inhibisi  $61,90$   $\mu\text{M}$ . Afzelin, yang memenuhi tiga dari empat kriteria RO5, menunjukkan  $\Delta G$  sebesar  $-5,14$  kkal/mol dengan konstanta inhibisi  $169,65$   $\mu\text{M}$ . Berdasarkan afinitas pengikatan dan potensi farmakologis, proisianidin B1, proisianidin B2, dan afzelin adalah kandidat kuat sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengonfirmasi efektivitas dan keamanannya melalui studi *in vitro* dan *in vivo*.

#### ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus is a chronic metabolic disease that requires long-term therapy with minimal side effects. One potential therapeutic target is the  $\alpha$ -glucosidase enzyme, which catalyzes the breakdown of carbohydrates into glucose. In this study, seven compounds from *Erythroxyllum laurifolium* were evaluated using an *in silico* approach to assess their potential as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. The evaluation results showed that although most of the compounds did not meet Lipinski's Rule of Five criteria, their effectiveness was still assured due to local action in the intestinal lumen. Procyanidine compound B1 had a Gibbs free energy ( $\Delta G$ ) value of  $-6.93$  kcal/mol with an inhibition constant of  $8.30$   $\mu\text{M}$ , followed by procyanidine B2 with a  $\Delta G$  of  $-5.74$  kcal/mol and an inhibition constant of  $61.90$   $\mu\text{M}$ . Afzelin, which fulfilled three of the four RO5 criteria, showed a  $\Delta G$  of  $-5.14$  kcal/mol with an inhibition constant of  $169.65$   $\mu\text{M}$ . Based on the binding affinity and pharmacological potential, procyanidin B1, procyanidin B2, and afzelin are strong candidates as  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. Further research is needed to confirm their effectiveness and safety through *in vitro* and *in vivo* studies.

#### I. Pendahuluan

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia akibat resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Menurut laporan *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2021, sekitar 537 juta orang dewasa di dunia menderita diabetes, dan angka ini diproyeksikan meningkat menjadi 643 juta pada tahun 2030. Di Indonesia, prevalensi diabetes mencapai 10,7% dan menduduki peringkat kelima negara dengan jumlah diabetes terbanyak dengan 19,5 juta penderita di tahun 2021 dan diprediksi akan menjadi 28,6 juta pada tahun 2045 (IDF, 2021). Angka ini menjadikan Indonesia sebagai negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi di Asia Tenggara (Kemenkes RI, 2020).

Salah satu pendekatan terapeutik yang umum dilakukan dalam pengelolaan diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah dengan penggunaan

inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, seperti acarbose dan miglitol. Kedua obat ini bekerja dengan memperlambat penyerapan karbohidrat di usus halus, sehingga lonjakan glukosa postprandial akan menurun. Namun, efek samping gastrointestinal seperti diare, flatulensi, dan rasa tidak nyaman di perut cukup sering dilaporkan, terutama pada fase awal pengobatan. Acarbose maupun miglitol menyebabkan peningkatan produksi gas usus dan ketidaknyamanan gastrointestinal, meskipun tingkat keparahan dan frekuensinya dapat berbeda antarindividu (Aoki *et al.*, 2020). Penelitian lain juga mengungkap adanya beberapa kasus hepatitis reversibel yang dikaitkan dengan penggunaan acarbose jangka panjang, meskipun penyerapan sistemik acarbose sangat rendah (LiverTox, 2012). Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian alternatif inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang memiliki efektivitas tinggi dengan efek samping minimal tetap menjadi fokus penelitian farmakologis saat ini.

*Erythroxylum laurifolium* merupakan tanaman endemik yang ditemukan di wilayah Mauritius yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengelola diabetes. Penelitian oleh Bahorun et al. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak metanolik dari daun *E. laurifolium* memiliki aktivitas penghambatan yang signifikan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase, dengan persentase inhibisi mencapai 96,87% pada konsentrasi 5000  $\mu\text{g/mL}$ . Selain itu, ekstrak ini juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, yang dapat membantu mengurangi stres oksidatif yang sering dikaitkan dengan komplikasi diabetes. Studi yang lebih mendalam oleh Picot et al. (2014) menunjukkan bahwa *E. laurifolium* memiliki aktivitas antidiabetes yang kuat melalui beberapa mekanisme. Ekstrak metanolik tanaman ini tidak hanya menunjukkan aktivitas penghambatan  $\alpha$ -amilase dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  sebesar 7,47 mg/mL, tetapi juga mekanisme inhibisi campuran terhadap  $\alpha$ -amilase dan mekanisme inhibisi non-kompetitif terhadap  $\alpha$ -glukosidase. Selain itu, ekstrak ini memiliki indeks penghambatan difusi glukosa sebesar 29% yang menunjukkan potensinya dalam mengurangi penyerapan glukosa di usus.

Struktur 3D protein 3TOP didasarkan pada beberapa pertimbangan ilmiah yang kuat. Pertama, protein 3TOP merupakan struktur kristal C-terminal subunit dari *human maltase-glucoamylase* (MGAM) yang telah berinteraksi dengan acarbose sebagai inhibitor referensi, dengan resolusi 2.9 Å yang memadai untuk analisis *molecular docking*. Kedua, MGAM merupakan enzim  $\alpha$ -glukosidase utama yang ditemukan pada brush border usus halus manusia dan berperan crucial dalam hidrolisis substrat oligosakarida  $\alpha$ -1,4-linked, sehingga sangat relevan sebagai target terapi diabetes tipe 2. Ketiga, struktur 3TOP telah terbukti memiliki situs aktif yang lengkap dengan 21 residu asam amino yang membentuk subsite tambahan (+2 dan +3), yang menjelaskan spesifisitas substrat MGAM-C terhadap substrat rantai panjang. Keempat, validitas struktur ini telah dikonfirmasi melalui studi biokimia dan struktural yang menunjukkan bahwa kompleks MGAM-C dengan acarbose dapat memberikan pemahaman mendalam tentang mekanisme penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase. Selain itu, acarbose yang berinteraksi dalam struktur 3TOP merupakan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang telah disetujui secara klinis, sehingga memberikan standar yang tepat untuk evaluasi senyawa uji sebagai inhibitor potensial (Ren, et al, 2011).

