



Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Baru Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Inhibitor Enzim DPP-4: Studi in Silico

Mangatur Riverson Sinurat, Yuni Rahmayanti, Rizarullah*

Program Studi Pendidikan Dokter Universitas Abulyatama, Aceh, Indonesia

*Email: rizarullah_fk@abulyatama.ac.id

DOI: 10.24815/jupi.v5i2.20068

Article History:

Received: February 19, 2021

Accepted: April 28, 2021

Revised: April 12, 2021

Published: May 20, 2021

Abstract. Diabetes mellitus is a global health problem requires a great concern to finding new prevention and therapies. It can be treated using *Incretin-class* drugs to inhibit the *DPP-4 enzyme*. On the other hand, the leaves of *Yakon* plant (*Smallanthus sonchifolius*) are herbal plants that are often utilized to treat various diseases and are known to possess new secondary compound derivatives. In fact, the purpose of this study is to determine the activity of new compounds generated from the *Yakon* leaves to inhibit the DPP-4 enzyme based on energy and chemical bonds *in silico*. The new compound of the *Yakon* leaves is a derivative of both octadecatrienoic acid and benzyl glycosides. The compound is taken from *pubchem* and redrawn using *chemdraw*, while the DPP-4 (receptor) enzyme is obtained from a world protein bank which code PDB ID: 3F8S. The research is conducted using the *In Silico* method, while the docking process utilizing the *AutoDock Vina* computer software. The result of *gridbox* optimization by means of re-docking the controlled-ligand obtains an RMSD value of 1,628 Å. Finally, the result of molecular docking can be concluded that the new compound of the *Yakon* leaves has full potential to inhibit the activity of the DPP-4 enzyme as an anti-diabetic based on the value of free-energy Gibbs (ΔG) and chemical bonds. Further, the interaction formed between ligand and receptor occur on the active side of the DPP-4 enzyme are as follows: Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547 and Ser209. The interaction is dominated by hydrogen bonds. In fact, the finding concludes that compound 13(R)-hydroxyoctadeca-(9E, 11E, 15Z) -trienoic acid (ligand 1), benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl-(1" $\rightarrow$ 2')- β -D-glucopyranoside (ligands 2), 13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z, 11E, 15Z)-trienoic acid (ligand 3) have ΔG values of -6.2 kcal/mol, -7.7 kcal/mol and -5.6 kcal/mol. However, Benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl (1" $\rightarrow$ 2')- β -D-glucopyranoside (ligand 2) has more potential to inhibit the DPP-4 enzyme because the value of its free-energy Gibbs (ΔG) and the chemical bonds are more on its negative value and more stable compared to ligands 1 and 3.

Keywords: Diabetes mellitus, DPP-4 enzyme, Molecular Docking, *Smallanthus sonchifolius*

Pendahuluan

Metabolisme merupakan gabungan proses biologi dan kimia pada organisme untuk dapat menghasilkan atau mengkonsumsi energi (Deberardinis & Thompson, 2012). Ketidakseimbangan metabolisme di dalam tubuh akan menimbulkan gangguan metabolisme. Satu diantara gangguan metabolisme yang sering terjadi adalah diabetes melitus. Diabetes melitus merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah akibat kurangnya produksi hormon insulin dalam

tubuh atau fungsi insulin yang berkurang (Kementrian Kesehatan RI, 2019). Kekurangan produksi insulin dikarenakan kerusakan pada pankreas yang dipengaruhi beberapa faktor seperti genetik, alkohol, autoimun, dan induksi obat-obatan (Ozougwu dkk., 2013).

Diabetes melitus menempati peringkat ke-5 penyebab kematian di dunia setelah sepsis, stroke, penyakit hati dan tuberkulosis (Okoroiwu dkk., 2020). Prevalensi pengidap penyakit diabetes melitus di dunia sekitar 422 juta jiwa pada tahun 2014 dan keadaan ini meningkat empat kali lipat dari tahun 1980. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan penderita diabetes melitus akan semakin meningkat terutama pada penderita diabetes melitus tipe 2 (Saeedi dkk., 2019).

Indonesia menempati peringkat ke-4 di dunia sebagai negara dengan pengidap diabetes melitus terbanyak setelah negara tetangga seperti India, Cina, dan Amerika Serikat pada tahun 2019 (Saeedi dkk., 2019). Jumlah penderita diabetes melitus di Indonesia sebanyak 10.7 juta jiwa dan tersebar diseluruh provinsi. Provinsi Jakarta memiliki prevalensi tertinggi penderita diabetes melitus dengan jumlah penderita pada semua rentang umur sebanyak 3.4% dan provinsi dengan prevalensi penderita diabetes melitus terendah adalah Nusa Tenggara Timur sebanyak 0,9% tahun 2018 (Kemenkes, 2019). Prevalensi diabetes melitus di Aceh mengalami peningkatan. Data Risesdas pada tahun 2018 menunjukkan jumlah penderita diabetes melitus di tahun 2013 sebanyak 1.3% dan keadaan ini meningkat pada tahun 2018 sebanyak 1.7% dari penderita diabetes melitus pada semua rentang umur. Peningkatan yang signifikan pada penderita diabetes melitus di Aceh perlu diperhatikan penanganannya (Kemenkes, 2019).

Penanganan menggunakan obat-obatan kimia yang sering diberikan adalah Sitagliptin. Sitagliptin merupakan obat golongan incretin yang memiliki mekanisme kerja menghambat enzim *Dipeptidyl Peptidase - 4* (DPP-4) untuk meningkatkan sekresi insulin. Efek samping pemberian sitagliptin adalah peningkatan resiko infeksi dan reaksi alergi (Made & Pathni, 2018). Selain penggunaan obat-obatan kimia, masyarakat juga sudah banyak menggunakan obat-obatan herbal untuk menurunkan kadar gula darah dan mengurangi efek samping penggunaan obat-obatan kimia. Berdasarkan penelitian sebelumnya, obat herbal yang sudah digunakan oleh masyarakat untuk mengurangi kadar glukosa darah seperti daun salam, daun sirsak, dan daun kelor (Iyos & Astuti, 2013; Samata dkk., 2019; Widyawati dkk., 2015).

