

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS TURUNAN GENISTEIN SEBAGAI
ANTIDIABETES**

(Skripsi)

Oleh

Muhammad Irsad



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS TURUNAN GENISTEIN SEBAGAI ANTIDIABETES

Oleh

MUHAMMAD IRSAD

Penelitian pengembangan obat secara *in silico* saat ini telah banyak dilakukan, salah satunya adalah pengembangan obat antidiabetes. Salah satu langkah mengobati diabetes adalah dengan menghambat aktivitas enzim DPP-4, suatu enzim yang menghambat kinerja hormon inkretin, sehingga penghambatan enzim DPP-4 akan menstimulasi sekresi insulin. Genistein merupakan senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas antidiabetes dengan cara menghambat aktivitas enzim DPP-4. Berdasarkan dari struktur senyawanya, genistein memiliki 3 gugus hidroksil (-OH). Penelitian ini bertujuan untuk melihat potensi turunan genistein dengan penggantian gugus hidroksil posisi C ke-7 dengan gugus -H, -CH₃, -NH₂ dan -OCH₃ sebagai kandidat antidiabetes yang lebih baik. Uji *molecular docking* ligan sampel dilakukan terhadap enzim DPP-4 (PDB ID: 4n8e) menggunakan *software PLANTS* dan divisualisasikan dengan *software LigPlus* dan *PyMOL*. Keempat ligan sampel berhasil menempati posisi sisi aktif protein dan berinteraksi dengan residu asam amino sisi aktif protein. Ligan F (*5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-One*) yang merupakan turunan genistein dengan gugus fungsi metoksi (-OCH₃), menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan genistein dengan skor *docking* sebesar -78.5436 serta mampu menempati posisi yang mirip dengan Sitagliptin, sehingga interaksi terhadap residu asam amino sisi aktif juga menjadi lebih baik. Hasil analisis farmakokinetik juga menunjukkan bahwa ligan F mampu terabsorpsi dan terdistribusi dengan baik serta tidak bersifat toksik, sehingga ligan F berpotensi sebagai kandidat antidiabetes yang lebih baik dibandingkan ligan sampel lainnya.

Kata kunci : *5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-One*, RMSD, Genistein, Enzim DPP-4, *Molecular Docking*,

ABSTRACT

IN SILICO STUDY OF GENISTEIN DERIVATIVE ACTIVITY AS ANTIDIABETIC

By

MUHAMMAD IRSAD

Currently, there have been many researches on in silico drug development, one of which is the development of antidiabetic drugs. One of the steps to treat diabetes is to inhibit the activity of the DPP-4 enzyme, an enzyme that inhibits the performance of incretin hormones, so that inhibition of the DPP-4 enzyme will stimulate insulin secretion. Genistein is a compound that has been shown to have antidiabetic activity by inhibiting the activity of the DPP-4 enzyme. Based on the structure of the compound, genistein has 3 hydroxyl groups (-OH). This study aims to see the potential of genistein derivatives by replacing the 7th C hydroxyl group with -H, -CH₃, -NH₂ and -OCH₃ groups as better antidiabetic candidates. Molecular ligand docking test of samples was carried out on the DPP-4 enzyme (PDB ID: 4n8e) using PLANTS software and visualized with LigPlus and PyMOL software. The four sample ligands succeeded in occupying the active site of the protein and interacting with amino acid residues of the active protein site. Ligand F (5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-One), which is a genistein derivative with a methoxy functional group (-OCH₃), showed better results than genistein with a docking score of -78.5436 and is able to occupy a position similar to Sitagliptin, so that the interaction with the active side of the amino acid residue is also better. The results of the pharmacokinetic analysis also showed that the F ligand was able to be absorbed and distributed well and was not toxic, so that the F ligand had the potential to be a better antidiabetic candidate than the other sample ligands.

Keywords : 5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-One, RMSD, Genistein, DPP-4 Enzyme, Molecular Docking,

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS TURUNAN GENISTEIN SEBAGAI
ANTIDIABETES**

Oleh

MUHAMMAD IRSAD

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS TURUNAN
GENISTEIN SEBAGAI ANTIDIABETES**

Nama Mahasiswa : **Muhammad Irsad**

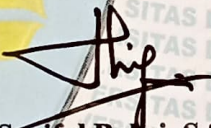
Nonor Pokok Mahasiswa : **1617011103**

Program Studi : **Kimia**

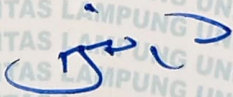
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.
NIP. 197407172008122003


Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
NIP. 197308252000031001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila


Mulyono, Ph.D.
NIP 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M. Si.