Metode *in silico* merupakan pendekatan modern yang potensial dan menarik dalam proses identifikasi target obat, karena dapat mengetahui mekanisme interaksi antara senyawa bioaktif dengan protein target. Uji *in silico* memiliki peran penting dalam bidang kimia medisinal untuk merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat (Kesuma et al., 2018). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengevaluasi potensi senyawa bioaktif dalam *Erythroxylum laurifolium* sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dengan menggunakan pendekatan secara *in silico*. Dengan menggunakan metode penambatan molekul (*molecular docking*), penelitian ini memprediksi interaksi molekuler antara senyawa bioaktif dalam *Erythroxylum laurifolium* dan enzim target, serta menilai afinitas pengikatan untuk mengidentifikasi kandidat obat yang potensial.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan bahan

Perangkat keras berupa laptop ASUS Zenbook 14 OLED UX3405MA Intel Ultra 7 155H 1TB SSD 32GB 3K OLED. Perangkat lunak diantaranya yaitu MolView (<https://molview.org/>) untuk memperoleh struktur dari senyawa uji, SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk memperoleh data prediksi Lipinski's Rule of Five, Situs PreADMET (<http://preadmet.bmdrc.org>) untuk memperoleh data prediksi farmakokinetik dan toksisitas. Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) untuk memperoleh struktur tiga dimensi dari reseptor target, aplikasi AutoDock Tools 1.5.7 untuk preparasi

struktur ligan alami dan reseptor dan validasi metode, BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 untuk visualisasi interaksi protein dan ligan, perangkat lunak Avogadro versi 1.2.0 untuk penyempurnaan struktur 3 dimensi, serta AutoDock4 dan Autogrid4. Struktur tiga dimensi reseptor  $\alpha$ -glukosidase yang didapatkan dari Protein Data Bank dengan ID 3TOP, struktur tiga dimensi ligan alami, struktur tiga dimensi senyawa uji dari tanaman *Erythroxylum laurifolium* diantaranya quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin), quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, afzelin (kaempferol-3-O-rhamnoside), kaempferol 3-O-rutinoside, Proisianidin B1, Proisianidin B2.

Berdasarkan laporan Singh dan Sharma (2020), *Erythroxylum laurifolium* diketahui memiliki aktivitas hipoglikemik *in vivo* sebagaimana dilaporkan oleh Picot et al. (2014). Tanaman ini merupakan spesies langka dan endemik, sehingga kajian fitokimia dan farmakologinya masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan pendekatan komparatif dengan mengacu pada data senyawa aktif dari spesies lain dalam genus *Erythroxylum*, yang diketahui memiliki kesamaan profil metabolit sekunder dan telah dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes melalui penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase (Singh & Sharma, 2020).

### Jalannya penelitian

#### Preparasi ligan dan reseptor

Molekul kandidat yang dievaluasi merupakan komponen basa organik nitrogen yang diisolasi dari tumbuhan *Erythroxylum laurifolium*, dengan senyawa pembanding berupa acarbose yang memiliki aktivitas penghambatan terhadap reseptor  $\alpha$ -glukosidase. Konfigurasi molekuler dari setiap kandidat diakses melalui platform MolView (<https://molview.org/>) dalam format berkas MOL (ekstensi \*.mol). Proses penyempurnaan struktur tiga dimensi dilaksanakan dengan bantuan perangkat lunak Avogadro versi 1.2.0, yang selanjutnya ditransformasikan ke dalam format berkas PDB (ekstensi \*.pdb). Pengaturan fleksibilitas rotasi ikatan dalam molekul diimplementasikan menggunakan aplikasi AutoDock Tools versi 1.5.7, dengan hasil akhir tersimpan dalam format berkas PDBQT (ekstensi \*.pdbqt).

Model struktural enzim  $\alpha$ -glukosidase yang terikat dengan acarbose (kode PDB: 3TOP) diambil dari pangkalan data RSCBD Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Penyiapan protein target dilaksanakan dengan aplikasi AutoDock Tools versi 1.5.7 meliputi eliminasi molekul pelarut, pemisahan senyawa pengikat alami dan komponen non-protein, kemudian disimpan dalam format PDB (.pdb). Selanjutnya dilakukan penambahan atom hidrogen polar dan penetapan distribusi muatan, dengan hasil akhir tersimpan sebagai berkas PDBQT (.pdbqt). Struktur yang digunakan sebagai reseptor adalah  $\alpha$ -glukosidase yang berinteraksi dengan acarbose pada sebagai molekul referensi. Menurut penelitian (Ren et al., 2024), acarbose merupakan molekul inhibitor terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

#### Preparasi sifat molekul

Evaluasi secara komputasional mengenai Aturan Lima Lipinski dilaksanakan untuk menganalisis sifat keberterimaan obat dari molekul kandidat. Berbagai kriteria penilaian mencakup massa molekuler, total gugus penerima ikatan hidrogen, jumlah gugus penyumbang ikatan hidrogen, dan koefisien distribusi. Sebagai tambahan, besaran Luas Permukaan Polar Topologi turut dimasukkan sebagai pertimbangan untuk menilai kelayakan suatu senyawa sebagai obat. Analisis Aturan Lima Lipinski ini dijalankan melalui platform daring SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) dengan cara menggabungkan berkas MOL (ekstensi \*.mol) dari struktur molekul kandidat yang sebelumnya telah dihasilkan menggunakan aplikasi MolView (<https://molview.org/>).

Analisis berbasis komputer terhadap aspek farmakokinetika dan profil keamanan dilaksanakan untuk memproyeksikan kemampuan penyerapan, penyebaran dalam tubuh, serta potensi efek merugikan dari molekul kandidat, yang meliputi penilaian kemampuan diserap pada saluran pencernaan (Penyerapan Intestinal Manusia), penetrasi sel Caco-2, interaksi dengan protein plasma darah, kemampuan menembus

sawar darah-otak, serta kemungkinan terjadinya kerusakan genetik dan pembentukan tumor pada hewan pengerat laboratorium. Evaluasi komprehensif ini diselenggarakan menggunakan layanan daring PreADMET (<http://preadmet.bmdrc.org>) dengan memasukkan representasi struktural dari setiap molekul target yang diuji.

#### Validasi dan penambatan molekul

Pada tahap ini dilakukan simulasi penambatan ulang senyawa pengikat alami pada protein target menggunakan perangkat lunak AutoDock Tools versi 1.5.7. Langkah ini melibatkan penentuan dimensi dan lokasi kotak simulasi yang tepat pada area pengikatan senyawa alami untuk memastikan keakuratan dalam simulasi interaksi. Tujuan utama dari proses ini adalah mengoptimalkan posisi dari grid box simulasi hingga mencapai nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) di bawah 2 Å, sehingga metode penambatan molekul antara senyawa kandidat dengan protein target dapat dinyatakan valid.

Proses simulasi penambatan dilaksanakan dengan menggunakan ukuran dari *grid box* yang ditempatkan pada area pengikatan senyawa alami untuk memastikan interaksi terjadi pada situs aktif. Penambatan molekul kandidat yang telah dipreparasi dilakukan menggunakan AutoDock Tools versi 1.5.7, dengan memanfaatkan dimensi dan koordinat *grid box* yang telah dioptimalkan pada tahap konfirmasi metode. Hasil simulasi penambatan berupa identifikasi asam amino yang berinteraksi dengan molekul kandidat, besaran energi pengikatan, dan konstanta penghambatan yang menggambarkan kekuatan interaksi dan potensi molekul kandidat sebagai penghambat enzim.

#### Visualisasi interaksi

Kompleks antara molekul kandidat dengan protein target pada konformasi optimal yang menghasilkan energi pengikatan terendah disimpan menggunakan AutoDock Tools versi 1.5.7 dalam format PDBQT (\*.pdbqt). Visualisasi interaksi dilakukan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021 dalam tampilan tiga dimensi dan dua dimensi untuk mengidentifikasi asam amino yang berinteraksi dengan molekul kandidat serta jenis-jenis interaksi yang terbentuk.

