

**ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA FLAVONOID BUAH MAHKOTA DEWA
(*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.)
PADA RESEPTOR α -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES**

**MOLECULAR DOCKING ANALYSIS OF FLAVONOIDS
OF *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.
ON α -GLUCOSIDASE RECEPTOR AS ANTIDIABETIC**

Rizky Arcinthy Rachmania, Supandi, Frisca Ananda Dwi Cristina

Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka
Islamic Center, Jl. Delima II/IV, Klender Jakarta Timur 13460
Email: arcinthy.rizky@gmail.com (Rizky Arcinthy Rachmania)

ABSTRAK

Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) merupakan buah yang banyak mengandung flavonoid yang dapat digunakan sebagai obat antidiabetes. Senyawa flavonoid yang berkhasiat antidiabetes pada buah mahkota dewa belum diketahui jenisnya sehingga perlu diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk melihat interaksi senyawa flavonoid buah mahkota dewa terhadap enzim α -glukosidase melalui nilai energi bebas (*binding affinity*/ ΔG°) dan untuk mendapatkan jenis flavonoid yang sesungguhnya dari buah mahkota dewa sebagai tahap pencarian kandidat obat antidiabetes yang baru. Pelaksanaan penelitian ini diawali dengan mencari struktur dari enzim α -glukosidase di RCSB kemudian dilakukan proses penambatan molekul, diamati visualisasinya melalui *Pymol* dan penentuan *pocket cavity*. Hasil penambatan molekul terhadap 10 senyawa flavonoid menunjukkan senyawa yang memiliki energi bebas terendah adalah *fevicordin A* dengan nilai -10,8 kcal/mol, sementara itu hasil visualisasi dari *fevicordin A* terdapat 5 residu asam amino yaitu; Leu 286, Phe 535, Ile 523, Ser 521, Arg 520.

Kata kunci: antidiabetes, flavonoid, α -glukosidase, molecular penambatan molekul.

ABSTRACT

Phaleria (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) is a fruit that contains flavonoids which can use as antidiabetic. Flavonoid compounds type in *Phaleria* is unknown, so it is need to be investigated. Purpose of this study were to see the interaction of flavonoids of *Phaleria* with α -glucosidase enzyme by binding affinity and to find out the most potent flavonoid of *Phaleria* as new drug candidate for antidiabetes. Implementation of this study begins with the search for the structure of the α -glucosidase enzyme in RCSB and then docking process, observed visually with *Pymol* and determination of *pocket cavity*. Results of molecular docking of 10 flavonoids, showed that the flavonoid with lowest free

energy was fevicordin A with the value of 10.8 kcal/mol. The results visualization showed that fevicordin A have 5 amino acid residues.

Key words: *antidiabetic, flavonoids, α -glucosidase, molecular docking.*

Pendahuluan

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi nilai normal. Hal ini berkaitan dengan kadar gula darah yang tinggi terus menerus sehingga berakibat rusaknya pembuluh darah, saraf, dan struktur internal lainnya (Misnadiary, 2006). Pada tahun 2013, proporsi penduduk Indonesia yang berusia ≥ 15 tahun dengan DM adalah 6,9 persen. Prevalensi diabetes yang terdiagnosis dokter tertinggi terdapat di DI Yogyakarta (2,6%), DKI Jakarta (2,5%), Sulawesi Utara (2,4%), dan Kalimantan Timur (2,3%) (Kemenkes, 2013).

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya dengan berbagai jenis tanaman. Terdapat banyak tumbuhan obat yang dilaporkan bermanfaat dan digunakan sebagai agen antidiabetes secara empiris. Kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan dilaporkan aman untuk penderita DM (Malviya *et al.*, 2010). Salah satu tanaman obat yang dalam beberapa tahun belakangan ini banyak menarik perhatian masyarakat adalah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) yang mengandung beberapa zat aktif seperti: alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol

(Meiyanti *et al.*, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, mahkota dewa dapat memberikan efek hipoglikemik sebagai inhibitor α -glukosidase, terutama pada ekstrak n-butanol buah muda dan yang sudah masak, ekstrak etil asetat, dan metanol (Sugiwati *et al.*, 2006).