Sekretaris : Syaiful Bahri, S.Si., M, Si.



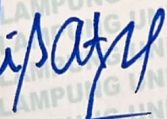
Anggota : Dr. Nurhasanah, S.Si., M. Si.



2. Dekan Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 18 April 2023

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Irsad
NPM : 1617011103
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Studi *In Silico* Aktivitas Turunan Genistein Sebagai Antidiabetes” ini tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dicantumkan dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 12 Juni 2023

menyatakan



Muhammad Irsad
NPM. 1617011103

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Diabetes Mellitus	4
2.2. Penanganan Diabetes Mellitus Tipe-2 (DMT2).....	5
2.3. Enzim <i>Dipeptidyl Peptidase-4</i> (DPP-4)	6
2.4. Genistein.....	7
2.5. Aturan Lipinski	9
2.7. Prediksi Absorpsi, Distribusi dan Toksisitas	10
2.7. Penambatan Molekul (<i>Molecular Docking</i>)	11
2.7.1. Pemilihan dan Preparasi Protein	12
2.7.2. Pemilihan dan Preparasi Ligan	12
2.7.3. Validasi Metode Penambatan Molekul	13
III. METODE PENELITIAN	14
3.1. Waktu dan Tempat	14
3.2. Alat dan Bahan.....	14
3.3. Prosedur Kerja	14
3.3.1. Validasi Metode.....	15
1. Preparasi Enzim DPP-4 (Protein)	15
2. Preparasi Inhibitor Enzim DPP-4 (<i>Native Ligand</i>).....	15
3. <i>Re-docking Native Ligand</i> dengan Enzim DPP-4.....	16
4. Menghitung Nilai RMSD.....	17

5. Visualisasi	17
3.3.2. <i>Molecular Docking</i>	18
1. Preparasi Ligan Sampel dan Ligan Pembanding	18
2. <i>Molecular Docking</i> Ligan Sampel dan Ligan Pembanding dengan DPP-4.....	18
4. Visualisasi 2D dan 3D	19
3.3.3. Analisis Farmakokinetik.....	19
3.4. Diagram Alir	20
3.4.1. Diagram Alir Validasi Metode	21
3.4.2. Diagram Alir <i>Molecular Docking</i>	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	23
4.1. Validasi Metode	23
4.1.1. Preparasi Enzim DPP-4 (Protein)	23
4.1.2. Preparasi Inhibitor Enzim DPP-4 (<i>Native Ligand</i>)	25
4.1.3. <i>Re-docking Native Ligand</i> dengan Enzim Enzim DPP-4.....	25
4.1.4. Menghitung Nilai RMSD	26
4.1.5. Visualisasi 2D	27
4.2. <i>Molecular Docking</i>	28
4.2.1. Preparasi Ligan Sampel dan Ligan Pembanding.....	29
4.2.2. <i>Molecular Docking</i> Ligan Sampel dan Ligan Pembanding dengan Enzim DPP-4	30
4.2.4. Visualisasi 2D dan 3D	31
4.3. Analisis Farmakokinetik.....	44
V. KESIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Senyawa turunan genistein.....	9
2. Skor <i>docking</i> 10 konformasi <i>native ligand</i>	26
3. Skor <i>docking</i> Ligan Sampel dan Ligan Pembanding	30
4. Skor <i>docking</i> dan interaksi yang terjadi di sisi aktif protein	38
5. Analisis aturan Lipinski	45
6. Prediksi absorpsi dan distribusi.....	45
7. Prediksi toksisitas.....	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Obat Sitagliptin (Januvia) dan struktur kimianya	6
2. Enzim <i>dipeptidyl peptidase-4</i> (DPP-4)	7
3. Genistein	8
4. Struktur enzim DPP-4 (4n8e.pdb).....	24
5. Struktur rantai B dan <i>native ligand</i> (2kv).....	24
6. Struktur <i>native ligand</i> (2kv).....	25
7. <i>Native ligand</i> (merah) dan ligan <i>re-docking</i> (biru)	27
8. Interaksi <i>native ligand</i> (2kv) dan ligan <i>re-docking</i> (ligan 3) terhadap sisi aktif protein	27
9. A dan B (Ligan Pembanding), C, D, E dan F (Senyawa Turunan Genistein/Ligan Sampel)	29
10. Sitagliptin (Ligan A)	32
11. Genistein (Ligan B)	33
12. <i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one</i> (Ligan C)	34
13. <i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methyl-4H-chromen-4-one</i> (LiganD)	35
14. <i>7-amino-5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one</i> (LiganE)	36
15. <i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one</i> (Ligan F)....	37
16. Posisi ligan sitagliptin (krem) dan <i>native ligand</i> (merah) pada sisi aktif protein.....	41
17. Posisi ligan genistein (biru) dan ligan sitagliptin (krem) pada sisi aktif protein.....	42
18. Posisi ligan sampel dan ligan sitagliptin (krem) pada sisi aktif protein.....	43