#### Analisis data

##### Evaluasi energi ikatan dan RMSD

Data yang diperoleh dari hasil simulasi penambatan molekul dianalisis untuk menentukan kestabilan interaksi molekul kandidat dengan reseptor  $\alpha$  glukosidase. Nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) digunakan sebagai parameter utama, dimana nilai energi yang lebih negatif menunjukkan stabilitas interaksi yang lebih baik. Akurasi metode penambatan diverifikasi melalui perhitungan *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dengan nilai RMSD dibawah 2 Å dianggap valid. Selain itu, hasil energi pengikatan dari molekul kandidat dibandingkan dengan senyawa pembanding, acarbose untuk menilai efektivitas pengikatan molekul uji.

##### Identifikasi interaksi molekul-protein

Visualisasi interaksi molekul-reseptor dilakukan menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2021. Jenis-jenis interaksi seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik serta residu asam amino yang terlibat dalam pengikatan dianalisis untuk memastikan relevansi biologis interaksi. Hasil ini memberikan informasi penting tentang lokasi dan jenis pengikatan pada situs aktif reseptor.

##### Analisis farmakokinetik dan toksisitas

Prediksi farmakokinetik dan toksisitas dianalisis berdasarkan hasil yang diperoleh dari situs PreADMET. Parameter farmakokinetik yang dievaluasi meliputi penyerapan usus (*human intestinal absorption*), penetrasi sawar darah-otak (*blood-brain barrier penetration*) dan interaksi protein plasma darah. Selain itu, potensi toksisitas dievaluasi dengan

mempertimbangkan kemungkinan kerusakan genetik (*mutagenicity*) dan pembentukan tumor (*carcinogenicity*). Hasil analisis ini dibandingkan dengan senyawa pembanding untuk menentukan keunggulan farmakokinetik molekul uji.

#### Pengolahan data

Data yang diperoleh dari seluruh analisis ini kemudian dibandingkan untuk mengidentifikasi pola dan hubungan yang mendukung hipotesis penelitian mengenai senyawa dari tanaman *Erythroxylum laurifolium* yang berpotensi sebagai antidiabetes. Molekul kandidat yang memiliki energi ikatan rendah, interaksi yang stabil dengan residu asam amino pada situs aktif antara acarbose dan protein 3TOP serta parameter farmakokinetik dan toksisitas yang sesuai akan dianggap sebagai kandidat senyawa berpotensi.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Uji drug-likeness Lipinski

Aturan lima lipinski atau *Lipinski's Rule of Five* yang biasa disingkat dengan RO5 adalah suatu rangkaian kriteria atau parameter yang digunakan untuk menilai bagaimana *drug-likeness* dan potensi pengembangan obat baru. Aturan ini diperkenalkan oleh Christopher A. Lipinski pada tahun 1997, berisi empat kriteria suatu senyawa yang mungkin berpotensi memiliki bioavailabilitas oral dan farmakokinetika yang baik sebagai calon obat baru. Kriteria-kriteria ini mencakup berat molekul ( $MW \leq 500$ ),  $\log P (\leq 5)$ , donor ikatan hidrogen ( $\leq 5$ ) dan akseptor ikatan hidrogen ( $\leq 10$ ). Keempat aturan tersebut memiliki nilai yang merupakan kelipatan 5, sehingga dikenal dengan istilah "*Rule of Five*" (RO5) guna mempermudah penyebutan sekaligus membantu mengingat prinsip-prinsip dasarnya (Lipinski et al., 1997).

*Rule of Five* (RO5) membantu dalam menghindari pengembangan senyawa yang berpotensi mengalami masalah pada penyerapan atau distribusi dalam tubuh dengan memperkirakan bioavailabilitas oral serta menilai sejauh mana calon obat dapat diserap dan masuk ke dalam sirkulasi sistemik setelah dikonsumsi. Agar suatu senyawa dianggap memiliki potensi bioavailabilitas yang baik dalam pengembangan obat baru, senyawa tersebut idealnya harus memenuhi setidaknya tiga dari kriteria atau hanya satu kriteria tidak memenuhi yang tercantum dalam RO5 (Lipinski et al., 1997). Pemenuhan sebagian besar kriteria ini menunjukkan bahwa senyawa memiliki karakteristik fisikokimia yang mendukung penyerapan efektif, seperti kelarutan yang memadai, kemampuan menembus membran sel, serta kestabilan kimiawi di lingkungan biologis. Namun, untuk golongan obat seperti inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, yang bekerja secara lokal pada permukaan usus halus, pemenuhan RO5 tidak selalu diperlukan karena efektivitasnya tidak bergantung pada penyerapan sistemik melainkan aksi di lumen usus. Menurut McIver et al (2024), acarbose sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase bekerja secara lokal di saluran gastrointestinal (GI) dengan bioavailabilitas sistemik yang rendah, yaitu kurang dari 2% yang diserap secara sistemik. Oleh karena itu, senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dapat tetap bekerja secara efektif mengontrol glukosa darah, meskipun tidak memenuhi sebagian kriteria RO5 karena tidak harus mencapai sirkulasi sistemik.

Parameter lain yang sering digunakan adalah *Topological Polar Surface Area* (TPSA), yang memprediksi sifat farmakokinetik suatu senyawa obat, khususnya permeabilitas membran dan bioavailabilitas oral. Menurut Putra (2020), TPSA digunakan untuk menganalisis kemampuan suatu obat dalam penyerapan dan penetrasi ke dalam sel. Senyawa dianggap memiliki bioavailabilitas baik apabila memiliki nilai TPSA pada rentang 20–130 Å, dimana pada rentang ini senyawa juga mampu menembus sawar darah otak (BBB) (Putra et al., 2020). Namun demikian, untuk obat yang bekerja secara lokal di usus, seperti inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, nilai TPSA yang ideal untuk penetrasi sistemik tidak menjadi prioritas utama dalam pengembangan obat.

Berdasarkan data pada Tabel (1) dari hasil prediksi menggunakan

*Lipinski's Rule of Five* (RO5), diketahui bahwa hanya satu senyawa, yaitu Afzelin (kaempferol-3-O-rhamnoside), yang memenuhi 3 dari 4 kriteria utama RO5. Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 432.38 (di bawah batas 500 Da), nilai Log P sebesar 0.67 (dalam rentang ideal di bawah 5), serta memiliki jumlah akseptor dan donor hidrogen sebanyak 10 dan 6, yang berarti hanya sedikit melampaui batas jumlah donor H ( $\leq 5$ ). Pelanggaran tunggal ini masih dapat ditoleransi dalam konteks evaluasi RO5, sehingga Afzelin dianggap memiliki potensi yang baik untuk diserap secara oral.

Sebaliknya, senyawa-senyawa lain dalam tabel seperti Acarbose, quercitrin (quercetin-3-O-rhamnoside), quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, kaempferol-3-O-rutinoside, serta Proisianidin B1 dan B2, menunjukkan pelanggaran terhadap lebih dari satu aturan RO5. Misalnya, Acarbose memiliki berat molekul sangat tinggi (645.60), nilai Log P negatif, serta jumlah donor dan akseptor hidrogen yang jauh melebihi batas, menandakan tingkat polaritas dan ukuran molekul yang kurang mendukung untuk absorpsi oral. Demikian pula, senyawa glikosida flavonoid lainnya seperti quercetin-3-O-rutinoside dan quercetin-3-O-glucoside memiliki berat molekul dan jumlah gugus polar (HBD dan HBA) yang tinggi, sehingga tidak memenuhi RO5 secara keseluruhan.

