

STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) PADA RESEPTOR α -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2

MOLECULAR DOCKING STUDY FLAVONOID COMPOUNDS FROM KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) IN α -GLUKOSIDASE RECEPTOR AS ANTIDIABETIC TYPE 2

Indah Wulan Sari^{1*}, Junaidin¹, Dina Pratiwi¹

¹Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

*Corresponding Author Email: indahwulansari998@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>

ABSTRAK

Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit dimana kadar gula (glukosa) di dalam darah tinggi karena tubuh tidak dapat melepaskan atau menggunakan insulin secara efektif. Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) mempunyai khasiat sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa turunan flavonoid pada herba kumis kucing berpotensi sebagai obat antidiabetes-tipe 2 melalui mekanisme penghambatan α -glukosidase. Jenis penelitian ini adalah *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Proses *docking* dilakukan menggunakan *Autodock Vina*. Simulasi *molecular docking* dilakukan untuk menguji potensi senyawa flavonoid yang terkandung dalam kumis kucing sebagai kandidat obat antidiabetes sebagai inhibitor alami enzim α -glukosidase melalui parameter nilai energi bebas Gibbs, konstanta inhibisi, ikatan hidrogen dan residu asam amino. Hasil simulasi menunjukkan senyawa flavonoid yang memiliki nilai energi bebas Gibbs terbaik yaitu 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'hidroksi-8-C-prenylflavon sebesar -8.2 Kkal/mol sedangkan nilai energi bebas Gibbs acarbose adalah -8.7 Kkal/mol. Kesimpulan penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid pada kumis kucing belum berpotensi untuk dijadikan sebagai kandidat obat antidiabetes-tipe 2 dalam menggantikan akarbose melalui mekanisme penghambatan α -glukosidase.

Kata Kunci: Diabetes Tipe 2, *Orthosiphon stamineus* B, α -Glukosidase, *Molecular Docking*

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a disease in which the level of sugar (glucose) in the blood is high because the body cannot release or use insulin effectively. Kumis kucing (Orthosiphon stamineus B.) has antidiabetic properties. This study aims to determine whether the flavonoid derivatives in kumis kucing have the potential as an antidiabetic drug-type 2 through the α -glucosidase inhibition mechanism. This type of research is in silico using the molecular docking method. Docking process was performed using Autodock Vina. Molecular docking simulations were carried out to test the potential of flavonoid compounds contained in cat whiskers as antidiabetic drug candidates as natural inhibitors of the α -glucosidase enzyme through the parameters of Gibbs free energy values, inhibition constants, hydrogen bonds and amino acid residues. The simulation results show that the flavonoid compound that has the best Gibbs free energy value is 5,6,7,3'-tetramethoxy-4'hydroxy-8-C-prenylflavon of -8.2 Kcal / mol while the Gibbs acarbose free energy value is -8.7 Kcal / mole. The conclusion of this study shows that the flavonoid compounds in cat whiskers are not yet potential to be used as candidates for antidiabetic drug-type 2 in replacing acarbose through the α -glucosidase inhibition mechanism.

Keywords: Diabetes Type 2, *Orthosiphon stamineus* B, α -Glucosidase, *Molecular Docking*

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus atau sering disebut dengan kencing manis adalah suatu penyakit kronik yang terjadi ketika tubuh tidak dapat memproduksi cukup insulin atau tidak dapat menggunakan insulin (resistensi insulin), dan di diagnosa melalui pengamatan kadar glukosa di

dalam darah (IDF, 2015). Salah satu obat antidiabetes oral adalah golongan penghambat α -glukosidase, yaitu acarbose (Soegondo, 2011). α -glukosidase merupakan enzim yang berperan dalam proses metabolisme karbohidrat terletak dibagian tepi permukaan sel usus halus, dan proses pembentukan

glikoprotein dan glikolipid. glukosidase bekerja dengan memecah karbohidrat menjadi glukosa di usus halus manusia. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas glukosidase merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes, karena mampu menurunkan kadar gula dalam darah (Gholamhoseinian, et al., 2008). Acarbose berfungsi untuk menghambat α -glukosidase yang mengakibatkan tidak semua oligosakarida atau polisakarida dapat terpecah menjadi monosakarida. Penghambat α -glukosidase dapat mencegah dan menunda perkembangan diabetes mellitus tipe 2 (Van de laar., 2005).