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan sebuah penyakit metabolik kronis yang cukup mengancam jiwa. Sebagian besar kematian prematur yang terjadi di berbagai wilayah secara global, disebabkan oleh penyakit ini. Berdasarkan data dari *International diabetes federation* (IDF), pada tahun 2021 diperkirakan terdapat 537 juta orang di dunia dalam rentang usia antara 20-79 tahun menderita diabetes dan angka tersebut diperkirakan akan terus meningkat hingga mencapai 643 juta pada tahun 2030 dan 783 juta pada tahun 2045. Kasus penderita diabetes di Indonesia menempati urutan ke-5 setelah negara Cina, India, Pakistan dan Amerika Serikat, dengan jumlah kasus sebanyak 19,5 juta penderita, dan diperkirakan akan terus meningkat menjadi 28,6 juta penderita pada tahun 2045 (*International Diabetes Federation, 2021*).

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula dalam darah sebagai akibat adanya gangguan metabolisme yang berhubungan dengan hormon insulin, suatu hormon yang disekresikan oleh sel beta pankreas. Hormon ini berperan dalam membantu gula untuk masuk ke dalam sel sehingga dapat disebarkan ke seluruh tubuh. Pada penderita diabetes melitus, hormon insulin ini tidak dapat bekerja dengan baik yang berdasarkan hal itu juga, diabetes melitus dibagi menjadi 2 tipe, yaitu diabetes tipe 1, dimana terjadi kerusakan pada sel beta pankreas akibat dari proses autoimun yang menyebabkan hormon insulin tidak dapat dihasilkan, dan diabetes tipe 2, dimana sel-sel tubuh menjadi resisten terhadap insulin akibat dari pola hidup yang tidak sehat, keadaan ini menyebabkan hormon menjadi tidak efektif

dan pada akhirnya mendorong produksi insulin yang berlebih, seiring berjalannya waktu, semakin lama produksi insulin tidak memadai sehingga menyebabkan kegagalan sel beta pankreas dalam memenuhi permintaan (Fatimah, 2015, Pulungan dkk., 2019).

Penanganan diabetes melitus tipe 2, dilakukan dengan adanya perubahan gaya hidup dan terapi farmakologis dengan cara pemberian obat antihiperqlikemia oral. Salah satu obat yang sering diberikan kepada penderita adalah obat yang mengandung senyawa sitagliptin seperti Januvia, yaitu obat antidiabetes yang bekerja dengan cara menghambat enzim DPP-4 (*dipeptidyl peptidase-4*). sehingga meningkatkan sekresi insulin toleransi glukosa dapat teratasi. Penggunaan obat ini tentu menjadi salah satu pilihan terbaik, namun masih terdapat kekurangan dimana adanya efek samping yang dapat ditimbulkan seperti peningkatan resiko infeksi dan reaksi alergi, karenanya masih banyak masyarakat yang lebih memilih untuk memanfaatkan obat herbal yang relatif lebih mudah dan murah serta diperkirakan minim timbulnya efek samping (Sinurat dkk., 2021, Diantari, 2022). Salah satu senyawa dari bahan alam yang telah diteliti memiliki efek antidiabetes adalah genistein.