Indonesia yang beriklim tropis memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia setelah Brazil (Caetano dkk., 2016). Indonesia memiliki sekitar 25.000-30.000 jenis tanaman dan 940 jenis diantaranya berkhasiat menjadi obat (Silfia dkk., 2015). Salah satu tanaman yang dapat di jadikan obat adalah tanaman yakon (*Smallanthus sonchifolius*). Tanaman Yakon merupakan tanaman yang berasal dari pegunungan Andes, Peru. Di Indonesia tanaman yakon dapat ditemui pada dataran tinggi salah satunya di daerah Wonosobo. Tanaman yakon memiliki tinggi 1,5 hingga 3 meter, memiliki umbii berwarna coklat menyerupai ubi dan daun berwarna hijau tua. Pada penelitian sebelumnya diketahui senyawa daun yakon dapat menjadi antioksidan, antimikroba, antihipertensi, dan antidiabetes (Fridayanti dkk., 2015; Nurawati & Wulandari, 2018; Pahlawan & Oktaria, 2016). Daun yakon yang telah diisolasi sebelumnya dilaporkan memiliki senyawa seperti entkaurenic, asam fenolat, diterpenoid, lignin dan seskuiterpen lakton (Pahlawan & Oktaria, 2016; Yuan dkk., 2017).

Smallanthus sonchifolius dilaporkan memiliki senyawa baru. Hasil dari penelitian tersebut mendapatkan dua turunan asam *octadecatrienoic* dan satu turunan *benzyl glikosida* dengan penamaan senyawa sebagai berikut: *13(R)-hydroxyoctadeca-(9E,11E,15Z)-trienoic acid*, *benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl(1" $\rightarrow$ 2')- β D-glucopyranoside*, dan *13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z,11E,15Z)-trienoic acid* (Xiang dkk., 2009). Berdasarkan penelitian tersebut, peneliti melakukan penelitian menggunakan senyawa baru daun yakon sebagai calon obat antidiabetes untuk menghambat enzim DPP-4 menggunakan pendekatan eksperimental dengan metode *In silico*. Metode *In silico*

merupakan pengembangan ilmu bidang informatika dalam mengidentifikasi potensi senyawa baru sebagai calon obat secara komputerisasi dengan penambatan molekul, yaitu prediksi konfirmasi orientasi antara ligan dan protein target. Penggunaan metode *in silico* ini cenderung lebih murah dan mudah karena tidak menggunakan peralatan laboratorium dan hewan coba (Damayanti dkk., 2021; Sari & Bare, 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas inhibisi senyawa baru daun yakon terhadap reseptor enzim DPP-4 berdasarkan energi dan ikatan kimia sebagai antidiabetes. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi klinisi agar daun yakon dapat dijadikan alternatif sebagai obat herbal antidiabetes, menambah referensi senyawa kimia yang dapat menghambat aktivitas enzim DPP-4 untuk menghambat peningkatan gula darah, dan menjadi rujukan bagi penelitian selanjutnya.

Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan metode *In silico*. Peneliti menggunakan turunan senyawa asam octadecatrienoic dan benzyl glikosida yang terdapat pada daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*) untuk menginhibisi aktivitas enzim DPP-4 sebagai antidiabetes dengan menggunakan perangkat lunak *Auto Dock Vina*. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Perangkat komputer yang berspesifikasi Intel Inside CORE i3 CPU 2.00Ghz, 4 GB of RAM dengan sistem windos 10. *Molecular Docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina, AutoDock Tools, *Discovery Studio*, Chemdraw, Chem3D, Aturan Lipinski's pada situs <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>, Protein Bank <https://www.rcsb.org/> untuk pengambilan reseptor, pengambilan ligan pada situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3D dari enzim DPP-4 sebagai reseptor, sitagliptin sebagai ligan kontrol dan 13(R)-hydroxyoctadeca-(9E,11E,15Z)-trienoic acid, benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl(1" $\rightarrow$ 2')- β D-glucopyranoside, 13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z,11E,15Z)-trienoic acid sebagai ligan uji.

Prosedur penelitian dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Penyiapan Struktur Reseptor

Struktur protein diunduh pada situs <https://www.rcsb.org/>, dipilih enzim DPP-4 dengan Kode 3F8S kemudian Protein di preparasi menggunakan software *Discovery studio* dan AutoDock Tools.

2. Penyiapan Struktur ligan

Ligan uji digambarkan menggunakan ChemDraw dan diminimisasi dengan Chem3D, kemudian dipreparasi menggunakan *Discovery studio* dan Autodock Tools. Ligan pembanding dan ligan kontrol di unduh pada situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> kemudian di preparasi menggunakan *Discovery studio* dan AutoDock Tools.

3. Preparasi file *docking*

Dengan menggunakan Autodock Tools, semua ligan dan reseptor diubah format *file* menjadi pdbqt, merubah number of torsion, dan mengatur *grid box* pada reseptor.

4. Validasi File *Docking*

Validasi metode penambatan dilakukan untuk mengetahui parameter penambatan molekuler. Validasi ini dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Autodock Vina. Uji validitas metode penambatan dilakukan dengan melakukan penambatan ulang senyawa gosoliptin (ligan bawaan) terhadap enzim DPP-4 dengan parameter posisi.

5. *Molecular docking*

Docking dilakukan dengan menggunakan *software* AutoDock Vina dan dijalankan menggunakan *command prompt*.

6. Analisis dan visualisasi *docking*

Analisi hasil *docking* dapat dilakukan dengan melihat hasil *docking* pada *notepad* yang menunjukkan hasil berupa nilai energi Gibbs (ΔG) dan *Root mean Square deviation* (RMSD) kemudian menganalisis hasil *docking* secara visual menggunakan *Discovery studio*.