Enzim  $\alpha$ -glukosidase ditemukan di bagian permukaan apikal enterosit yang melapisi mukosa usus halus, terutama di bagian duodenum dan jejunum. Enzim ini merupakan bagian dari kompleks sucrase-isomaltase dan maltase-glucoamylase yang berperan penting dalam pencernaan akhir karbohidrat dengan memecah disakarida serta oligosakarida menjadi monosakarida seperti glukosa, sehingga dapat diserap oleh tubuh (Tannous *et al.*, 2023). Senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, seperti acarbose dan tujuh senyawa uji ini, menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase melalui mekanisme pengikatan kompetitif dan reversibel di dalam lumen usus. Proses ini menghambat pemecahan karbohidrat kompleks, memperlambat penyerapan glukosa, dan membantu mengontrol kenaikan glukosa darah setelah makan (Ray *et al.*, 2024). Karena bekerja secara lokal di saluran cerna, acarbose dan senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase lainnya tidak membutuhkan absorpsi obat secara sistemik. Oleh karena itu, efektivitasnya tidak bergantung pada pemenuhan kriteria *Lipinski's rule of five* dan *topological polar surface area*.

### Prediksi farmakokinetik dan toksisitas

Dalam proses pengembangan obat, evaluasi awal terhadap sifat farmakokinetik dan toksisitas suatu senyawa sangat penting untuk menentukan kelayakannya sebagai kandidat obat. Salah satu pendekatan yang umum digunakan adalah prediksi *in silico* menggunakan perangkat lunak seperti PreADMET yang digunakan untuk memperkirakan sifat *absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity* (ADMET) dari senyawa kimia secara cepat dan efisien berdasarkan model komputasi dan basis data eksperimental yang luas.

Parameter yang digunakan dalam memprediksi bagaimana absorpsi senyawa dalam tubuh manusia adalah nilai HIA. HIA atau *Human Intestinal Absorption* memberikan perkiraan untuk mengukur sejauh mana senyawa dapat diserap di usus manusia. Senyawa dengan HIA  $>70\%$  dianggap memiliki absorpsi yang baik, sementara HIA  $<30\%$  menunjukkan absorpsi yang rendah. Caco-2 mengukur permeabilitas atau kemampuan senyawa untuk melewati sel epitel usus berdasarkan model sel Caco-2. Nilai permeabilitas  $>70$  nm/s menunjukkan permeabilitas yang tinggi, sedangkan nilai  $<4$  nm/s menunjukkan permeabilitas yang rendah (Fauziyyah *et al.*, 2025).

Pada profil distribusi obat, nilai Parameter yang digunakan untuk memprediksi profil distribusi obat meliputi *Plasma Protein Binding* (PPB) dan *Blood-Brain Barrier* (BBB). PPB merupakan parameter yang menyatakan fraksi obat dalam bentuk bebas dan siap disebarkan ke jaringan-jaringan. Nilai persentase PPB yang tinggi menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki ikatan yang kuat pada protein plasma. Untuk mencegah terjadinya toksisitas, ikatan kuat yang bersifat irreversible

harus dihindari, yaitu sebaiknya nilai PPB kurang dari 90% (Yunita Hess *et al.*, 2024). Berbeda dengan BBB, parameter ini menunjukkan kemampuan senyawa untuk melintasi sawar darah otak. Senyawa yang dikonsumsi secara oral idealnya memiliki nilai BBB yang rendah agar tidak memicu efek samping yang berkaitan dengan sistem saraf pusat. Nilai BBB di bawah 0,1 mengindikasikan penetrasi yang sangat rendah ke otak, nilai antara 0,1 hingga 2 menandakan tingkat penetrasi sedang, sementara nilai di atas 2 menunjukkan kemampuan penetrasi yang tinggi (Izzaturahmi *et al.*, 2023).

Pengujian toksisitas dilakukan dengan metode *Ames test* untuk mendeteksi potensi suatu molekul dalam memicu mutasi genetik pada bakteri. Uji ini berfungsi sebagai indikator awal untuk menilai kemungkinan toksisitas suatu senyawa. Jika hasilnya positif, maka senyawa tersebut dikategorikan sebagai mutagenik dan berpotensi menimbulkan risiko kanker (Juwanti *et al.*, 2024). Selain itu dilakukan uji karsinogenitas pada tikus dan mencit untuk mendeteksi aktivitas karsinogen dan genotoksik senyawa (Wulandari *et al.*, 2023).

Namun, pada mekanisme kerja inhibitor  $\alpha$ -glukosidase seperti acarbose, penting untuk dipahami bahwa senyawa ini bekerja secara lokal di permukaan usus halus dan tidak memerlukan penyerapan ke sirkulasi sistemik untuk menunjukkan efektivitasnya. Oleh sebab itu, meskipun senyawa tersebut memiliki nilai HIA dan permeabilitas yang rendah, hal ini tidak mengurangi kemampuannya dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase secara efektif di lumen usus. Dengan demikian, parameter *ADMET* yang menilai penetrasi sistemik tidak mempengaruhi efektivitas kerja golongan obat ini.

Berdasarkan prediksi profil farmakokinetik, kemampuan absorpsi senyawa-senyawa dalam tabel bervariasi cukup signifikan. Di antara seluruh senyawa yang diuji, hanya quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) yang menunjukkan kemampuan absorpsi yang sangat baik melalui usus dengan nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA) sebesar 93,820430%, menandakan bahwa senyawa ini berpotensi tinggi untuk diserap secara sistemik setelah pemberian oral. Sebaliknya, senyawa seperti acarbose, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, dan kaempferol-3-O-rutinoside memiliki nilai HIA yang sangat rendah, yakni di bawah 15%, yang menunjukkan kemampuan absorpsi yang buruk dan kemungkinan bioavailabilitas sistemik yang rendah. Afzelin menunjukkan nilai HIA menengah sebesar 46,79%, sementara proisianidin B1 dan B2 memiliki nilai HIA serupa sekitar 19,51%, mengindikasikan absorpsi usus yang terbatas.

Nilai permeabilitas usus berdasarkan uji simulasi model sel Caco-2 menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki permeabilitas dalam kategori sedang (antara 4–70 nm/s). Senyawa dengan permeabilitas tertinggi adalah quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) dengan nilai 21,2594 nm/s, yang didukung dengan hasil HIA yang juga tinggi. Senyawa lainnya, seperti quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, kaempferol-3-O-rutinoside, dan afzelin, menunjukkan nilai Caco-2 dalam rentang sekitar 7–9 nm/s. Proisianidin B1 dan B2 memiliki nilai Caco-2 sebesar 13,6793 nm/s, sedikit lebih tinggi dibanding mayoritas senyawa lainnya (kecuali quercitrin), namun tetap tergolong sedang.