Tanaman kumis kucing merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang berkhasiat sebagai obat kencing manis. Tanaman kumis kucing mengandung senyawa flavonoid (Depkes RI, 2000). Tawaran yang menarik akhir-akhir ini adalah pemanfaatan komputer sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Kemampuan komputasi yang meningkat eksponensial merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Komputer menawarkan metode *in silico* sebagai komplemen metode *in vitro* dan *in vivo* yang lazim digunakan dalam proses penemuan obat (Istiyastono, 2007).

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan *docking* menggunakan reseptor α -glukosidase kode PDB 3W37. Senyawa uji yang digunakan yaitu senyawa flavonoid dari tanaman kumis kucing serta obat pembanding akarbose. *Molecular docking* digunakan untuk memprediksi kompleks ligan dengan reseptor. Kemudian hasil skor *docking* senyawa turunan flavonoid dibandingkan dengan skor *docking* akarbose yang merupakan inhibitor α -glukosidase. Jika skor hasil *docking* senyawa turunan flavonoid lebih rendah dibanding akarbose maka dapat diprediksi senyawa tersebut memiliki aktivitas penghambatan yang baik dibanding dengan akarbose.

Alat

Perangkat Keras Komputer

Perangkat yang digunakan adalah Laptop dengan CPU AMD A12-9720P RADEON R7, 12 COMPUTE CORES 4C+8G 2.70 GHz, RAM 4 GB, Windows 10 64-bit Operating System.

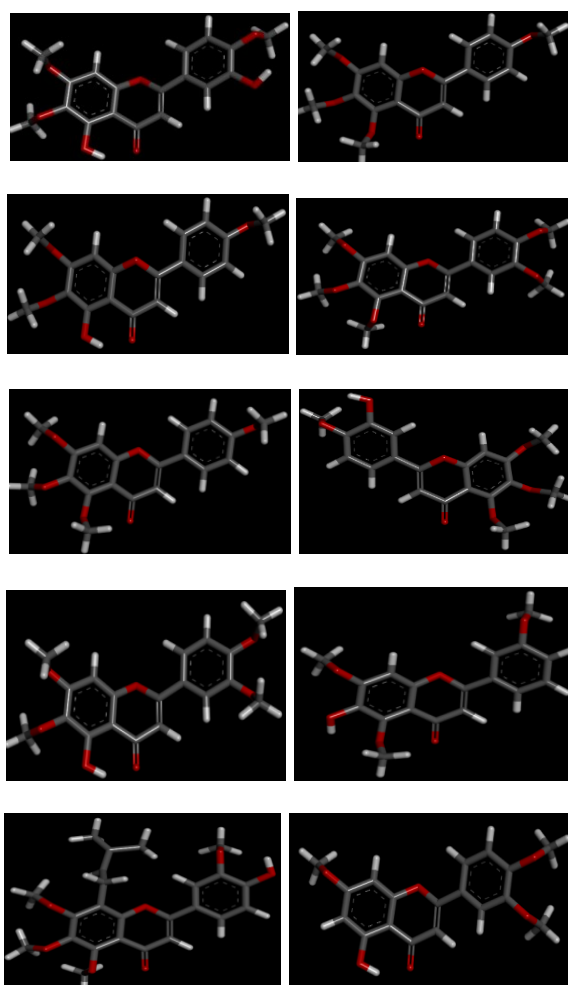
Perangkat Lunak Komputer

ArgusLab 4.0.1, Autodock Vina, Autodock Tools 1.5.6, Discovery Studio 2016, Open Babel 2.4.1, dan PyMOL.

Bahan

Senyawa Uji

Senyawa uji yang digunakan yaitu senyawa flavonoid (eupatorin, ladanein, salvigenin, sinensetin, tetramethylscutellarein 3'-Hydroxy-5,6,7,4'- tetramethoxyflavone, 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone, 5,6,7,3'-tetramethoxy-4'-hydroxy-8-C-prenylflavone, 6-hydroxy-5,7,3'-trimethoxyflavone, 7,3'4'-Tri-O-methylfluteollin) dari herba kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.).