7. Aturan Lipinski

Penilaian kelayakan ligan uji menjadi obat oral dilakukan dengan memasukan ligan uji, pembedan dan kontrol dalam bentuk file *pdb* kedalam situs <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp> lalu melakukan prediksi.

Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini merupakan tahap awal pengembangan obat dengan menggunakan metode bioinformatik. Pada tahap ini dilakukan pengujian bioavailabilitas, toksisitas dan penambatan molekuler ligan terhadap reseptor/enzim DPP-4.

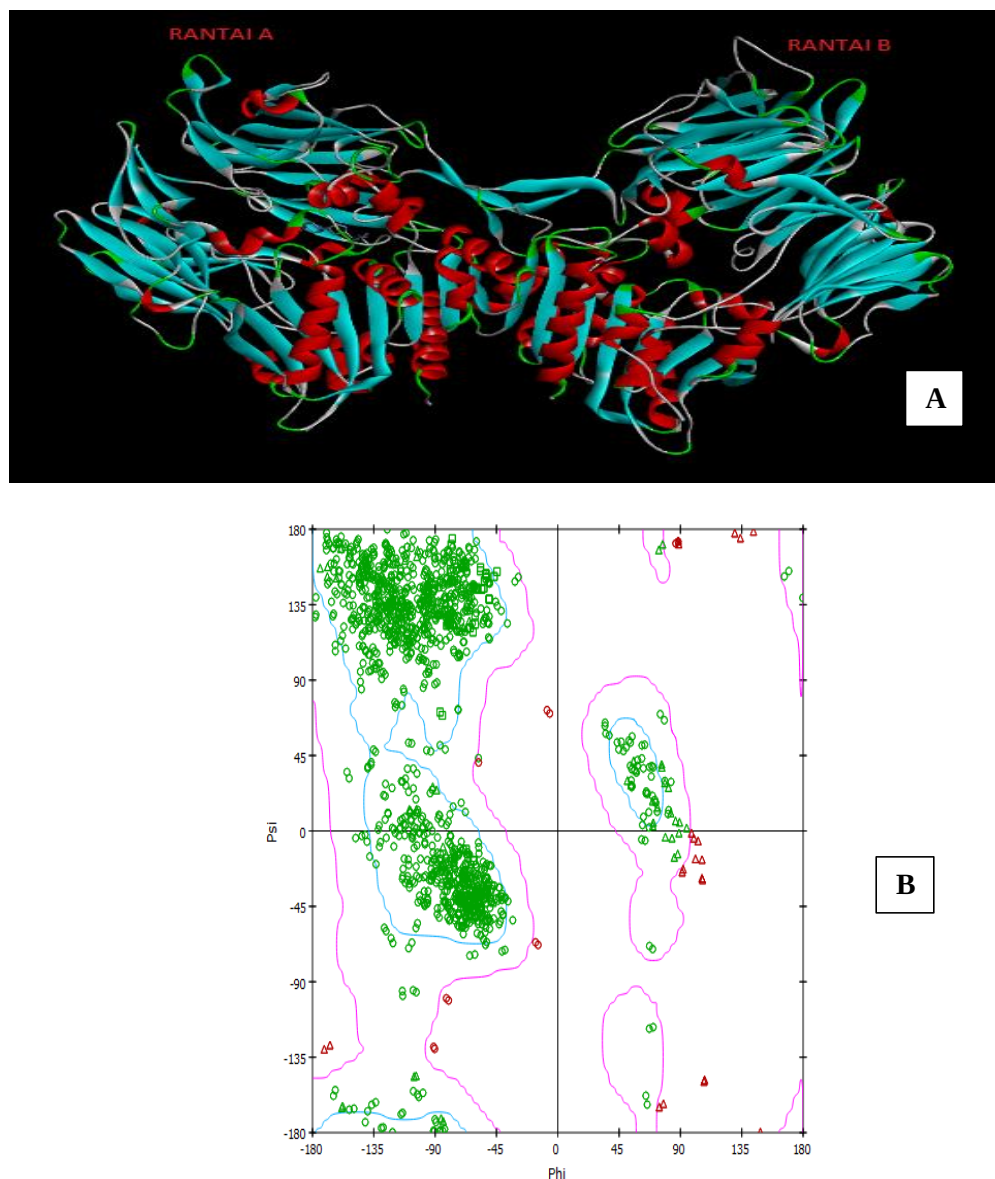
1) Stabilitas Reseptor dan Ligan

Visualisasi struktur 3D reseptor (enzim DPP-4) (PDB ID: 3F8S) diperlihatkan dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio* (Gambar 1A). Hasil visualisasi enzim DPP-4 memiliki sisi aktif pada residu asam amino Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547, dan Ser209. Sisi aktif tersebut dianggap berperan sebagai tempat substrat dan inhibitor berikatan. Sisi aktif enzim DPP-4 juga dibagi 3 klasifikasi menurut Pantaleao yaitu triad katalitik, ruang oksitosin dan daerah yang menjadi jembatan garam. Residu asam amino Ser630, Asp708, dan His740 merupakan triad katalitik, Asam amino Tyr470, dan Ser631 merupakan kategori ruang oksitosin dan asam amino Arg358, Tyr547, Ser631, Val656, Trp659, Tyr662, Tyr666, Asn710, dan Val711 merupakan kategori jembatan garam (Pantaleão dkk., 2018).

Konformasi residu pada protein dapat ditentukan dengan melihat diagram pada setiap sudut dihedral dari masing-masing residu, diagram ini disebut dengan plot Ramachandran. Plot Ramachandran digunakan untuk mengetahui kualitas struktur tiga dimensi protein hasil dari kristalisasi karena plot Ramachandran digunakan dalam visualisasi koordinat tiga dimensi protein yang telah ditentukan melalui eksperimen kedalam koordinat internal. Kluster yang terbentuk oleh residu dapat menunjukkan bentuk struktur sekunder protein tersebut.