Salah satu cara mengendalikan kadar gula dalam darah penderita DM adalah dengan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase (Suarsana *et al.*, 2008). Enzim ini berperan sebagai kunci pada akhir pemecahan karbohidrat. Polisakarida kompleks akan dihidrolisis oleh enzim amilase menjadi dekstrin dan dihidrolisis lebih lanjut menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase sebelum memasuki sirkulasi darah melalui penyerapan epitelium. Amilase dan α -glukosidase inhibitor sintesis, seperti misalnya acarbose, telah banyak digunakan untuk penanganan pasien diabetes tipe II, namun obat ini juga dilaporkan menyebabkan berbagai efek samping (Feng *et al.*, 2011).

Perkembangan metode dan aplikasi komputasi di bidang kefarmasian telah berkembang selama beberapa dekade terakhir, untuk menjawab kebutuhan dalam memahami struktur biologi molekuler dan penemuan obat

baru berdasarkan struktur. Salah satu metode yang digunakan dalam proses penapisan adalah dengan menggunakan pencarian berbasis struktur yaitu, dengan penambatan molekuler. Tujuan utama penambatan molekuler adalah untuk memahami dan memprediksi rekognisi molekuler. Metode yang menggunakan proses penambatan molekuler yang akurat dapat memberikan keuntungan dalam memangkas waktu, energi, serta biaya yang dibutuhkan dibandingkan metode konvensional (Yanuar, 2012).

Metode Penelitian

Alat

Peralatan yang digunakan yaitu seperangkat laptop dengan spesifikasi prosesor *intel inside*, RAM 3 GB, dengan *operating system windows seven ultimate*. Software yang digunakan antara lain ACD Lab, Paket MGLTools 1.5.6 (*Scripps Research Institute*) yang terdiri dari Autodock Tools, Autodock Vina, Pymol (DeLano Scientific LLC.), Open Babel GUI 2.3.1, Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>), PubChem (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>),

Vegazz, POCASA (<http://altair.sci.hokudai.ac.jp/g6/service/pocasa/>), dan Discovery Studio 4.0.

Bahan

Struktur 3D α -glukosidase yang diunduh dari Protein Data Bank dengan format .pdb. Struktur 3D ligan yang dipakai adalah senyawa flavonoid buah mahkota dewa (benzofenon glukosida, fevicordin A, kaemferol, larisiresinol, mahkosida A, mangiferin, matairesinol, mirisetin, pioresinol, dan kuersetin) yang dirancang di ACDLabs dan disimpan dalam format .mdlmolfile.

Cara Kerja

1. Penyiapan struktur protein

Pengunduhan makromolekul α -glukosidase dari Protein Data Bank dengan format .pdb.

2. Pemisahan residu dari molekul α -glukosidase

Makromolekul protein dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu nonstandar. Pemisahan makromolekul dari molekul yang tidak diperlukan dilakukan menggunakan program Discovery Studio 4.0. Hasil pemisahan tersebut disimpan dalam format .pdb.

3. Perancangan struktur 3D senyawa bioaktif

Perancangan struktur senyawa flavonoid buah mahkota dewa (Altaf *et al.*, 2013) menggunakan *software* ACD Labs, disimpan dengan format MDL molfile, kemudian diubah ke dalam format .pdb menggunakan *software* Vegazz, diubah ke format .pdbqt menggunakan Autodock Tools. Data disimpan di *drive* C: dari *windows*.

4. Penentuan *grid box* dari reseptor

Penentuan *grid box* dilakukan untuk mengetahui titik koordinat pada *active site* dari α -glukosidase dengan menggunakan *software* Autodock Tools.

5. Preparasi file penambatan molekul

Merubah format file ligan menjadi .pdbqt dan reseptor yang dioptimasi dengan penambahan atom hidrogen menjadi .pdbqt dengan menggunakan *software* Autodock Tools. Data disimpan di *drive* C: dari *windows*.

6. Molecular penambatan molekul dengan Autodock Vina

Ligan dan protein yang telah tersimpan dalam format .pdbqt dicopy ke dalam *folder* vina, kemudian *config file* vina diketik pada *notepad*, disimpan dengan nama .conf. Proses

penambatan molekul dengan vina dijalankan melalui *command prompt* dengan parameter yang sesuai.