Genistein merupakan senyawa yang berasal dari kedelai dan kacang-kacangan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, genistein dapat meningkatkan sekresi insulin dengan cara menghambat enzim DPP-4, sehingga senyawa genistein berpotensi sebagai kandidat obat antidiabetes (Diantari, 2022) namun tidak sebaik sitagliptin. Berdasarkan struktur senyawanya, genistein memiliki gugus hidroksil yang dapat digantikan oleh gugus lain, sehingga akan didapatkan turunan senyawanya, dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas senyawa genistein. Penelitian ini menggunakan metode komputasi yaitu *molecular docking* untuk mengidentifikasi potensi senyawa turunan genistein sebagai antidiabetes.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Mengidentifikasi jenis interaksi yang terjadi dari tiap ligan sampel.
2. Mengidentifikasi residu asam amino sisi aktif/sisi pengikatan yang berinteraksi terhadap ligan sampel.
3. Memprediksi senyawa turunan genistein yang memiliki potensi terbaik sebagai obat antidiabetes.
4. Memprediksi potensi toksisitas senyawa turunan genistein sebagai antidiabetes.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah mengidentifikasi potensi turunan senyawa genistein sebagai kandidat obat antidiabetes melalui pendekatan komputasi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan meningkatnya kadar gula darah sebagai akibat dari adanya gangguan pada sistem metabolisme. Gangguan tersebut berkaitan dengan hormon insulin, dimana hormon ini merupakan faktor penting dalam lancarnya distribusi gula ke seluruh tubuh. Hormon insulin yang mengalami gangguan, tidak dapat membantu gula masuk ke dalam sel dengan baik, sehingga kadar gula dalam darah akan meningkat. Hormon insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh sel beta pankreas, ketika tubuh mendapatkan asupan makanan, pankreas akan membentuk hormon insulin sebagai respon metabolisme tubuh, yang kemudian memantu gula pada makanan masuk ke dalam sel-sel tubuh. Berkaitan dengan hormon ini, diabetes melitus diabegi menjadi 2, yaitu diabetes melitus tipe 1 dan tipe 2 (Pulungan dkk., 2019).

Diabetes melitus tipe 1 (DMT1) adalah kondisi dimana pankreas tidak dapat menghasilkan hormon insulin. Ini terjadi karena destruksi sel beta pankreas akibat proses autoimun, dimana sistem kekebalan tubuh menyerang sel beta pankreas. Penyebab pasti dari terjadinya destruksi ini masih belum sepenuhnya dipahami. Namun, penjelasan yang mungkin adalah adanya faktor genetik dan faktor lingkungan seperti sebuah virus yang menyebabkan reaksi autoimun (Pulungan dkk., 2019).

Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) adalah kondisi dimana sel-sel tubuh menjadi tidak mampu untuk merespon insulin dengan baik, kondisi ini dikenal juga sebagai resistensi insulin, timbulnya keadaan resistensi insulin ini, menyebabkan

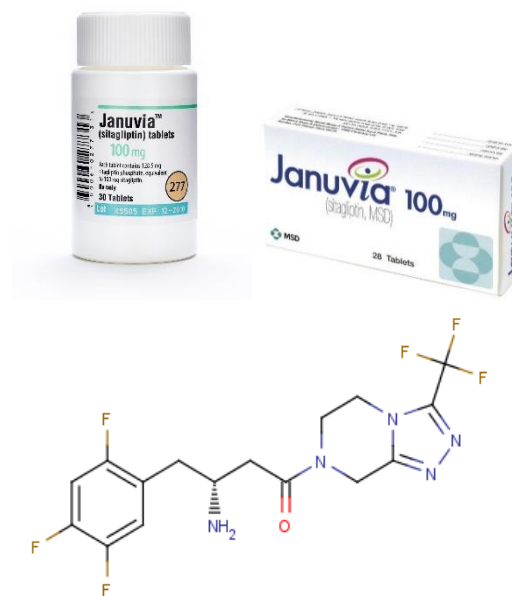
hormon menjadi tidak efektif dan pada akhirnya mendorong peningkatan produksi insulin. Seiring berjalannya waktu, semakin lama produksi insulin tidak memadai sehingga menyebabkan kegagalan sel beta pankreas dalam memenuhi permintaan. Penyebab diabetes tipe ini ada hubungannya dengan kelebihan berat badan dan kurangnya aktivitas fisik (Fatimah, 2015).