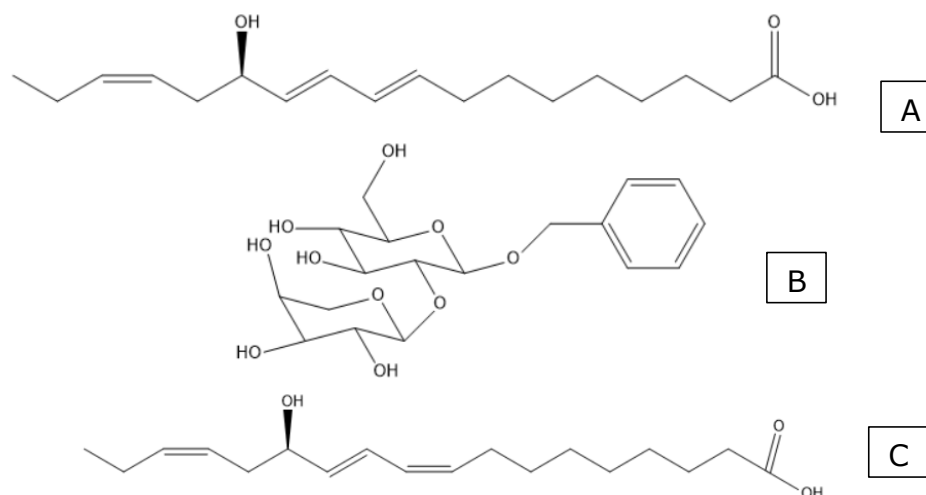
Setiap asam amino yang menyusun protein akan memiliki satu sudut phi (ϕ) dan psi (ψ), sehingga setiap residu asam amino dapat digambarkan sebagai satu koordinat (plot). Plot-plot yang menggambarkan residu asam amino pada struktur protein inilah yang disebut Ramachandran Plot (Hollingsworth & Karplus, 2010). Enzim DPP-4 memiliki struktur 3D dengan resolusi sebesar 2.43 Å dari hasil kristalografi dengan metode fraksi. Diagram ramachandran enzim DPP-4 (PDB ID: 3F8S) menunjukkan konfigurasi paling banyak terdapat dalam enzim ini adalah β -sheet. Selain itu enzim ini memiliki cukup banyak konfigurasi α -heliks dan γ -turn. Hasil analisis dari diagram ramachandran didapati 92% residu asam amino berada pada daerah yang disukai (*favored*), 7% menempati daerah yang diizinkan (*Allowed*), dan 1% di daerah yang dihindari (*outlier*) (Anitha dkk., 2013). Kualitas struktur protein dapat diketahui dengan melihat plot residu non glisin yang terletak di daerah yang dilarang dan yang disukai. Bila residu non-glisin pada daerah terlarang lebih dari 15% dan residu pada daerah yang paling disukai kurang dari 80% maka struktur protein tersebut memiliki kualitas struktur yang kurang baik (Hollingsworth & Karplus, 2010). Berdasarkan data yang diperoleh bahwa enzim DPP-4 dengan kode PDB 3F8S memiliki stuktur protein yang sangat baik.

Enzim DPP-4 memiliki dimer yang terdiri dari 2 rantai yaitu rantai A dan rantai B dengan jumlah residu asam amino 776 buah. Struktur enzim DPP-4 berikatan dengan beberapa ligan. Namun terdapat ligan yang unik dan baru di dapatkan yaitu 2-(4-{(3S,5S)-5-[(3,3-difluoropirrolidin-1-yl) karbonil] pirrolidin-3-yl} piperazin-1-yl) pirimidin (PF2) atau disebut dengan gosoliptin yang berperan sebagai inhibitor (Nedosugova dkk., 2014).



Gambar 1. A. Struktur 3D enzim DPP-4 (PDB ID: 3F8S), B. Diagram Ramachandran enzim DPP-4 (PDB ID: 3F8S)

Tiga ligan uji yang digunakan merupakan senyawa baru dari daun yakon. Ligan A dan C merupakan senyawa turunan *octadecatrienoic acid* yang memiliki gugus hidroksil dan gugus karboksilat dengan rantai alifatik. Ligan B merupakan turunan *benzyl glikosida* yang memiliki dua gugus glukosa dan satu gugus benzen. Gosoliptin digunakan sebagai ligan kontrol dan Sitagliptin sebagai ligan pembanding (Gambar 2).



Gambar 2. **A.** 13(R)-hydroxyoctadeca-(9E,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 1), **B.** benzyl alcohol 7-O-α-L-arabinopyranosyl(1'→2')-β-D-glucopyranoside (ligan 2), **C.** 13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 3)

Ligan yang berpotensi digunakan dalam pembuatan obat harus memenuhi aturan Lipinski. Aturan Lipinski terdiri atas lima aturan yang harus dipenuhi oleh senyawa yang dapat dijadikan obat oral. Kelima aturan yang harus dipenuhi yaitu atom reaktif kurang dari ≤ 500 Da, donor ikatan ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , $\log P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar berkisar 40-130 (Lipinski, 2004). Aturan lipinski berkaitan dengan keadaan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi senyawa tersebut dalam tubuh. Berdasarkan hasil uji lipinski *rule*, Ligan kontrol, ligan pembanding, dan ligan uji memiliki masa relatif yang kurang dari 500 Da. Jika ada ligan yang tidak memenuhi lebih dari satu aturan lipinski tersebut maka ligan tersebut tidak efektif digunakan secara oral dan dianjurkan secara injeksi (Hanachi dkk., 2015). Ligan uji, kontrol, dan ligan pembanding dapat memenuhi aturan lipinski kecuali ligan 2 tidak dapat memenuhi aturan donor ikatan hidrogen yang memiliki donor ikatan hidrogen 6. Namun, ligan 2 masih dapat digunakan secara oral karna hanya melanggar satu dari lima aturan lipinski (Tabel 1).