7. Analisis molekular penambatan molekul

Analisis hasil penambatan molekul dapat dilihat dari nilai energi bebas (*binding affinity*/ ΔG°), dan interaksi yang dihasilkan dari proses penambatan molekul masing-masing ligan. Dalam analisis molekular penambatan molekul ini, ditentukan pula konformasi kompleks antara ligan dengan reseptor enzim yang didasarkan dari nilai energi bebas yang terendah.

8. Visualisasi

Visualisasi interaksi antara enzim dengan ligan dapat dilihat pada *software* Pymol. Visualisasi yang dilakukan dengan melihat residu-residu asam amino yang dihasilkan.

9. Penentuan sisi aktif

Penentuan sisi aktif dari α -glukosidase menggunakan *software* POCASA.

Hasil dan Pembahasan

Penyiapan Struktur α -Glukosidase

α -glukosidase yang dijadikan target enzim diambil dari Protein Data Bank. Makromolekul protein yang dipilih

adalah α -glukosidase dengan pdb id yang digunakan adalah 2QMJ. Pdb id tersebut didapatkan berdasarkan studi jurnal Roy *et al.* (2013), dengan spesifikasi *homo sapiens*, resolusi 1,9-2,0 Å, dengan metode kristalografi sinar x. Struktur α -glukosidase diunduh dalam format .pdb.

Pemisahan Residu dari Molekul α -Glukosidase

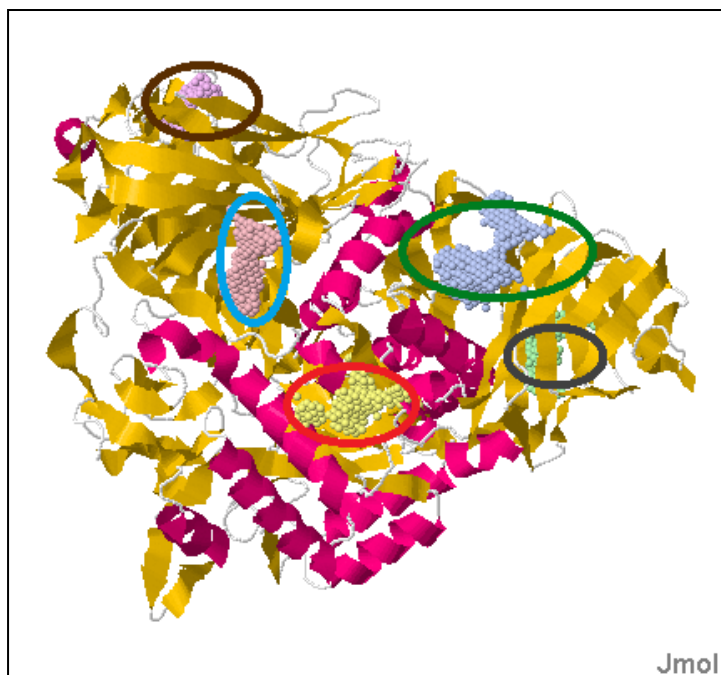
Makromolekul α -glukosidase yang telah diunduh dari RCSB biasanya masih mengandung ligan atau pelarut lain yang menempel pada struktur asli α -glukosidase, untuk itu harus dipisahkan dari pelarut, ligan atau residu non standar (ion sulfat, gliserol, n-asetil-D-glukosamin) dengan menggunakan *software* Discovery Studio 4.0. Pemisahan residu tersebut bertujuan untuk mencegah proses penambatan molekul berjalan lambat karena struktur dari α -glukosidase masih mengandung ligan asli dan pelarut. Kemudian molekul tersebut disimpan dengan format .pdb. di drive C dari windows.