Profil distribusi senyawa diukur berdasarkan nilai *Plasma Protein Binding* (PPB). Seluruh senyawa menunjukkan nilai PPB  $<100\%$ , namun terdapat perbedaan pada Procyanidin B1 dan B2 yang menunjukkan nilai PPB maksimal sebesar 100%. Artinya, hampir seluruh senyawa akan terikat protein plasma dan hanya sebagian kecil tersedia dalam bentuk bebas untuk berinteraksi dengan target farmakologis. Sebaliknya, senyawa quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) memiliki nilai PPB terendah yaitu 14,076190%, menunjukkan bahwa proporsi senyawa bebas dalam plasma relatif tinggi, sehingga berpotensi meningkatkan aktivitas biologisnya. Senyawa-senyawa lainnya memiliki nilai PPB bervariasi antara 42–66%, menunjukkan afinitas sedang terhadap protein plasma. Berbeda dengan PPB, nilai BBB seluruh senyawa berada jauh dibawah 2%, dengan nilai tertinggi dimiliki oleh quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) sebesar 0,331914%. Ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa tidak dengan mudah

menembus sawar darah otak, sehingga kecil kemungkinannya untuk

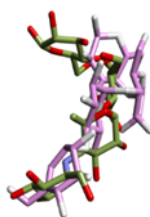
memberikan efek langsung terhadap sistem saraf pusat.

**Tabel 1.** Tabel *Lipinski's Rule of Five* (RO5)

Senyawa	MW ≤ 500	Log P ≤ 5	HBD ≤ 5	HBA ≤ 10	TPSA (<140 Å <sup>2</sup> )	Memenuhi
Acarbose	645.60	-6.06	14	19	321.17	Tidak memenuhi
Quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin)	448.38	0.22	7	11	190.28	Tidak memenuhi
Quercetin-3-O-rutinoside	610.521	-1.51	10	16	269.43	Tidak memenuhi
Quercetin-3-O-glucoside	464.38	-0.48	8	12	210.51	Tidak memenuhi
Kaempferol-3-O-rhamnoside (afzelin)	432.38	0.67	6	10	170.05	Memenuhi
Kaempferol 3-O-rutinoside	594.52	-1.13	9	15	249.20	Tidak memenuhi
Prosianidin B1	578.52	1.37	10	12	220.76	Tidak memenuhi
Prosianidin B2	578.52	1.39	10	12	220.76	Tidak memenuhi

**Tabel 2.** Tabel toksisitas

Nama senyawa	Parameter					
	Absorpsi		Distribusi		Toksitas	
	HIA (%)	Caco-2 (nm/s)	PPB (%)	BBB (%)	Mutagen	Karsinogen
Acarbose	0	9.44448	0	0.0271005	(-)	Rat (-), mouse (-)
Quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin)	93.820430	21.2594	14.076190	0.331914	(+)	Rat (+), mouse (-)
Quercetin-3-O-rutinoside	2.861176	7.91267	43.897.909	0.0285642	(-)	Rat (-), mouse (-)
Quercetin-3-O-glucoside	11.777947	9.43911	59.158494	0.0320144	(-)	Rat (-), mouse (-)
Kaempferol-3-O-rhamnoside (afzelin)	46.794213	8.19156	65.993614	0.0428409	(-)	Rat (-), mouse (-)
Kaempferol-3-O-rutinoside	6.289572	9.13279	42.374587	0.0293474	(-)	Rat (-), mouse (-)
Prosianidin B1	19.510403	13.6793	100	0.0649419	(-)	Rat (+), mouse (-)
Prosianidin B2	19.510403	13.6793	100	0.0649419	(-)	Rat (+), mouse (-)



**Gambar 1.** Hamparan penambatan ligand kembali (merah muda) dengan ligand alami (hijau) pada protein 3TOP dengan RMSD 1.741 Å

Pada parameter toksisitas, hasil prediksi mutagenisitas menunjukkan bahwa quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin) menunjukkan hasil positif terhadap potensi mutagenik. Senyawa lainnya seperti acarbose, quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, afzelin, kaempferol-3-O-rutinoside, Prosianidin B1 dan Prosianidin B2 memberikan hasil negatif, yang berarti tidak menunjukkan potensi sebagai agen mutagenik berdasarkan simulasi. Untuk karsinogenisitas, sebagian besar senyawa menunjukkan hasil negatif terhadap potensi karsinogenik baik pada tikus maupun mencit. Namun, terdapat pengecualian pada senyawa quercitrin serta prosianidin B1 dan B2, yang menunjukkan hasil positif terhadap tikus, meskipun negatif terhadap mencit.

Secara keseluruhan, senyawa-senyawa yang dianalisis, yaitu quercetin-3-O-rutinoside, quercetin-3-O-glucoside, dan kaempferol-3-O-rutinoside menunjukkan nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan permeabilitas *Caco-2* yang sangat rendah. Berdasarkan sifat tersebut, senyawa-senyawa ini memiliki bioavailabilitas sistemik yang terbatas. Namun, berpotensi bekerja secara lokal di lumen usus tanpa perlu menembus sirkulasi sistemik, sebagaimana mekanisme kerja inhibitor  $\alpha$ -glukosidase seperti acarbose. Selain itu, senyawa prosianidin B1 dan prosianidin B2 juga menunjukkan absorpsi dan permeabilitas yang rendah, namun memiliki nilai *Plasma Protein Binding* (PPB) yang sangat tinggi (100%), yang dapat membatasi ketersediaan senyawa bebas dalam darah. Sementara itu, nilai penetrasi *Blood-Brain Barrier* (BBB) seluruh senyawa tetap rendah, mendukung keamanannya terhadap sistem saraf pusat. Rangkaian karakteristik farmakokinetik ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut layak dipertimbangkan sebagai kandidat obat yang bekerja secara lokal di saluran pencernaan.

### Validasi metode

Validasi metode adalah tahapan dalam mendocking senyawa

untuk memastikan metode yang digunakan dalam proses penambatan molekuler telah valid. Validasi metode dilakukan dengan cara melakukan re-docking antar ligan alami dari reseptor target menggunakan aplikasi Autodock Tools versi 1.5.7. Proses validasi metode ini dilakukan dengan menambatkan kembali ligan alami yaitu Acarbose dengan protein 3TOP (pdb\_00003top). Parameter yang dilihat berupa nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan nilai energi ikatan yang negatif. Pengujian dikatakan valid ketika hasil RMSD  $\leq 2$  Å (Lalu Sanik Wahyu Fadil Amrulloh et al., 2023). Hasil validasi metode penambatan molekuler dari protein ini menghasilkan nilai RMSD sebesar 1.741 Å dengan energi ikatan sebesar -8.124 kkal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan dalam penambatan molekul untuk protein 3TOP adalah metode yang valid.