Selain kedua tipe diabetes di atas, terdapat jenis diabetes lain seperti diabetes gestasional, yaitu diabetes yang terjadi selama masa kehamilan sampai proses persalinan. Dibandingkan jenis diabetes lainnya, diperkirakan lebih dari 90% kasus diabetes di seluruh dunia adalah kasus diabetes melitus tipe 2 (DMT2). Angka ini dapat tercapai karena pada DMT2 secara umum menunjukkan gejala yang kurang dramatis dan kondisinya bisa sama sekali tidak menunjukkan gejala. Namun, ketika terjadi kekurangan insulin yang parah maka gejala seperti sering haus dan buang air kecil akan mulai terlihat, jika kadar gula darah sangat tinggi (melebihi 1000 mg/dl) maka penderita akan mengalami dehidrasi hebat yang menyebabkan kebingungan mental, pusing, kejang, hingga keadaan yang disebut koma hiperglikemik. Dengan demikian, DMT2 adalah penyumbang terbesar pada kasus diabetes di dunia, sehingga penanganan diabetes tipe ini perlu terus ditingkatkan (Nuraini dan Supriatna, 2016).

2.2. Penanganan Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2)

Manajemen dalam penanganan DMT2 biasanya dilakukan dengan adanya perubahan atau modifikasi gaya hidup yang lebih sehat dan terapi farmakologis (Fakih dan Dewi, 2020). Terapi farmakologis yang dilakukan berupa pemberian obat antihiperglikemia oral dan salah satu obat yang sering diberikan adalah sitagliptin (Januva), seperti pada Gambar 1. Sitagliptin merupakan obat golongan penghambat enzim *dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4). Pemberian obat ini bertujuan untuk mempertahankan kadar Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) dan *glucose-dependent insulinotropic polipeptide* (GIP) dalam bentuk aktif di sirkulasi darah dengan cara mengikat dan membentuk interaksi pada sisi aktif/sisi pengikatan enzim *dipeptidyl peptidase-4* lalu menghambat kinerjanya, sehingga dapat

memperbaiki toleransi glukosa, meningkatkan respon insulin, dan mengurangi sekresi glukagon (Parkeni, 2019). Namun, pemberian obat sitagliptin memiliki efek samping seperti peningkatan resiko infeksi dan reaksi alergi (Made dan Pathni, 2018.). Disamping itu, masalah biaya obat sitagliptin dan obat kimia lainnya cenderung lebih mahal. Selain penggunaan obat-obatan kimia, masyarakat juga banyak memanfaatkan obat-obatan herbal dalam upaya menurunkan kadar gula darah dan biaya yang dikeluarkan lebih murah serta efek samping yang kecil atau tidak ada. Berdasarkan penelitian sebelumnya, obat herbal yang telah banyak dimanfaatkan dalam mengurangi kadar glukosa darah salah satunya adalah kedelai (Sinurat dkk., 2021, Diantari, 2022).



Gambar 1. Obat Sitagliptin (Januvia) dan struktur kimianya

2.3. Enzim *Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4)*

Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) merupakan suatu protease serin multifungsi dengan fungsi ganda sebagai protease pengatur dan protein pengikat, yang terdistribusi secara luas didalam tubuh (Penaforte-Saboia *et al.*, 2021). Enzim ini memecah dua asam amino dari suatu peptida yang mengandung alanin atau prolin di posisi peptida N-termilnal. Enzim DPP-4 memberikan efek anti-apoptosis,

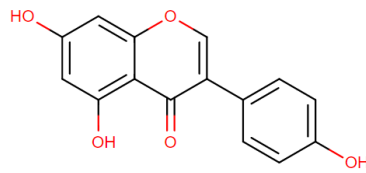
regeneratif, dan proliferasif untuk mendorong ekspansi massa sel. Selain itu, enzim DPP-4 memiliki peran penting dalam sistem metabolisme tubuh, yaitu menurunkan aktivitas hormon inkretin. Hormon inkretin adalah sebuah hormon yang bekerja untuk meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan sekresi glukagon. Hormon ini terdiri dari glucagon-like peptide-1 (GLP-1) dan *glucose-dependent insulinotropic polipeptide* (GIP) (Perkeni, 2019). Enzim DPP4 memiliki sisi aktif yang terdiri dari beberapa residu asam amino, yaitu Glu205, Glu206, Asn710, Tyr662, Arg125, Ser630, Phe357, Tyr666, Tyr547, dan Ser209. Sisi aktif ini berperan penting sebagai tempat pengikatan (*pocket*) suatu senyawa inhibitor (Sinurat dkk., 2021, Namoto *et al.*, 2014). Gambar 2, dibawah ini merupakan struktur 3D enzim DPP-4 yang diambil dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan ID:4n8e.