Penentuan Sisi Aktif (Active Site/Cavity site) dari α -Glukosidase

Informasi residu-residu asam amino dari α -glukosidase yang

digunakan dapat diketahui melalui *pocket cavity* yang didapatkan melalui *software online Pocket-cavity Search Application* (POCASA). Dari *software* tersebut didapatkan beberapa residu asam amino pada sisi katalitik yaitu: Lys 782, Arg 281, Ser 646, Ile 523, Ala 523, Gln 603, Glu 300, Pro 517, Ser 288, Thr 775, Asp 772, Asp 777, Phe 535, Lys 513, Ser 521, His 645, Ala 285, Asp 649, Gly 648, Lys 776, Glu 510, Thr 778, Arg 520, Lys 519, Glu 774, Asn 578, Phe 516, Tyr 299, Ile 281, Val 779, Ala 280, Gln 802, Ser 801. Asam amino inilah yang akan menjadi target residu pada sisi katalitik.

Berdasarkan data dari POCASA (Gambar 1) dapat dijelaskan bahwa nomor *pocket* 693 berada di urutan ranking satu memiliki volume 207 dan nilai VD (*Volume Depth*) 945. Ranking kedua yaitu nomor *pocket* 267 memiliki volume 300 dan nilai VD 807. Nomor *pocket* 593 memiliki volume 156 dengan nilai VD 564, rangking keempat yaitu nomor *pocket* 49 dengan nilai volume 210 dan VD 549. Ranking kelima yaitu nomor *pocket* 1009 dengan nilai volume 208 dan VD 532.

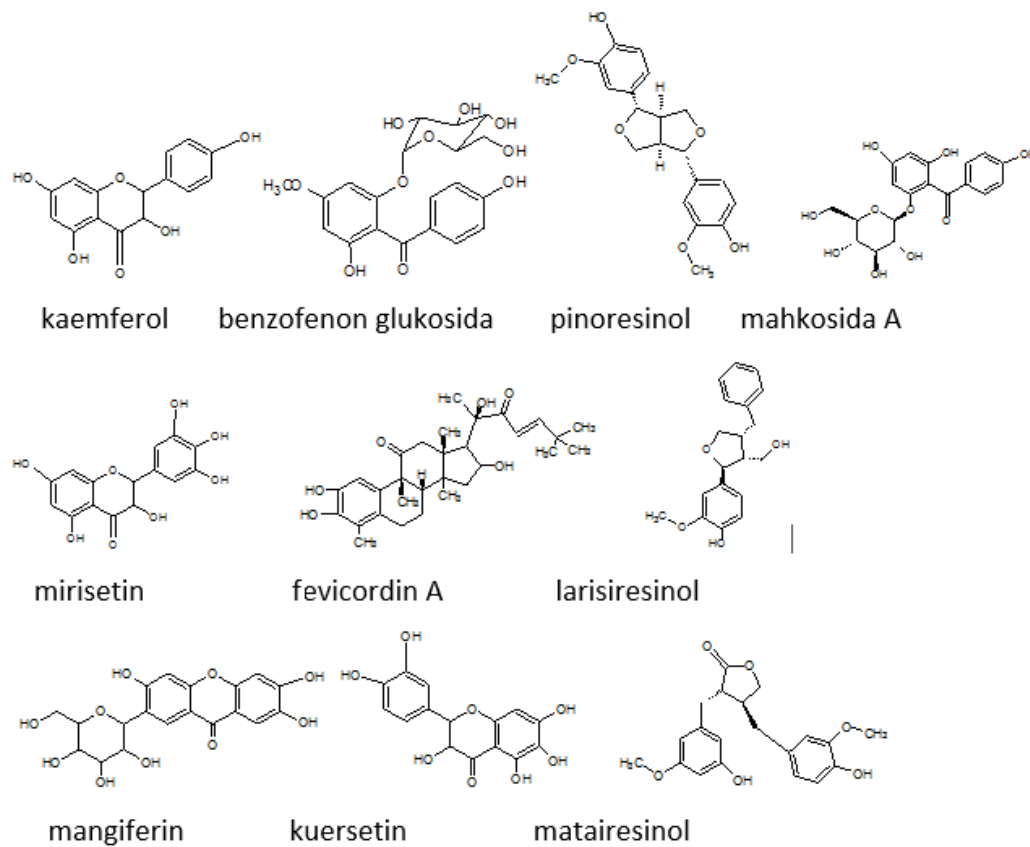


Gambar 1. Visualisasi *pocket* dan *cavity* dari 2QMJ yang dilihat menggunakan Jmol dari *software online* POCASA. Lingkaran merah=nomor *pocket* 693, lingkaran biru=nomor *pocket* 1009, lingkaran hijau=nomor *pocket* 267, lingkaran coklat=nomor *pocket* 593, lingkaran abu-abu=nomor *pocket* 49.