### Penambatan molekuler

Analisis hasil penambatan molekuler antara reseptor dan ligan didasarkan dari nilai energi ikatan bebas ( $\Delta G$ ) atau free binding energy yang didapatkan dari penambatan melalui AutoDock Tools versi 1.5.7. Semakin negatif nilai energi ikatan bebas menunjukkan afinitas ligan yang semakin kuat dan menunjukkan kestabilan yang tinggi pada ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan (Aswad et al., 2020). Energi ini berasal dari berbagai interaksi intermolekuler seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan interaksi elektrostatik. Konformasi yang sesuai dengan situs pengikatan reseptor akan memberikan nilai  $\Delta G$  yang rendah. Ligan yang lebih fleksibel dapat lebih mudah beradaptasi dengan situs pengikatan reseptor, sehingga akan menghasilkan nilai  $\Delta G$  yang lebih rendah. Oleh karena itu, semakin negatif nilai  $\Delta G$  interaksi antara ligan dan reseptor, semakin besar potensi ligan tersebut untuk berikatan dengan reseptor target dan memiliki aktivitas biologis yang diinginkan (Tallei et al., 2023). Selanjutnya, pada penambatan molekuler juga didapatkan data konstanta inhibisi dimana semakin kecil nilai inhibisi pada reseptor maka semakin besar kekuatannya (Hakiki et al., 2024).

Penelitian ini dilakukan dengan running sebanyak 100 kali dalam sekali docking, sehingga diperoleh 100 pose ligan dengan energi ikatan bebas yang berbeda-beda. Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap 7 senyawa uji yaitu quercitrin, quercitrin-3-O-rutinoside, kaempferol-3-O-rutinoside, afzelin, quercitrin-3-O-glucoside, prosianidin B1 dan prosianidin B2 dan satu pembanding yaitu acarbose. Menurut Tallei et al. (2023), jika senyawa uji memiliki energi pengikatan bebas yang lebih rendah dibandingkan senyawa pembanding, maka senyawa tersebut diprediksi memiliki potensi untuk berikatan lebih

stabil dengan reseptor.

**Tabel (3).** Tabel parameter validasi

Senyawa	$\Delta G$ (kcal/mol)	ki ( $\mu M$ )	Interaksi dengan asam amino			Jumlah ikatan residu
			Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofobik	Interaksi elektrostatik	
Acarbose	-8.24	911.42	LYS1460, HIS1584, ARG1510, ASP1420, TYR1251, PHE1560	PRO1159, PHE1427, SPI157, TRP1355, THR1586, PHE1559, MET1421, ILE1280, ASP1279, TRP1418, ILE1315, TRP1523, TRP1369	-	19
Quercitrin	-4.61	414.99	ASP115, LYS1460, ASP1526, THR1586	PRO1159, GLN1158, TYR1167, ASP1420, MET1421, PHE1559, TRP1355, PHE1560, TYR1251, ILE1587, GLY1588, TRP1369	-	16
Quercitrin-3-O-rutinoside	-4.00	1.16	ASP1279, ASP1157, LYS1460	THR1586, ILE1587, TRP1355, HIS1584, ILE1315, TRP1418, PHE1559, TYR1251, ARG1510, ASP1526, MET1421, ARG1510, PRO1510, GLN1158, TRP1369	-	18
Kaempferol-3-O-rutinoside	-4.47	530.35	ASP1157, LYS1460, ASP1279, ASP1526, ASP1370	TRP1369, PHE1427, PHE1560, ILE1587, THR1586, HIS1584, ILE1280, MET1421, TYR1167, ARG1510	-	10
Afzelin	-5.14	169.65	TYR1251, ASP1279, SPI157, LYS1460, PRO1159	ARG1377, TRP1369, ILE1587, TRP1355, ARG1510, TRP1418, HIS1584, PHE1559, ASP1526, GLN1158	-	15
Quercitrin-3-O-glucoside	-4.54	471.84	TRP1369, TYR1251, ASP1279, ASP1157, LYS1460	ARG1377, GLN1372, ILE1587, GLY1588, TRP1355, ILE1280, TRP1418, MET1421, PHE1559, ASP1526, PHE1560, PRO1159, GLN1158	-	18
Proisianidin B1	-6.93	8.30	ASP1279, ASP1526, TYR1251	TRP1418, ILE1315, ASP1420, MET1421, TYR1167, PHE1559, TRP1355, ASP1157, ARG1510, PRO1159, LYS1460, THR1586, TRP1369, TYR1251, GLN1372, ILE1280, ARG1377, ILE1315	-	21
Proisianidin B2	-5.74	61.90	ASP1279, THR1586, ASP1157	TRP1369, GLN1561, ILE1280, ILE1315, TRP1418, MET1421, ARG1510, ASP1526, LYS1460, PRO1159, GLN1158, TRP1369	-	15

**Tabel 4.** Hasil penambatan molekul ligan uji terhadap protein 3TOP

Parameter	Nilai
PDB ID	3TOP
Ligan alami	Acarbose
Ukuran grid box (Å)	26 x 28 x 24
Posisi grid box	x: -31.763, y: 31.454, z: 29.638
RMSD (Å)	1.741
$\Delta G$ (kcal/mol)	-8.124

Pada hasil uji ditemukan bahwa tujuh ligan uji dan satu senyawa pembanding menghasilkan nilai negatif (<0) terhadap reseptor. Hasil tersebut sesuai dengan nilai yang diharapkan yaitu semakin rendah nilai  $\Delta G$  maka interaksi ikatan ligan dan reseptor semakin stabil (Pebriana et al., 2012).

Nilai  $\Delta G$  menggunakan satuan kkal/mol yang menunjukkan jumlah energi dalam kilokalori yang dibutuhkan atau dilepaskan per mol molekul. Berdasarkan hasil pengujian, secara berturut-turut ditemukan nilai  $\Delta G$  terendah (afinitas pengikatan tertinggi) yaitu prosianidin b1 (-6.93 kkal/mol), prosianidin b2 (-5.74 kkal/mol), afzelin (-5.14 kkal/mol), quercitrin (-4.61 kkal/mol), quercitrin-3-O-glucoside (-4.54 kkal/mol), kaempferol-3-O-rutinoside (-4.47 kkal/mol), quercitrin-3-O-rutinoside (-4.00 kkal/mol). Hasil pengujian menunjukkan bahwa tiga senyawa uji memiliki nilai  $\Delta G$  yang mendekati dengan nilai  $\Delta G$  ligan referensi yaitu acarbose dengan nilai  $\Delta G$  -8.24 kkal/mol. Senyawa uji yang memiliki nilai  $\Delta G$  yang paling mendekati adalah senyawa prosianidin B1 dengan nilai -6.95 kkal/mol. Perbedaan nilai  $\Delta G$  yang didapatkan dari hasil penambatan antara ligan dan reseptor dipengaruhi oleh interaksi antara asam amino selama proses penambatan molekul dilakukan (Mallia et al., 2023). Hasil visualisasi menunjukkan bahwa ligan uji dan obat pembanding mampu membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada tabel (4), Acarbose sebagai ligan referensi

#### Visualisasi hasil penambatan molekul

Visualisasi interaksi hasil penambatan dilakukan untuk mengamati hasil penambatan antara ligan pembanding dan ligan uji yang digunakan.

Visualisasi interaksi antara reseptor dan ligan dianalisis untuk mengidentifikasi residu asam amino yang terlibat dalam ikatan. Interaksi asam amino ini memungkinkan terjadinya kontak antara ligan dan protein 3TOP sehingga memiliki aktivitas penghambatan (Sari et al., 2020). Residu asam amino yang berperan dalam pembentukan interaksi protein dengan ligan dapat dilihat pada area situs pengikatan (*binding site*) yang merupakan area terjadinya pengikatan antara protein dan ligan terjadinya. Melalui interaksi asam amino, perbedaan structural masing-masing senyawa uji serta aktivitasnya dapat ditentukan. Interaksi yang terjadi di area pengikatan meliputi ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, interaksi elektrostatik, dan jarak ikatan yang terbentuk (Prasetyawati et al., 2021). Visualisasi dilakukan dengan menggunakan bantuan Discovery Studio Visualizer.