Gambar 2. Enzim *dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4)

2.4. Genistein

Genistein merupakan senyawa kimia dengan beberapa gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik, seperti yang terlihat pada Gambar 3. Kerangka strukturnya mirip dengan struktur flavonoid. Namun, bila diperhatikan pada senyawa genistein cincin aromatik B (cincin paling kanan) terikat langsung melalui atom karbon nomor 3 dari cincin C (cincin di tengah). Berdasarkan hal tersebut senyawa genistein bukan termasuk senyawa flavonoid melainkan senyawa isoflavonoid.

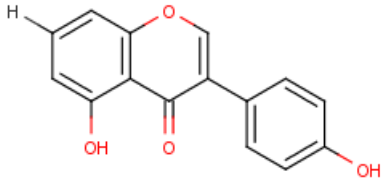
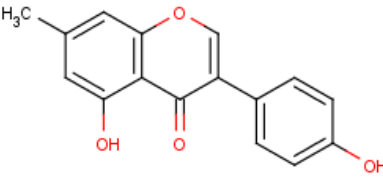
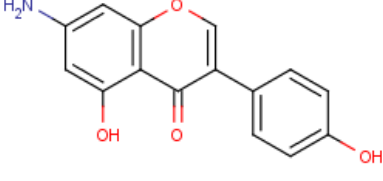
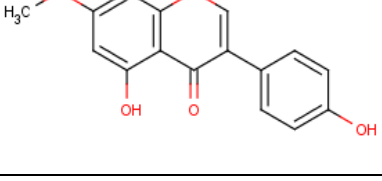


Gambar 3. Genistein

Genistein memiliki nama IUPAC, yaitu *5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl) chromen-4-one*. Senyawa ini terdiri dari 15 atom karbon 10 atom hidrogen dan 5 atom oksigen yang dapat dituliskan formula kimianya menjadi $C_{15}H_{10}O_5$. Dengan berat molekul 270,24 g/mol, genistein memiliki 3 gugus fenol, 1 gugus karbonil dan 1 gugus eter yang terikat pada cincin-cincin karbon (*National Center for Biotechnology Information, 2022*).

Genistein banyak ditemukan dalam kedelai dan produk kacang-kacangan. Genistein telah terbukti menunjukkan efek yang menguntungkan pada keadaan hiperglikemik karena potensinya merangsang sekresi insulin dengan cara menghambat enzim DPP-4 (Rehman dkk., 2019, Diantari, 2022). Berdasarkan strukturnya, genistein memiliki gugus hidroksil yang dapat digantikan oleh gugus lain, misalnya gugus amina sehingga membentuk senyawa lain yang merupakan turunan dari senyawa genistein. Perubahan satu gugus fungsi suatu senyawa tentu mempengaruhi aktivitas senyawa tersebut sehingga turunan senyawa genistein ini diperkirakan akan memiliki interaksi yang berbeda dari senyawa genistein terhadap enzim DPP-4. Pada penelitian ini, dari ketiga gugus hidroksil yang ada pada struktur genistein, yaitu gugus hidroksil posisi C ke-5, C-ke-7 dan C ke-4, dipilih gugus hidroksil posisi C ke-7 yang akan digantikan oleh gugus lain. Dengan demikian, dibuatlah struktur senyawa turunan genistein dengan variasi beberapa gugus, yaitu gugus hidrogen (-H), metil (-CH₃), amina (-NH₂) dan metoksi (-OCH₃) yang dapat dilihat pada Tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Senyawa turunan genistein

Struktur Senyawa	Nama Senyawa
	<i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one</i>
	<i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methyl-4H-chromen-4-one</i>
	<i>7-amino-5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one</i>
	<i>5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one</i>

2.5. Aturan Lipinski

Senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat sebelumnya haruslah memenuhi aturan Lipinski. Pengukuran kelayakan melalui aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia senyawa dalam menentukan karakter hidrofobik/hidrofilik untuk dapat melalui membran sel oleh difusi pasif (Weni dkk., 2020). Aturan Lipinski terdiri atas lima aturan (*Rule of five*) yang harus dipenuhi oleh senyawa yang dapat dijadikan obat oral, yaitu massa molekul kurang dari ≤ 500 Da, akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , donor ikatan hidrogen ≤ 5 , $\log P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar berkisar 40-130 (Lipinski, 2004).