Gambar 1. Struktur Senyawa uji 3D

Reseptor

Data struktur 3D Kristal reseptor yang digunakan untuk analisis *molecular docking* diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dengan situs <http://rcsb.org/pdb/>. reseptor yang digunakan yaitu α -glukosidase dengan kode PDB 3W37.

Cara Kerja

Preparasi Reseptor

Reseptor yang digunakan diunduh dari *Protein Data Bank*. Reseptor yang berupa makromolekul protein dipisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan beserta ligannya. Pemisahan dilakukan menggunakan *Discovery Studio*. Pengoptimasian untuk penambahan atom hidrogen dan *Compute Gasteiger* menggunakan *AutodockTools-1.5.6rc3*.

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan alami (akarbose) dari co-crystal yang terdapat pada reseptor dengan kode PDB 3W37.

Preparasi Ligan

Ligan atau senyawa uji senyawa flavonoid dari herba kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) dibangun menggunakan perangkat lunak Arguslab. Kemudian dilakukan Optimasi geometri menggunakan metode semiempirik (PM3) yang tersedia pada program Arguslab. Hasil optimasi tersebut kemudian dikonversi menggunakan Open Babel untuk dijadikan file PDB. Kemudian dilakukan penyiapan senyawa uji dengan *AutodockTools-1.5.6rc3*.

Docking Ligan Uji terhadap Reseptor

Pengaturan *grid box parameter* dilakukan menggunakan *AutodockTools-1.5.6rc3*. Koordinat *grid box* ditentukan berdasarkan koordinat ligan ko-kristal dari file reseptor yang digunakan pada saat validasi, kemudian dilakukan proses penambatan menggunakan *Autodock Vina*.

Analisa dan Visualisasi Hasil Docking

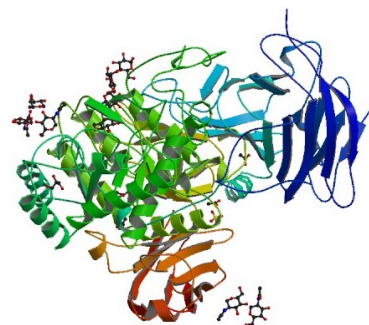
Penentuan konformasi ligan hasil *docking* (*pose* terbaik) dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan paling rendah. Hasil *docking* dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan *Discovery Studio*. Parameter yang dianalisa meliputi residu asam amino, ikatan hidrogen, konstanta inhibisi prediksi, dan energi bebas ikatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan Reseptor

Proses penambatan molekul diawali dengan menyiapkan reseptor yang akan digunakan. Pada tahap penyiapan reseptor struktur makromolekul yang digunakan diunduh

dari PDB Protein Data Bank dengan alamat situs <http://www.rcsb.org/>. Pada penelitian ini menggunakan reseptor α -glukosidase. Identitas makromolekul tersebut yaitu 3W37 dengan resolusi 1,7 Å.



Gambar 2. Reseptor α -glukosidase (Kode PDB 3W37)

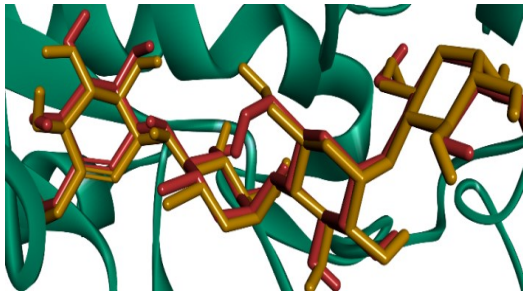
Struktur kristal tersebut digunakan untuk membuat file makromolekul dan ligan pdb yang terpisah menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio 2016*. Pada umumnya struktur protein pada PDB mengandung molekul pelarut berupa air dan residu lainnya, sehingga diperlukan penghilangan molekul air agar tidak mengganggu pada saat simulasi *docking* dilakukan dan untuk memastikan bahwa yang benar-benar berinteraksi adalah ligan dan reseptor. Selain itu juga perlu ditambahkan hidrogen. Penambahan atom hidrogen juga dilakukan untuk menyesuaikan suasana *docking* agar mendekati pada pH 7.