Perancangan Struktur 3D Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif yang dipakai adalah senyawa-senyawa flavonoid dari buah mahkota dewa. Struktur dari senyawa tersebut dilihat dari Altaf *et al.* (2013) yang telah terdapat gambar struktur senyawa flavonoid buah mahkota dewa. Beberapa struktur senyawa dapat dilihat di *National Center Biotechnology Information* (NCBI)

dengan situs <http://pubchem.NCBI.nlm.nih.gov/>, kemudian digambar dengan menggunakan *software ACDlabs*, disimpan dengan format MDL molfile. Dengan menggunakan *software* Vegazz file tersebut diubah ke format .pdb, kemudian diubah ke dalam format .pdbqt menggunakan Autodock Tools, dan disimpan di *drive C:* dari *windows*.



Gambar 2. Struktur 2D flavonoid buah mahkota dewa (Altaf *et al.*, 2013).

Penentuan Grid Box dari Reseptor

Grid box adalah tempat dimana ligan akan berinteraksi dengan residu pada target enzim dan digambarkan dengan bentuk kubus. Penentuan *grid box* dilakukan untuk mengetahui titik koordinat pada *active site* dari α -glukosidase. *Software* yang digunakan adalah Autodock Tools dengan memperhatikan dua parameter penting yaitu, *size* atau ukuran dari *grid box* tersebut dan letak awal dari ligan yang akan dilakukan penambatan molekul

yang disebut *center*. Pada posisi awal dari ligan digunakan koordinat dari sisi aktif α -glukosidase, koordinat ini ditampilkan dengan posisi x, y, dan z yang nantinya akan digunakan dalam proses penambatan molekul. Penentuan koordinat ini dilakukan melalui studi jurnal Roy *et al.* (2013), koordinat *center* yang digunakan x, y, z (-17.151), (-4.154), (-22.157), *size* (x, y, z)=30 dan *spasi*=0,375.

Molecular Penambatan Molekul

Proses penambatan molekul yang dilakukan pada penelitian ini adalah proses penambatan molekul *oriented* dengan menggunakan ligan yang fleksibel dan *default rotatable bonds* atau banyaknya ikatan yang dapat berotasi pada ligan diatur secara otomatis dengan *software autodock tools*, sedangkan target enzim yang digunakan dibuat *rigid*. *Software* yang digunakan untuk proses penambatan molekul adalah *free software* Autodock Vina 1.0 yang dipublikasikan oleh *The Scripps Research Institute*. Beberapa hal yang harus disiapkan sebelum penambatan molekul antara lain: file ligan dengan format *.pdbqt*, file enzim dengan format *.pdbqt*, dan *grid box* (*center* dan *size*).

Molecular Penambatan Molekul dengan Autodock Vina

Ligan dan protein yang telah tersimpan dalam format *.pdbqt*, kemudian dicopy ke dalam *folder vina*. Buat *file config vina* yang diketik pada *notepad* lalu disimpan dengan nama *.conf*. Proses penambatan molekul dilakukan dengan parameter yang sesuai. Waktu yang dibutuhkan untuk proses penambatan molekul ini

bergantung pada besarnya ligan dan banyaknya derajat *torsional* ligan yang digunakan dalam proses penambatan molekul, semakin besar dan banyaknya derajat torsional pada suatu ligan maka proses penambatan molekul akan semakin lama. Pada penelitian ini, *torsion* yang digunakan adalah 7 dengan waktu yang dibutuhkan adalah antara 10-20 menit.

Analisis Molekular Penambatan Molekul

1. Penentuan konformasi kompleks ligan dengan enzim α -glukosidase

Analisis hasil penambatan molekul dapat dilihat dari *binding affinity* dan interaksi yang sesuai. Penentuan konformasi antara enzim dengan ligan dari hasil penambatan molekul dilakukan dengan memilih satu konformasi ligan dengan nilai ΔG° *binding affinity* yang terbaik atau yang terkecil. Hasil nilai ΔG° *binding affinity* (kcal/mol) dilihat dari *log file* yang dapat dibuka dengan menggunakan *notepad*.