Suatu obat untuk dapat bekerja baik di dalam tubuh, harus dapat melewati membran lipid bilayer, yang mana hal tersebut dipengaruhi oleh massa molekul, dimana senyawa dengan massa diatas 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membran sel. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen, dimana hal ini menggambarkan semakin tingginya kapasitas ikatan hidrogen maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Nilai Log P, dimana hal ini menggambarkan sifat hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa, semakin besar nilai Log P maka semakin hidrofobik senyawa tersebut dan senyawa dengan sifat yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi sebab senyawa tersebut akan tertahan lebih lama pada membran lipid bilayer dan juga terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas terhadap enzim target menjadi berkurang. Semakin rendah nilai Log P maka semakin bersifat hidrofilik senyawa tersebut, hal ini juga tidak baik karena senyawa dengan nilai Log P terlalu negatif tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Weni dkk., 2020, Sinurat dkk., 2021).

2.6. Prediksi Absorpsi, Distribusi dan Toksisitas

Senyawa kandidat obat harus memiliki profil absorpsi dan distribusi yang baik dan tidak bersifat toksik bagi tubuh. Parameter absorpsi terdiri dari nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan permeabilitas terhadap sel Caco-2 (*Cancer coli*), untuk parameter distribusi dapat dilihat dari *Protein Plasma Binding* (PPB) dan untuk parameter toksisitas terdiri dari sifat karsinogenik dan mutagenik (Rahmawaty dkk., 2022).

Adapun kriteria yang dapat digunakan untuk membantu dalam memprediksi profil absorpsi dan distribusi senyawa kandidat obat, yaitu sebagai berikut. Kriteria absorpsi HIA, yaitu apabila nilai HIA senyawa 0-20% menunjukkan senyawa akan diserap dengan buruk, nilai HIA 20-70% menunjukkan senyawa akan diserap dengan cukup baik dan apabila nilai HIA 70-100 % menunjukkan senyawa akan diserap dengan baik. Kriteria absorpsi permeabilitas terhadap sel Caco-2, yaitu apabila kemampuan permeabilitas senyawa < 4 nm/detik

menunjukkan kemampuan permeabilitas yang rendah, kemampuan permeabilitas senyawa 4 -70 nm/detik menunjukkan kemampuan permeabilitas yang sedang dan kemampuan permeabilitas senyawa > 70 nm/detik menunjukkan kemampuan permeabilitas yang tinggi. Kriteria distribusi PPB, yaitu apabila nilai PPB lebih dari 90% menunjukkan ikatan protein yang kuat dan apabila nilai PPB kurang dari 90% menunjukkan ikatan protein yang lemah (Benet *et al.*, 2016, Pratama dkk., 2020).

2.7. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Penelitian menggunakan komputer atau secara kompuasi saat ini telah menjadi salah satu pilihan bagi para peneliti untuk melakukan penelitiannya. Penelitian secara komputasi atau *In Silico* memiliki beberapa keunggulan diantaranya seperti mengurangi biaya dan menghemat waktu penelitian, serta dengan menggunakan salah satu metode kompuasi yang disebut *Molecular Docking*, interaksi ikatan antara obat dengan target obat (reseptornya) juga dapat diamati (Agistia dkk., 2013). *Molecular Docking* atau penambatan molekul adalah sebuah metode penelitian secara komputasi dengan cara menambatkan suatu senyawa kandidat obat kepada target obat sehingga akan terjadi sebuah interaksi berupa ikatan-ikatan kimia yang dapat digambarkan dan akan memberikan informasi aktivitas senyawa obat berupa potensi atau tidaknya senyawa tersebut yang dapat dilihat dari nilai skor docking setelah penambatan molekul dilakukan (Arba, 2019).