Setelah reseptor selesai dipreparasi, reseptor tersebut disimpan dengan format *pdbqt*. Selanjutnya persiapan ligan akarbose dilakukan dengan menambahkan muatan *gasteiger* menggunakan *Autodock Tools*. Selain itu ligan juga secara otomatis dilakukan pengaturan *merge non polar* sehingga atom H polar saja yang diharapkan akan berinteraksi dengan residu protein. Kemudian dilanjutkan proses penambatan molekul menggunakan program *Autodock Vina*.

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan cara melakukan *docking* ulang antara ligan alami akarbose (kode: 3W37) dengan reseptor α -glukosidase yang sudah dipreparasi. Pada proses validasi *docking*, yang dilihat adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). RMSD merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah

di *docking* untuk mengetahui nilai penyimpangannya. Metode *docking* dikatakan valid apabila nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$, yang artinya parameter *docking* yang digunakan telah valid sehingga metode *docking* dapat digunakan untuk *docking* senyawa uji.



Gambar 3. Gambar Tumpang Tindih Ligan (akarbose) Sebelum dan Sesudah *Redocking*

Validasi metode *docking* dianalisis menggunakan program *PyMOL* kemudian hasilnya divisualisasikan menggunakan program *Discovery Studio 2016*. Hasil validasi pada reseptor α -glukosidase yaitu menunjukkan nilai $RMSD 0,792\text{\AA}$. Hal ini menunjukkan bahwa metode *docking* yang digunakan telah valid dan pengaturan parameter yang digunakan memenuhi kriteria validasi, sehingga parameter tersebut dapat digunakan selanjutnya untuk *docking* senyawa uji.

Persiapan Ligan

Ligan-ligan yang digunakan pada penelitian ini yaitu senyawa flavonoid dari tanaman kumis kucing sebagai ligan uji dan akarbose sebagai ligan pembanding. Ligan yang digunakan dibangun struktur 3D menggunakan program *Arguslab* dengan format file *.xzy*.

Selanjutnya ligan uji yang sudah disiapkan dilakukan optimasi geometri dilakukan menggunakan metode Semi Empirik PM3 pada program *Arguslab*. Proses optimasi geometri dilakukan agar diperoleh konformasi molekuler

yang stabil dan memiliki energi potensial terendah (Lestari, 2015). Kemudian format ligan tersebut diubah menjadi *pdb* dengan menggunakan *OpenBabel* agar dapat dibaca dengan program *Autodock Tools* untuk selanjutnya dilakukan persiapan ligan.

Persiapan ligan dilakukan dengan menambahkan muatan *gasteiger*. Muatan *gasteiger* ini akan secara otomatis ditambahkan pada ligan ketika ligan di input menggunakan *Autodock Tools*. Selain itu ligan juga secara otomatis dilakukan pengaturan *merge non polar* sehingga atom H polar saja yang diharapkan akan berinteraksi dengan residu protein. Semua file ligan kemudian disimpan dengan format *pdbqt*.

Proses *Docking*, Analisa dan Visualisasi Hasil *Docking*

Setelah reseptor dan ligan selesai dipreparasi, kemudian dilakukan proses penambatan molekul menggunakan *Autodock Vina*. Pengujian ligan uji dan ligan pembanding yaitu akarbose dilakukan melalui proses *docking* terhadap reseptor α -glukosidase. Proses *docking* dilakukan menggunakan *gridbox* yaitu $36 \times 48 \times 36$ yang mencangkup seluruh bagian ligan, serta $center\ x = 0,699$, $y = -1,87$, $z = -23,212$ dan $spacing = 0,375\text{\AA}$.

Gridbox berfungsi untuk menentukan daerah reseptor yang akan ditambatkan berdasarkan koordinat *x*, *y* dan *z* dari senyawa pembanding akarbose dengan tujuan utama untuk mengetahui konformasi energi ligan terendah.

Hasil dari penambatan molekul pada penelitian ini yang akan dianalisis meliputi energi bebas Gibbs, nilai konstanta inhibisi, ikatan hidrogen dan kemiripan residu asam amino dari masing-masing ligan uji yang dapat dilihat pada Tabel 1. Konformasi yang dihasilkan dibandingkan dengan struktur co-kristal eksperimental acarbose untuk kemudian hasil terbaik yang didapatkan dilanjutkan pada tahap Analisa dan Visualisasi hasil.