Tabel 1. Filter Aturan Lipinski

No.	Ligan	Massa atom relatif	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log P	Refraktivitas molar
1.	Kontrol	366	1	7	0.1967	92.157
2.	Pembanding	368	3	5	-2.246	90.071
3.	Ligan 1	266	2	3	0.243	66.275
4.	Ligan 2	382	6*	10	1.027	82.171
5.	Ligan 3	266	2	3	0.243	66.275

Keterangan :

Masa atom relatif ≤ 500

$\log P \leq 5$

Donor Ikatan Hidrogen ≤ 5

Akseptor Ikatan Hidrogen ≤ 10

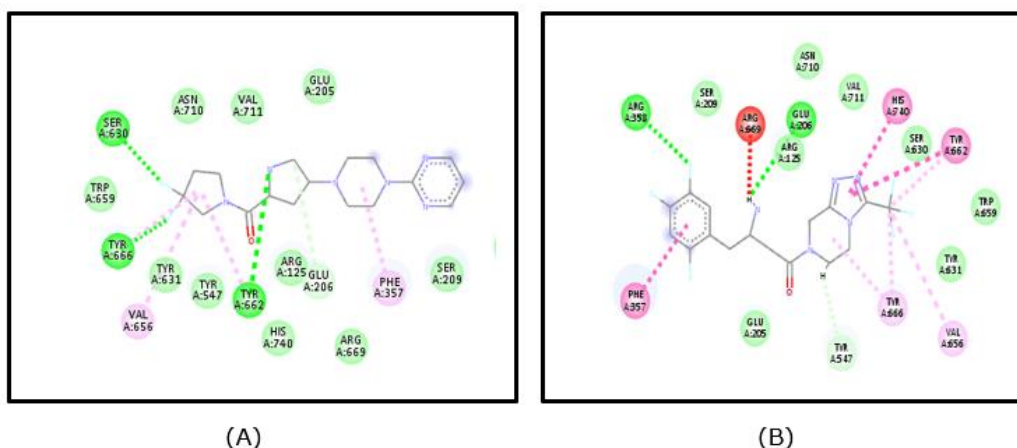
Raktivitas molar 40-130

Suatu obat untuk dapat melewati lapisan lipid bilayer sel sangatlah ditentukan oleh nilai berat molekul (M_r), H-donor dan H-acceptor. Sedangkan nilai log P berhubungan dengan hidrofobisitas molekul obat, semakin besar nilai log P maka akan semakin hidrofobik molekul tersebut. Kandidat obat yang berada di dalam tubuh tidak boleh terlalu hidrofobik karena dapat tertahan pada lapisan lipid bilayer dalam jangka waktu yang lama. Hal tersebut akan mempengaruhi pendistribusian obat secara luas dan akan menyebabkan selektifitas ikatan terhadap protein target berkurang. Senyawa dengan nilai log P yang terlalu negatif (kecil) juga tidak disarankan. Semakin negative nilai log P makan obat tersebut akan semakin hidofilik sehingga tidak dapat melewati lapisan lipid bilayer (Lipinski dkk., 2001).

2) Validasi Metode Penambatan

Validasi metode penambatan dilakukan untuk mengetahui parameter penambatan molekuler. Validasi ini dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Autodock Vina. Uji validitas metode penambatan dilakukan dengan melakukan penambatan ulang senyawa gosoliptin (ligan bawaan) terhadap enzim DPP-4 dengan parameter posisi.

Posisi *Grid box* yang digunakan pada *center_x*=18.338, *center_y*=18.045, dan *center_z*=34.070, sedangkan ukuran *grid box* pada *size_x*=40, *size_y*=40 dan *size_z*=40 yang terpusat pada sisi aktif enzim. Validasi metode penambatan dikatakan valid bila nilai RMSD yang dihasilkan kurang dari atau sama dengan 2.00 Å (Xiao dkk., 2018). Hasil validasi pada penelitian ini didapatkan rata-rata nilai RMSD < 2.00 Å yaitu sebesar 1.613 Å. Hasil validasi yang diperoleh menandakan bahwa pergeseran posisi pengikatan senyawa inhibitor tidak jauh bergeser dari posisi sebelum dilakukan validasi. Berdasarkan nilai RMSD yang diperoleh juga menyatakan bahwa parameter *grid box* yang digunakan valid. Visualisasi hasil penambatan gosoliptin sebagai ligan kontrol diperlihatkan menggunakan aplikasi *discovery studio* (Gambar 3). Hasil pengulangan penambatan ligan Kontrol menghasilkan ikatan hidrogen yang sama melibatkan asam amino Tyr662, Tyr666, dan Ser630. Sedangkan ikatan hidrofobik yang dibentuk oleh ligan kontrol melibatkan asam amino Arg358, Tyr662, Asn740, Val711, Glu 205, Ser209, Tyr631, Val656, Trp659, Arg125, His740, Arg125, Glu 206, Tyr547, dan Tyr666. Pada pengulangan sebanyak empat kali hanya terdapat pengurangan ikatan hidrogen pada pengulangan ke-1 yang dengan asam amino Tyr662. Namun, metode ini dapat dinyatakan valid.