2. Hasil penambatan molekul Ligan dengan enzim α -glukosidase

Berikut adalah hasil *penambatan molekul* ligan-enzim dengan melihat nilai *binding affinity*:

Tabel 1. Hasil nilai ΔG° *binding affinity* dari ligan

No.	Nama Ligan	ΔG° <i>Binding Affinity</i> (kcal/mol)
1.	Fevicordin A	-10,8
2.	Benzofenon glukosida (phalerin)	-10,7
3.	Mirisetin	-9,1
4.	Kuercetin	-9,0
5.	Kaemferol	-8,6
6.	Mangiferin	-8,3
7.	Mahkosida A	-8,2
8.	Acarbose (standar)	-8,2
9.	Pinoresinol	-7,4
10.	Lariciresinol	-7,4
11.	Matairesinol	-7,3

Dari hasil pada Tabel 1, dapat dilihat bahwa acarbose sebagai ligan pembanding memiliki nilai ΔG° *binding affinity* (kcal/mol) yang besar terhadap α -glukosidase bila dibandingkan dengan tujuh ligan lain (benzofenon glukosida, fevicordin A, kaemferol, mangiferin, mirisetin, mahkosida A, dan kuersetin). Jadi dapat disimpulkan secara teoritis, bahwa α -glukosidase akan berikatan dengan ketujuh ligan tersebut.

Visualisasi

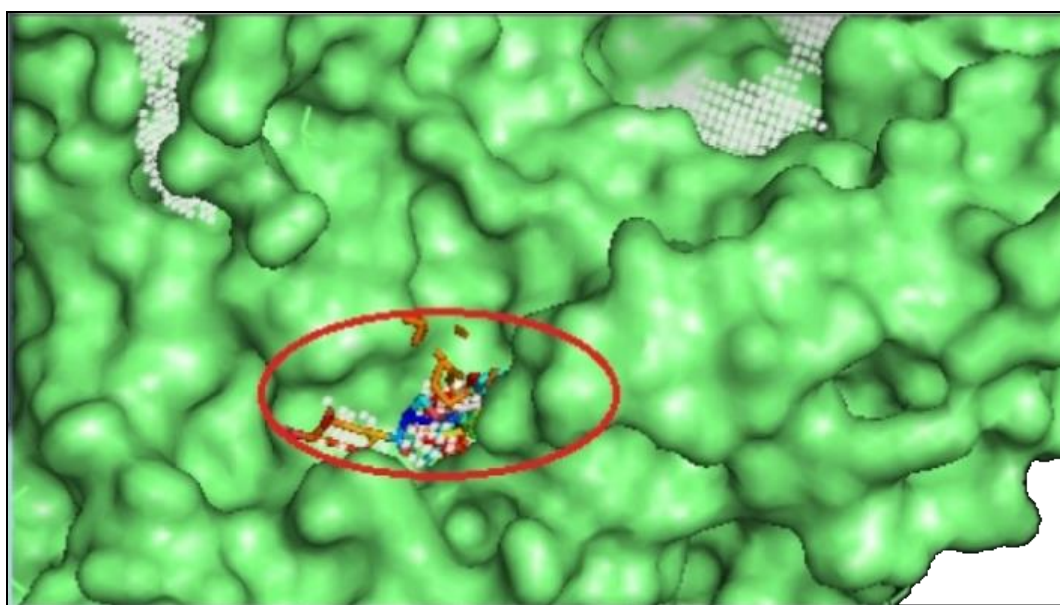
Dari hasil kontak residu asam amino yang terjadi (Tabel 3), terlihat bahwa ligan matairesinol, pinoresinol,