Tabel 1. Hasil *Docking* Akarbose dan Senyawa Uji Dari Flavonoid Tanaman kumis kucing Pada Reseptor α -Glucosidase






Ligan	Energi bebas Gibbs (Kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)	Ikatan Hidrogen	Residu asam amino
Acarbose	-8.7	$4.19 \times 10^{-1}\ \mu\text{M}$	9	11 residu
Eupatorin	-7.5	$3.18\ \mu\text{M}$	1	6 residu
Ladanein	-7.0	$7.40\ \mu\text{M}$	0	6 residu
Salvigenin	-7.0	$7.40\ \mu\text{M}$	0	4 residu

Sinensetin	-7.2	5.27 μM	0	3 residu
Tetramethylscutellarein	-7.0	7.40 μM	0	5 residu
3'-Hidroksi-5,6,7,4'-tetrametoksiflavin	-7.3	4.45 μM	3	8 residu
5-Hidroksi-6,7,3',4'-tetrametoksiflavin	-7.1	6.24 μM	0	4 residu
6-Hidroksi-5,7,3'-trimetoksiflavin	-8.1	1.15 μM	1	7 residu
5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin	-8.2	0.97 μM	2	10 residu
7,3'4',Tri-O-methyluteollin	-7.3	4.45 μM	0	4 residu

Penelitian ini menggunakan 10 ligan uji senyawa flavonoid yang ditambatkan pada reseptor α -glukosidase, masing-masingnya akan menghasilkan 20 konformasi yang diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG terbaik (terendah). Selanjutnya dari hasil penelitian ini diketahui ligan uji 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin memiliki nilai ΔG yaitu -8.2 kkal/mol sehingga memungkinkan untuk dipilih sebagai kandidat antidiabetes tipe 2. Hal

ini dikarenakan hasil penambatan yang telah dilakukan, didapatkan bahwa ligan uji tersebut memiliki nilai ΔG yang mendekati akarbosa yang memiliki nilai ΔG -8.7 kkal/mol. Kemudian nilai ΔG yang paling mendekati akarbosa yaitu 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin. Selanjutnya dilakukan visualisasi untuk melihat residu asam amino yang berikatan. Visualisasi interaksi ini dilakukan menggunakan program *Discovery Studio* 2016.

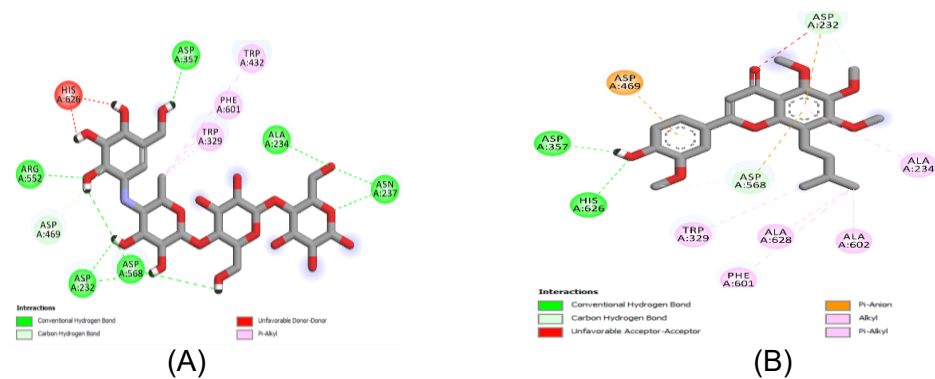
Tabel 2. Perbandingan Interaksi Akarbosa Dengan Senyawa Uji 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin

Warna	Kategori	Tipe	Jumlah interaksi	
			Akarbosa	5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin
	H Bond	Conventional H Bond	9	2
	H Bond	Carbon H Bond	1	2
	Hidrofobik	Pi Alkil	3	3
		Alkil	-	2
	Elektrostatik	Pi Anion	-	3

Dari hasil analisis dan visualisasi pada tabel 2 diketahui ikatan hidrogen pada ligan uji terbaik yaitu 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavin memiliki residu yang sama dengan ligan pembanding, yaitu pada residu asam amino ASP357, adanya ikatan hidrogen memberikan kestabilan konformasi pada

interaksi antara ligan dengan reseptor α -glukosidase.