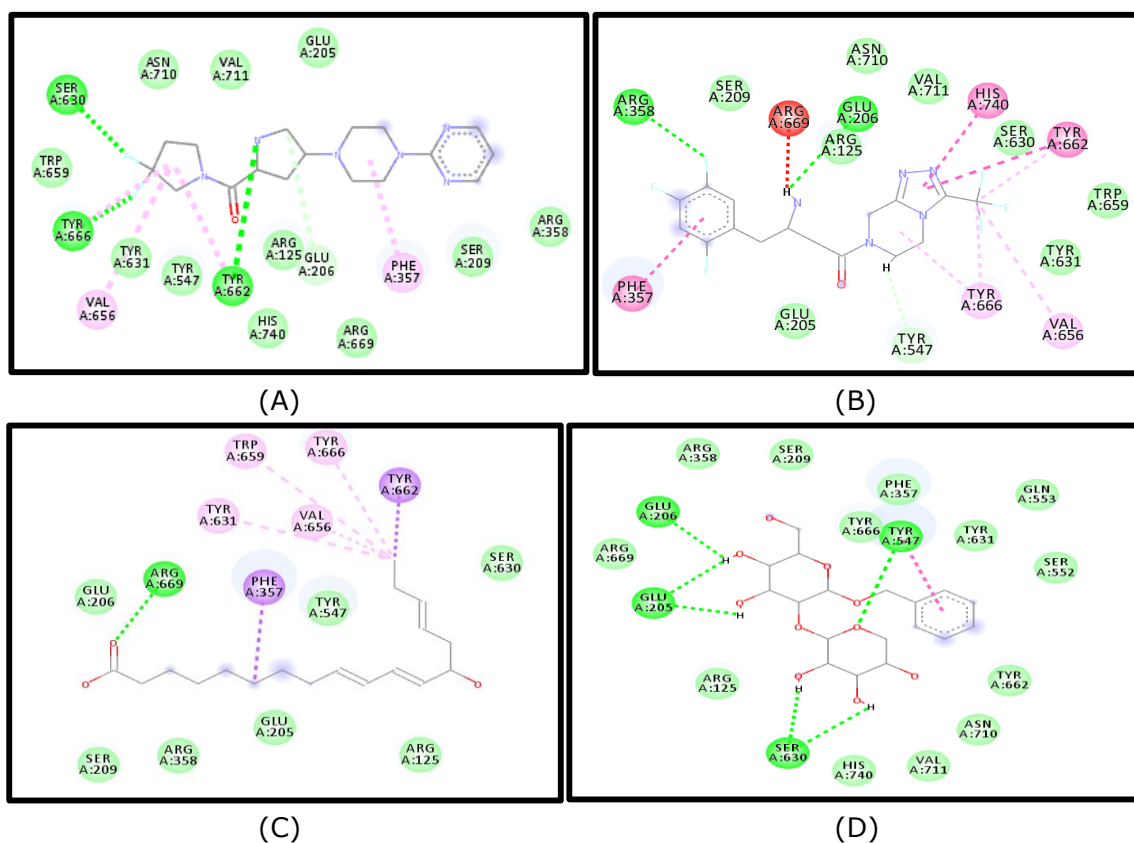


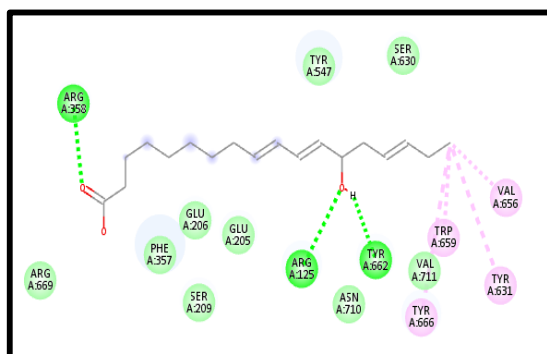
Gambar 3. A. Interaksi gosoliptin terhadap enzim DPP-4 (PDB ID: 3F8S), B. Interaksi hasil validasi gosoliptin terhadap enzim DPP-4

3) Penambatan Molekuler

Berdasarkan hasil penambatan molekuler senyawa uji 13(R)-hydroxyoctadeca-(9E,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 1), benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl(1" $\rightarrow$ 2')- β -D-glucopyranoside (ligan 2), 13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 3) diperoleh energi ikatan (Energi Bebas Gibbs) -6.2, -7.7 dan -5,6 kkal/mol. Sedangkan untuk ligan kontrol (gosoliptin) dan ligan pembanding (sitagliptin) diperoleh energi ikatan secara berturut-turut sebesar -8.1 dan -8.4 kkal/mol. Energi bebas Gibbs merupakan parameter yang digunakan untuk menyatakan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor. Secara termodinamika semakin negatif energi bebas Gibbs maka ligan tersebut semakin stabil dan reaksi akan berjalan dengan spontan.

Berdasarkan data nilai energi bebas Gibbs yang dihasilkan, diketahui bahwa ligan kontrol dan ligan pembanding lebih stabil dibandingkan dengan ligan uji. Namun, energi bebas Gibbs ligan uji juga bernilai negatif yang artinya ligan uji dapat berinteraksi dengan reseptor sehingga dapat digunakan sebagai inhibitor enzim DPP-4. Perbedaan nilai energi bebas Gibbs tersebut dipengaruhi oleh perbedaan jenis dan jumlah ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor seperti interaksi van der Waals, ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik dan hidrofobik (Nayeem dkk., 2021). Perbedaan interaksi antara ligan dan reseptor diperlihatkan pada (Gambar 4).





(E)

Gambar 4. A. Interaksi ligan Bawaan terhadap DPP-4, B. Interaksi Ligan Pembanding terhadap DPP-4, C. Interaksi Ligan 1 terhadap DPP-4, D. Interaksi Ligan 2 terhadap DPP-4, dan E. Interaksi Ligan 3 terhadap DPP-4

Berdasarkan hasil visualisasi diperoleh bahwa pada ligan bawaan terdapat ikatan-ikatan hidrogen yang merupakan ikatan kimia paling stabil untuk menandakan interaksi penambatan reseptor DPP-4. Begitu juga dengan ligan Kontrol, ligan 1, ligan 2 dan ligan 3 didapati ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dikatakan kuat jika panjang ikatan hidrogen tersebut kurang dari 2.7 Å dan sebaliknya (Itoh dkk., 2019). Maka, dapat disimpulkan bahwa ligan 2 merupakan ligan yang lebih stabil dari ligan Kontrol, ligan pembanding, ligan 1 dan ligan 3 karena terdapat lebih banyak ikatan hidrogen yang kuat pada ligan 2. Namun, Ikatan hidrogen yang lemah dan kuat tersebut menjadi lebih stabil lagi karena pada setiap interaksi terdapat ikatan pi, ikatan kovalen, dan ikatan hidrofobik yang bertugas untuk menyetabilkan ikatan hidrogen.