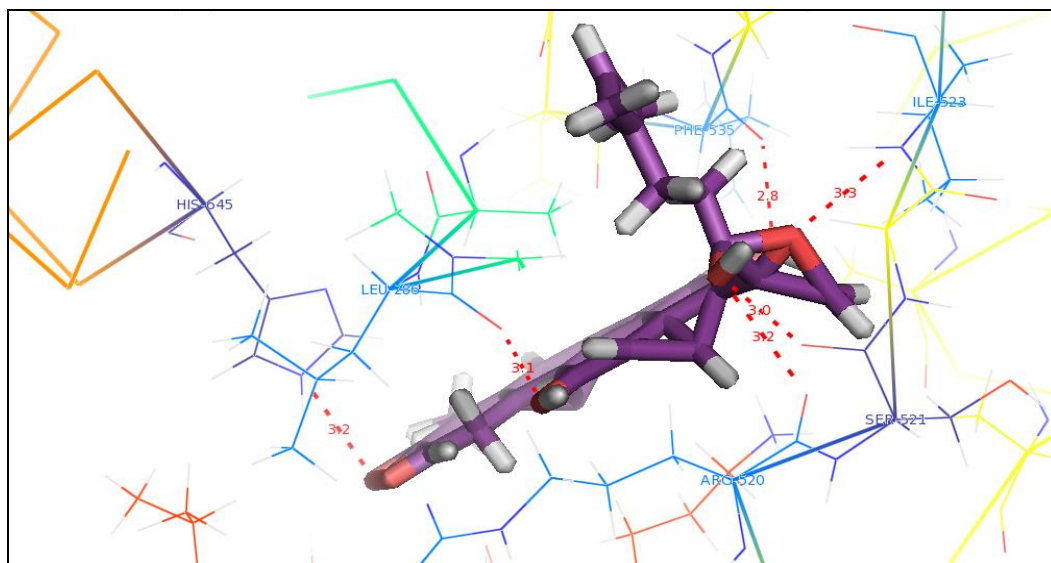
dan lariciresinol tidak berinteraksi dengan baik dengan α -glukosidase karena residu asam amino yang dihasilkan tidak masuk dalam residu target. Sedangkan fevicordin A, benzofenon glukosida, kaemferol, mahkosida A, mangiferin, mirisetin, dan kuersetin memiliki interaksi yang sangat baik dengan α -glukosidase bila dilihat dari jumlah residu asam amino yang dihasilkan dan residu yang dihasilkan sesuai dengan residu-residu yang terdapat dalam *targeted residue* di POCASA. Berikut adalah hasil visualisasi Pymol berupa residu asam amino:

Tabel 3. Hasil residu asam amino dengan *Pymol*

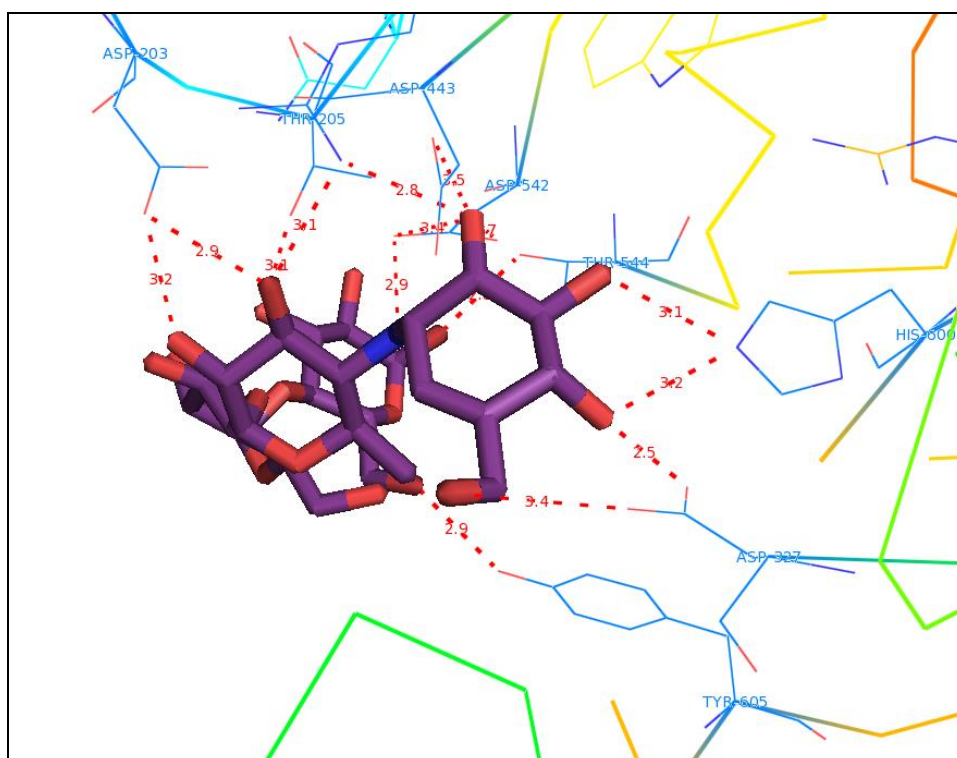
No.	Nama Ligan	Contact Residue Amino Acid
1.	Benzofenon glukosida	Thr 778, Val 779 , Ala 780
2.	Fevicordin A	Arg 520, Phe 535 , Leu 286, Ser 521, Ile 523 ,
3.	Kaemferol	Lys 776, Val 779
4.	Larisiresinol	Tyr 733, Arg 647, Thr 269
5.	Mahkosida A	Glu 774, Ser 521 , Asp 438, Trp 290, Ser 288
6.	Mangiferin	Lys 534, Asp 777, Ser 521
7.	Matairesinol	Gln 603, Arg 526, Thr 205
8.	Mirisetin	His 645, Arg 520, Thr 778, Phe 535
9.	Pinoresinol	Leu 286
10.	Kuersetin	Val 779, His 645, Thr 778 , Ala 780
11.	Acarbose (ligan standart)	Asp 203, Thr 205, Asp 443, Asp 542, Thr 544, Tyr 605, His, Asp 327