Ikatan hidrogen pada visualisasi ditandai dengan residu asam amino berwarna hijau tua dan garis putus-putus berwarna hijau tua. Ikatan hidrogen menunjukkan interaksi spesifik atom hidrogen (H) dari ligan dengan reseptor. Jembatan hidrogen yang dibentuk oleh ikatan hidrogen dapat membantu menstabilkan konformasi molekul dan meningkatkan spesifitas pengikatan. Ikatan hidrogen dianggap sebagai faktor penting dalam pembentukan kompleks molekul yang stabil karena merupakan jenis ikatan non-kovalen yang spesifik dan kuat. Ketika ikatan hidrogen terbentuk antara molekul ligan dan reseptor, jarak antara ligan dan reseptor akan semakin dekat dan menyebabkan nilai  $\Delta G$  antara ligan dan reseptor menjadi lebih rendah (Chen et al., 2016). Interaksi hidrofobik berperan dalam menentukan stabilitas ligan terhadap reseptor. Interaksi ini terjadi antara nonpolar dari ligan dan reseptor. Interaksi hidrofobik bersifat menghindari lingkungan berair dan mengelompok bersama untuk mengurangi permukaan yang terpapar air, sehingga menstabilkan kompleks ligan-reseptor. Semakin kuat interaksi hidrofobik maka semakin stabil kompleks antara ligan dan reseptor dan semakin tinggi afinitas ligan terhadap reseptor (Arwansyah et al., 2015). Interaksi elektrostatik adalah jenis interaksi non-kovalen. Ikatan elektrostatik berkontribusi pada signifikan terhadap stabilitas kompleks ligan dan reseptor melalui gaya tarik menarik antara muatan yang berlawanan dan membantu menahan ligan agar tetap berada pada posisi yang tepat di area pengikatan reseptor

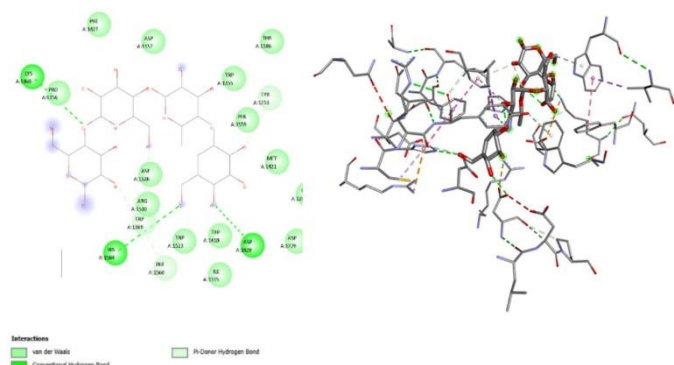
(Ferreira De Freitas dan Schapira, 2017).

Berdasarkan literatur interaksi MGAM dengan acarbose berada pada situs aktif residu asam amino PHE1560, ASP1526, PHE1559, TYR1251, HIS1584, ASP1279, TRP1418, ASP1420, TRP1355, ASP1157, TRP1369. Residu asam amino tersebut merupakan area molekul acarbose berikatan untuk menghambat aktivitas enzimatik (Ren *et al.*, 2011).

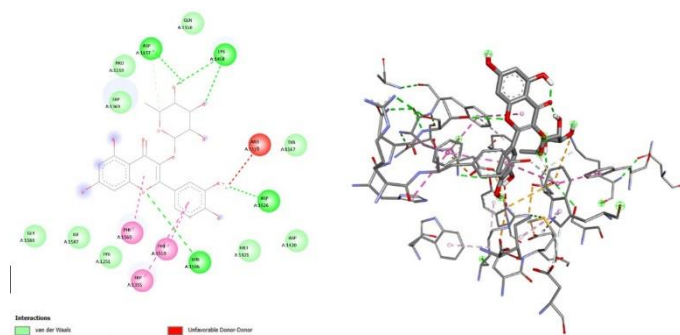
Proses validasi docking dengan menggunakan grid box yang mencakup seluruh situs aktif MGAM termasuk area tempat acarbose berikatan telah dilakukan. Pada Tabel 5 hasil validasi menunjukkan bahwa Acarbose sebagai ligan referensi berikatan dengan residu-residu situs aktif, dimana residu asam amino seperti LYS1460, PHE1560, HIS1584, ASP1420, TYR1251 kembali teridentifikasi saat melakukan proses validasi. Hasil validasi yang menunjukkan konsistensi residu asam amino dengan data pada literatur memberikan bukti bahwa metode docking telah dilakukan dengan akurasi yang tinggi dan memastikan bahwa situs aktif yang digunakan dalam simulasi docking adalah situs aktif yang sesuai dan relevan untuk pengikatan acarbose dan validasi ini dapat dipercaya untuk menganalisis interaksi acarbose dengan MGAM lebih lanjut.

Hasil visualisasi menunjukkan bahwa ligan uji dan ligan referensi mampu membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Berdasarkan hasil yang ditampilkan pada tabel 5, Acarbose sebagai ligan referensi memiliki energi ikatan -8.24 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 911.42  $\mu\text{M}$  pada nilai RMSD terkecil yaitu 1.741 Å. Interaksi yang terjadi antara ligan referensi dengan target berupa ikatan hidrogen seperti LYS1460 pada jarak 3.09 Å, HIS1584 pada jarak 3.18, Å, ASP1420 pada jarak 2.88, Å, TYR1251 pada jarak 3.33 Å, dan PHE1560 pada jarak 3.32 Å serta interaksi hidrofobik yaitu PRO1159, PHE1427, ASP1157, TRP1355, THR1586, PHE1559, MET1421, ILE1280, ASP1279, TRP1418, ILE1315, TRP1523, TRP1369. Ikatan hidrogen dianggap kuat jika jaraknya kurang dari 3 Å (Hubbard dan Haider, 2010).

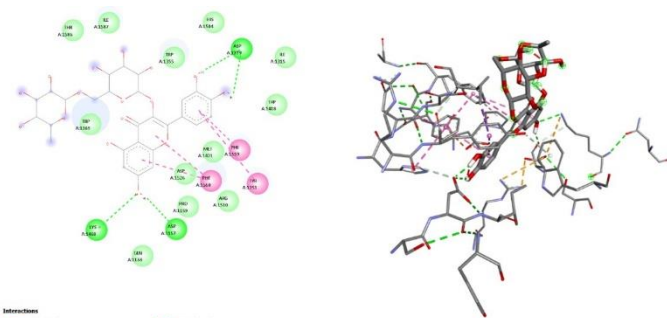
Ligan uji yang dapat berikatan kuat dengan situs aktif target yaitu prosianidin B1 dengan energi ikatan -6.93 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 8.30  $\mu\text{M}$ . Interaksi antara prosianidin B1 dengan target memiliki kemiripan dengan ligan referensi yaitu ikatan hidrogen dengan TYR1251 dan interaksi hidrofobik dengan TRP1418, ILE1315, MET1421, PHE1559, TRP1355, ASP1157, PRO1159, THR1586, TRP1369, ILE1280, ILE1315. Berdasarkan hal tersebut, disimpulkan bahwa prosianidin B1 memiliki potensi sebagai antidiabetes walaupun tidak sebesar ligan pembanding yaitu acarbose jika dilihat dari interaksi terhadap residu situs aktif pada reseptor target.