Selain adanya hubungan antara ikatan hidrogen dengan nilai energi bebas Gibbs, masih banyak faktor yang mempengaruhi seperti interaksi hidrofobik maupun elektrostatik yang juga berkontribusi pada nilai energi bebas Gibbs antara ligan-reseptor.



Gambar 4. Interaksi senyawa (A) Akarbose (B) 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon Pada Reseptor α -Glukosidase

Visualisasi dan analisis interaksi hasil *docking* dilakukan untuk melihat hasil penambatan antara ligan pembanding dan ligan uji yang digunakan. Hasil visualisasi ini berupa interaksi residu asam amino dengan ligan. Adanya interaksi asam amino yang terlibat memungkinkan adanya kontak antara ligan dengan reseptor α -glukosidase sehingga memiliki aktivitas penghambatan.

Area ikatan (*Binding site*) merupakan area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. *Binding site* memperlihatkan residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Arwansyah dkk, 2014).

Berdasarkan hasil penambatan akarbose diperoleh 11 residu asam amino yang berikatan yaitu, ASP232, ASP568, ASP469, ARG552, HIS626, ASP357, TRP432, PHE601, TRP329, ALA234 dan ASN237, yang dapat dilihat pada Gambar 5. Hasil tersebut dijadikan sebagai acuan untuk membandingkan residu asam amino yang berikatan pada ligan uji yaitu turunan senyawa flavonoid dalam menghambat reseptor α -glukosidase.

Dengan membandingkan hasil interaksi akarbose dengan senyawa uji 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon, diketahui senyawa uji 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon memiliki interaksi dengan residu asam amino yaitu ASP357, ASP469, HIS626, ASP232, ALA234, ASP568, TRP329, PHE601, ALA628, dan ALA602 pada Gambar 5. Hasil visualisasi ini menunjukkan beberapa kesamaan residu asam amino yaitu ASP357, ASP469, HIS626, ASP232, ALA234, ASP568, TRP329, PHE601. Residu asam amino tersebut menunjukkan 5,6,7,3'-

tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon memiliki posisi penambatan yang hampir serupa dengan inhibitor α -glukosidase yaitu akarbose walaupun hanya beberapa asam amino yang dapat berinteraksi pada area *binding site*. Sehingga dimungkinkan senyawa uji 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon memiliki aktivitas penghambatan pada reseptor α -glukosidase yang lebih baik dibandingkan senyawa uji dari turunan flavonoid herba kumis kucing yang lainnya, meski aktivitas penghambatannya tidak sekuat akarbose.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa senyawa turunan flavonoid pada kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) belum berpotensi untuk dijadikan sebagai kandidat obat antidiabetes-tipe 2 dalam menggantikan akarbose melalui mekanisme penghambatan α -glukosidase.

SARAN

Perlu dilakukan kajian HKSA pada senyawa 5,6,7,3'-tetrametoksi-4'-hidroksi-8-C-prenylflavon guna meningkatkan kemampuan aktivitas penghambatan pada α -glukosidase yang bisa menyaingi akarbose.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwansyah., Ambarsari, L., dan Sumaryada, T. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Journal Current Biochemistry*, 1(1).
- Departemen Kesehatan RI. 2000. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1. Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI. Badan Penelitian

- dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta. Hal 173.
- Gholamhoseinian, A., Hosein F., Fariba, S., & Mansour, M. 2008. The Inhibitor effect of some Iranian plants extract on the alpha glucosidase. *Iran. J. of Basic Med Scie.*, 11(1), 1-9.
- International Diabetes Federation. 2015. *IDF Diabetes Atlas – Seventh Edition*. Hal 22.
- Istyastono, Enade Perdana. 2017. *Virtual Screening Campaigns on Isoflavones to Discover Potent Cyclooxygenase-2 Inhibitors*.
- Lestari, Tresna. 2015. *Jurnal Farmasi Indonesia*. STIKes Bakti Tunas Husada. Taksimalaya, 7(3).
- Soegondo, S. 2011. *Prinsip penanganan diabetes, insulin dan obat hipoglikemik oral*. Balai penerbit FKUI. Jakarta.
- Van de Laar, F.A., Lucassen, P.L., Akkermans, R.P., Van Weel, C. 2005. α -Glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 28(1): 16.