Keterangan: cetak tebal merupakan *targeted residue*

**Gambar 3.** Posisi tujuh ligan yang terdapat dalam satu *pocket* 69.



Gambar 4. Visualisasi fevicordin A dengan Pymol.



Gambar 5. Visualisasi acarbose (ligan standar) dengan Pymol.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan bahwa interaksi senyawa flavonoid buah mahkota dewa terhadap enzim α -glukosidase dengan nilai energi bebas terendah yaitu, fevicordin A dengan nilai energi bebas -10,8 kcal/mol. Senyawa flavonoid fevicordin A dapat dijadikan kandidat obat baru untuk antidiabetes,

Daftar Pustaka

- Altaf, R., Zaini, M., Dewa, A. 2013. Phytochemistry and medicinal properties of *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl extracts. *Pharmacognosy Reviews*, 7(13):73-80.
- Kemenkes. 2013. Riset Kesehatan Dasar: Riskesdas 2013. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI. Data diakses melalui <http://www.litbang.depkes.go.id/riskesnas> pada 12 Desember 2014.
- Malviya, N., Jain, S., Malviya, S. 2010. Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*; 67(2): 113-118.
- Meiyanti, Dewoto, H.R., Suyatna, D.F. 2006. Efek hipoglikemik daging buah mahkota dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl. terhadap kadar gula darah pada manusia sehat setelah pembebanan glukosa. *Universa Medicina*, 25(3):114-120.
- Misnadiarly. 2006. *Diabetes Mellitus: Gangren, Ulcer, Infeksi, Mengenal Gejala, Menanggulangi, dan Mencegah Komplikasi*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Roy, D., Kumar, V., Thirumurugan, K., Acharya, K. 2013. Probing the binding of syzygium-derived α -glucosidase inhibitors with N- and C-terminal human maltase glucoamylase by penambatan molekul and molecular dynamics simulation. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 172(1):102-114.
- Suarsana, N., Prioseryanto, B.P., Bintang, M., Wresdiyati, T. 2008. Aktivitas daya hambat enzim α -glukosidase dan efek hipoglikemik ekstrak tempe pada tikus diabetes. *Jurnal Veteriner*, 9(3):122-127
- Sugiwati, S., Efy, A., Setiasih, S. 2006. α -glucosidase inhibitory activity and hypoglycemic effect of *Phaleria macrocarpa* fruit pericarp extract by oral administration to rats. *Journal of Applied Sciences*, 6(10):2312-2316.
- Yanuar, A. 2012. *Penambatan Molekular Praktek dan Aplikasi pada Virtual Screening*. Depok: Laboratorium Komputasi Biomedik dan Rancangan Obat, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.