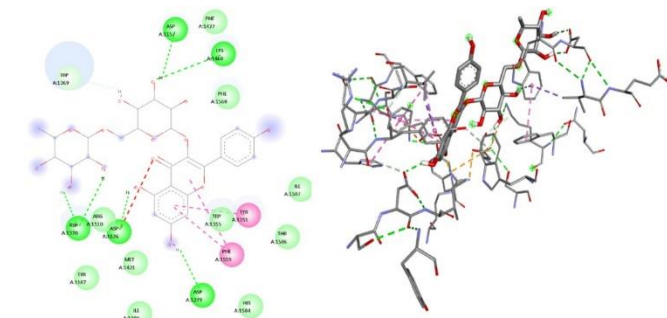
**Gambar 2.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan referensi: Acarbose



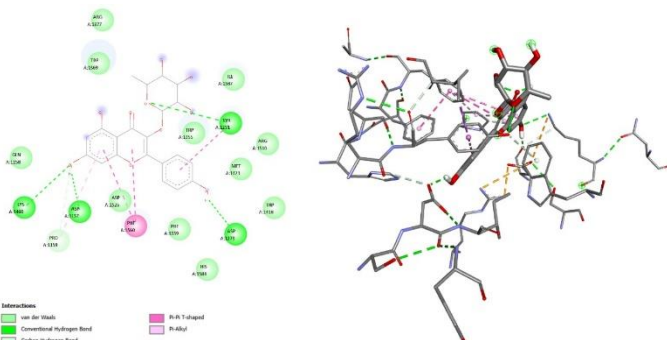
**Gambar 3.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Quercitrin



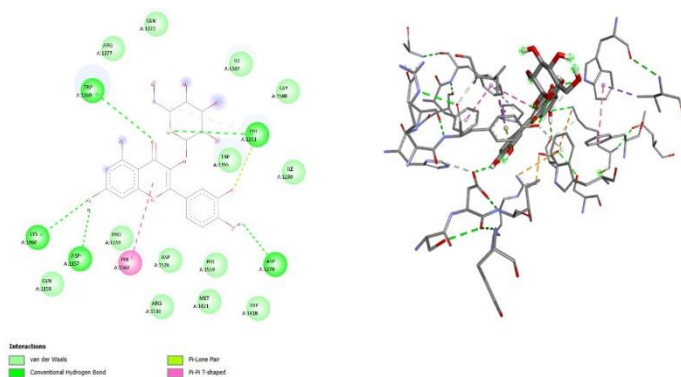
**Gambar 4.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Quercitrin-3-O-rutinoside



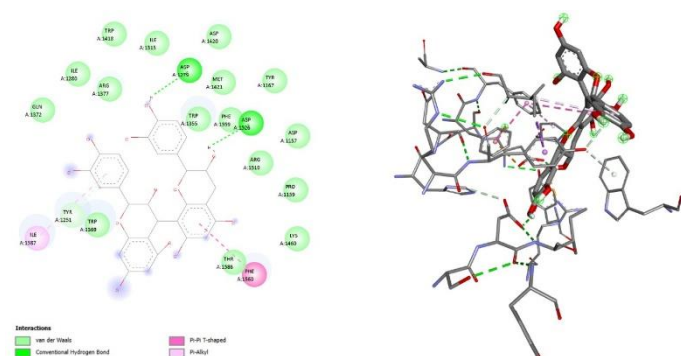
**Gambar 5.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Kaempferol-3-O-rutinoside



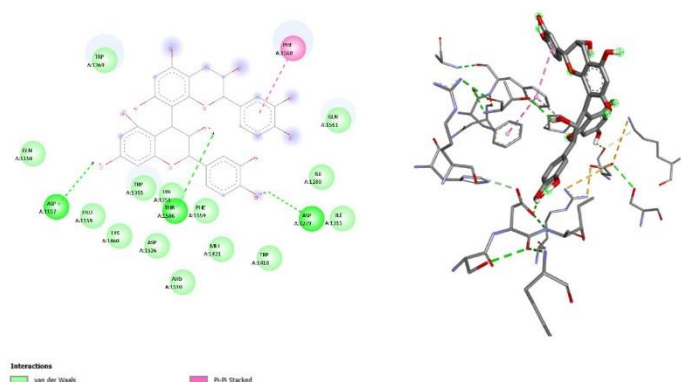
**Gambar 6.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Afzelin



**Gambar 7.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Quercitrin-3-O-glucoside



**Gambar 8.** Visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan) residu asam amino dari protein 3TOP yang berinteraksi dengan ligan uji: Proisianidin B1



- Mclver LA, Preuss CV, Tripp J. 2024. Acarbose. In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island, FL: StatPearls Publishing. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493214/>
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2012. Acarbose. In *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548181/>
- Picot CMN, Subratty AH, Mahomoodally MF. 2014. Phytochemical profile and antioxidant properties of six medicinal plants of Mauritius, *Pharmacologia*, 5(1), 42–49.
- Pebriana RB. et al., 2012. Docking kurkumin dan senyawa analognya pada reseptor progesteron: Studi interaksinya sebagai selective progesterone receptor modulators (SPRMs), *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 13(2), 55-60.
- Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. 2015. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures, *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072.
- Prasatiawati R, Suherman M, Permana B. 2021. Molecular docking study of anthocyanidin compounds against epidermal growth factor receptor (EGFR) as anti-lung cancer, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 8(2), 8-20. ]
- Putra PP, Fauzana A, Lucida H. 2020. In silico analysis of physical-chemical properties, target potential, and toxicology of pure compounds from natural products, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 7(2), 107–115.
- Ray SD. et al., 2024. Anti diabetic agents. In: P. Wexler, ed. *Encyclopedia of Toxicology*. 4th ed. Vol. 1. Academic Press, 573–589.
- Ren L. et al., 2011. Structural insight into substrate specificity of human intestinal maltase-glucoamylase, *Protein and Cell*, 2(10), 827–836.
- Singh B, Sharma RA. 2020. *Erythroxyllum* species. In B. Singh & R. A. Sharma (Eds.), *Secondary metabolites of medicinal plants: Ethnopharmacological properties, biological activity and production strategies*, 473–485.
- Wulandari RP. et al., 2023. In silico study of secondary metabolite compounds in parsley (*Petroselinum crispum*) as a drug therapy for blood cancer (myeloproliferative neoplasm (MPN)) targeting JAK-2, *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(2), 31–40.
- Yunita Hess A. et al., 2024. In silico study of bioactive compounds in guava leaves (*Psidium guajava* L.) toward angiotensin converting enzyme (ACE) as target for hypertension, *Indonesian Journal of Chemical Science*, 13(3).