Tabel 2. Nilai ΔG dan Interaksi Ligan-Reseptor

Ligan	Energi Afinitas (Kkal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino Berikatan Hidrogen	Jarak Ikatan Hidrogen (Å)	Residu Asam Amino Hidrofobik	%BSS
kontrol	-8.1	1.577	Tyr662 Tyr666 Ser630	3.35 2.60 2.70	Arg358, Ser209, Phe357, Arg669, Glu206, Arg125, His740, Tyr662, Tyr547, Tyr631, Val656, Tyr666, Trp659, Asn710, Val711, Glu205,	100%
Pemba- nding	-8.4	1.858	Glu206 Arg358	2.64 2.88	Phe357, Glu205, Tyr547, Tyr666, Val656, Tyr631, Trp659, Tyr662, Ser630, His740, Val711, Arg125, Asn710, Arg669, Ser209	100%

Ligan 1	-6.2	1.075	Arg669	2.23	Arg125, Glu205, Arg358, Ser209, Glu206, Phe357, Tyr547, Ser630, Tyr662, Val656, Tyr631, Tyr659, Tyr666	76%
Ligan 2	-7.7	1.825	Glu206	2.37	Tyr547, Tyr662,	94%
			Glu205	2.27	Asn710, Val711,	
				2.26	His740, Arg125,	
			Ser630	2.27	Arg669, Arg358,	
				3.09	Ser209, Tyr666,	
			Tyr547	2.51	Phe357, Tyr631, Gln553, Ser552	
Ligan 3	-5.6	1.992	Arg358	2.48	Tyr547, Ser630,	88%
				2.70	Val656, Tyr631,	
			Arg125	2.88	Trp659, Val711,	
			Tyr662	1.91	Tyr666, Asn710, Glu205, Glu206, Phe357, Ser209, Arg669	

Energi bebas Gibbs (ΔG) merupakan potensial termodinamika yang diminimalkan saat sistem mencapai keseimbangan pada tekanan dan suhu konstan. Nilai bebas Gibbs akan menunjukkan spontanitas senyawa dalam mengikat reseptor atau protein target. Nilai Gibbs akan semakin spontan mengikat jika bernilai <0 . Sehingga semakin negatif nilai bebas Gibbs interaksi antara ligan dan reseptor akan semakin kuat. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh nilai bebas Gibbs ligan ligan 1, ligan 2, dan ligan 3 bernilai negatif seperti ligan kontrol dan ligan pembanding. Namun, ligan 2 memiliki nilai Gibbs tertinggi dibandingkan ligan 1 dan 3 (Du dkk., 2016).

Residu asam amino merupakan sisi aktif reseptor yang berikatan dengan ligan. Sisi aktif reseptor berperan agar ligan menghambat kerja reseptor. Enzim DPP-4 memiliki sisi aktif pada residu asam amino Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547, dan Ser209. Berdasarkan hasil penambatan didapatkan bahwa residu asam amino yang terdapat pada ligan Kontrol, ligan pembanding, ligan 1, ligan 2, dan ligan 3 terikat pada sisi aktif reseptor seperti pada table 2.

Binding Site Similarity (%BSS) merupakan persentase kesamaan ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan. Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa ligan Kontrol dan ligan pembanding memiliki %BSS 100%. Ligan 1, ligan 2, dan ligan 3 memiliki %BSS secara berurutan 76%, 94%, dan 88% terhadap ligan kontrol. Dengan demikian ligan 2 lebih memiliki kemiripan dengan ligan kontrol sebagai ligan penghambat enzim DPP-4 dibandingkan ligan 1 dan 3.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penambatan molekuler dapat disimpulkan bahwa senyawa baru dari daun yakon berpotensi menghambat aktivitas enzim DPP-4 sebagai antidiabetes berdasarkan nilai energi bebas ΔG dan ikatan kimia. Interaksi yang terbentuk antara ligan dan reseptor tepat pada Sisi aktif enzim DPP-4 yaitu Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547 dan Ser209. Interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor didominasi oleh ikatan hidrogen. Senyawa 13(R)-hydroxyoctadeca-

(9E,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 1), benzyl +alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl(1" $\rightarrow$ 2')- β -D-glucopyranoside (ligan 2), 13(R)-Hydroxy-octadeca-(9Z,11E,15Z)-trienoic acid (ligan 3) memiliki nilai ΔG sebesar -6.2 kkal/mol, -7.7 kkal/mol dan -5.6 kkal/mol. Namun, Benzyl alcohol 7-O- α -L-arabinopyranosyl (1" $\rightarrow$ 2')- β -D-glucopyranoside (ligan 2) lebih berpotensi menghambat enzim DPP-4 karena nilai energi bebas Gibbs (ΔG) dan ikatan kimia yang terbentuk lebih negatif dan stabil dibandingkan ligan 1 dan 3.

Daftar Pustaka

- Anitha, K., Gopi, G., Girish, & Kumar, P.S. 2013. Molecular docking study on dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences*, 2(5):602–610.
- Caetano, B., de Moura, N., Almeida, A., Dias, M., Sivieri, K., & Barbisan, L. 2016. Yacon (Smallanthus sonchifolius) as a food supplement: health-promoting benefits of fructooligosaccharides. *Nutrients*, 8(7):436–448.
- Damayanti, S., Khonsa, K., & Amelia, T. 2021. Antiviral activity and toxicity prediction of compounds contained in figs (Ficus carica L.) by in silico method. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 8(1):21–33.
- Deberardinis, R.J. & Thompson, C.B. 2012. Cellular metabolism and disease: What do metabolic outliers teach us. *Cell*, 148(6):1132–1144.
- Du, X., Li, Y., Xia, Y.L., Ai, S.M., Liang, J., Sang, P., Ji, X.L., & Liu, S.Q. 2016. Insights into protein–ligand interactions: Mechanisms, models, and methods. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2):1–34.
- Fridayanti, A., Ibrahim, A., & Fitriyanti. 2015. Aktivitas antijamur dan identifikasi metabolit sekunder isolat jamur endofit dari daun yakon. *J.Trop.Pharm.Chem*, 3(2):88–93.
- Hanachi, R., Belaidi, S., Kerassa, A., & Boughdiri, S. 2015. Structure activity/property relationships of pyrazole derivatives by mpo and qsar methods for drug design. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 6(4):923–935.
- Hollingsworth, S.A. & Karplus, P.A. 2010. A fresh look at the Ramachandran plot and the occurrence of standard structures in proteins. *Biomolecular Concepts*, 1(3):271–283.
- Itoh, Y., Nakashima, Y., Tsukamoto, S., Kurohara, T., Suzuki, M., Sakae, Y., Oda, M., Okamoto, Y., & Suzuki, T. 2019. N+–C–H $\cdots$ O Hydrogen bonds in protein–ligand complexes. *Scientific Reports*, 9(1):1–5.
- Iyos, R.N. & Astuti, P.D. 2013. Pengaruh ekstrak daun sirsak (annona muricata l.) terhadap penurunan kadar glukosa darah. *Majority*, 6(2):144–148.
- Kementrian Kesehatan RI. 2019. Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018. In *Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular, Badan Litbangkes*.
- Lipinski, C.A. 2004. Lead and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4):337–341.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., & Feeney, P.J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1):3–26.

- Made, P. & Pathni, S.D. 2018. Tren terapi diabetes dengan glp-1 receptor agonist. *Cermin Dunia Kedokteran*, 45(4):291–296.
- Nayeem, S.M., Sohail, E.M., Ridhima, G., & Reddy, M.S. 2021. Target SARS-CoV-2: computation of binding energies with drugs of dexamethasone/umifenovir by molecular dynamics using OPLS-AA force field. *Research on Biomedical Engineering*, 37(1):1–10.
- Nedosugova, L.V., Petunina, N.A., & Galstyan, K.O. 2014. Initial investigation of efficacy and safety of a new dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, gosogliptin for type 2 diabetes in Russia. *Diabetes Mellitus*, 4:81–86.
- Nurmawati, T. & Wulandari, N. 2018. Efektivitas antara umbi dan daun tanaman yakon (*smallanthus sonchifolius*) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terinduksi streptozotocin. *Strada Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 7(1):63–68.
- Okoroiwu, H.U., Uchendu, K.I., & Essien, R.A. 2020. Causes of morbidity and mortality among patients admitted in a tertiary hospital in southern Nigeria: A 6 year evaluation. *PLoS ONE*, 15(8):1–15.
- Ozougwu, Obimba, K.C., & Unakalamba. 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4):46–57.
- Pahlawan, P.P. & Oktaria, D. 2016. Pengaruh daun insulin (*smallanthus sonchifolius*) sebagai antidiabetik. *Majority*, 5(4):133–137.
- Pantaleão, S.Q., Philot, E.A., de Resende-Lara, P.T., Lima, A.N., Perahia, D., Miteva, M.A., Scott, A.L., & Honorio, K.M. 2018. Structural dynamics of DPP-4 and its influence on the projection of bioactive ligands. *Molecules*, 23(2):1–10.
- Saeedi, P., Petersohn, I., Salpea, P., Malanda, B., Karuranga, S., Unwin, N., Colagiuri, S., Guariguata, L., Motala, A.A., Ogurtsova, K., Shaw, J.E., Bright, D., & Williams, R. 2019. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157:1–10.
- Samata, P., Gowa, K.A.B., Munim, A., Alwi, M.K., & Syam, A. 2019. Pengaruh pemberian tepung daun kelor terhadap penurunan glukosa darah pada penderita diabetes di Wilayah Kerja Puskesmas Samata KAB.Gowa. *Jurnal Ilmu Kesehatan Diagnosis*, 13(6):605–611.
- Sari, D.R.T. & Bare, Y. 2020. Physicochemical properties and biological activity of bioactive compound in Pepper nigrum: In silico study. *Spizaetus: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*, 1(1):1–6.
- Silfia, S., Muchtar, H., & Failisnur, F. 2015. Pengaruh perbedaan persentase penambahan gliserin dan konsentrasi larutan ekstrak gambir terhadap beberapa sifat fisika dan kadar tanin tinta stempel. *Jurnal Litbang Industri*, 5(1):53–60.
- Widyawati, T., Purnawan, W.W., Atangwho, I.J., Yusoff, A., Ahmad, M., & Zaini. A.M. 2015. Anti-diabetic activity of syzygium polyanthum (wight) leaf extract, the most commonly used herb among diabetic patients in Medan, North Sumatera, Indonesia. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research IJPSR*, 6(4):1698–1704.

- Xiang, Z., Gai, K., Dou, D.Q., Kang, T.G., Shi, Y.Y., & Dong, F. 2009. New compounds from leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *Natural Product Communications*, 4(9):1201–1204.
- Xiao, W., Wang, D., Shen, Z., Li, S., & Li, H. 2018. Multi-body interactions in molecular docking program devised with key water molecules in protein binding sites. *Molecules*, 23(9):1–24.
- Yuan, Y., Win Aung, K.K., Ran, X., Wang, X., Dou, D., & Dong, F. 2017. A new sesquiterpene lactone from yacon leaves. *Natural Product Research*, 31(1):43–49.