Suatu senyawa atau kandidat obat dalam penambatan molekul lebih dikenal sebagai ligan, sedangkan target obatnya dikenal sebagai protein. Pada umumnya ligan dalam penambatan molekul digambarkan sebagai entitas yang fleksibel atau bebas bergerak, sedangkan proteinnnya digambarkan sebagai entitas yang tidak fleksibel (*rigid*/bersifat kaku). Hal penting lainnya yang perlu diketahui adalah bahwa dalam metode ini penambatan molekul biasanya dilakukan secara *in vacuo*, yaitu dilakukan dalam kondisi tanpa air. Berdasarkan kondisi fisiologis tubuh, sebenarnya hal ini tidak sesuai, tetapi jika melibatkan molekul air beban perhitungan yang dilakukan ketika metode berjalan akan sangat besar dan

memakan waktu yang lebih lama. Penambatan molekul biasanya dilakukan untuk skrining senyawa dalam jumlah besar dan apabila melibatkan molekul air akan membuatnya menjadi tidak praktis digunakan (Arba, 2019).

Pada penambatan molekul terdapat beberapa faktor penting yang perlu dilakukan sebelum menjalankan simulasi, yaitu:

2.7.1. Pemilihan dan Preparasi Protein

Pencarian protein target dapat dilakukan melalui situs *Protein Data Bank* (PDB). Terdapat sekitar 140.000 lebih struktur tiga dimensi protein yang dihasilkan melalui penelitian menggunakan metode penentuan struktur kristalografi sinar-X, spektroskopi NMR dan metode lainnya. Pencarian struktur protein target yang diinginkan dapat dilakukan berdasarkan pada resolusi sinar-X yang tertera. Pemilihan yang disarankan adalah struktur protein dengan resolusi kurang dari 2Å. Struktur protein yang telah dipilih, kemudian harus dilakukan preparasi. Preparasi struktur protein dilakukan dengan cara menghilangkan molekul air dan menambahkan atom hidrogen. Atom hidrogen ditambahkan karena berdasarkan hasil eksperimen sinar-X struktur protein biasanya tidak mengandung atom hidrogen. Preparasi struktur protein diakhiri dengan memisahkan ligan asli (*native ligand*) dari protein tersebut karena pada struktur protein hasil eksperimen biasanya terdapat satu atau lebih suatu ligan aslinya.

2.7.2. Pemilihan dan Preparasi Ligan

Preparasi ligan asli (*native ligand*) pada penambatan molekul dilakukan dengan cara memisahkan struktur ligan asli dari protein dan menambahkan atom hidrogen pada strukturnya. Struktur dari ligan asli ini diperlukan untuk prosedur validasi metode penambatan molekul yang digunakan dan apabila metode penambatan molekul yang digunakan valid. Selanjutnya, dapat dilakukan preparasi ligan sampel atau senyawa kandidat obat.

Pencarian senyawa kandidat obat dari bahan alam disarankan merupakan senyawa yang mudah ditemukan dan pemilihan dari berbagai senyawa tersebut dapat dilakukan dengan mengikuti aturan Lipinski. Struktur dari ligan dapat diperoleh melalui situs yang menyediakan ligan-ligan tersebut atau dengan cara menggambar struktur ligan secara manual menggunakan *software* yang mendukung. Preparasi terhadap ligan ini dilakukan dengan langkah yang sama seperti preparasi ligan asli.

2.7.3. Validasi Metode Penambatan Molekul

Penambatan molekul antara ligan dengan protein tidak dapat langsung dijalankan setelah preparasi keduanya dilakukan. Metode penambatan molekul harus terlebih dahulu dilakukan validasi dengan cara *redocking*, yaitu menambatkan kembali ligan asli protein kepada proteinnya. Hal ini bertujuan untuk melihat apakah dengan metode yang digunakan ligan asli tersebut dapat terikat dan menempati posisi yang sama dengan keadaan struktur protein aslinya ketika struktur protein diunduh. Dalam hal ini, parameter yang digunakan untuk menilai hal tersebut adalah RMSD (*root mean square deviation*), dimana metode penambatan dapat dikatakan valid apabila nilai RMSD antara komformasi ligan asli dengan komformasi ligan hasil *redocking* memiliki nilai maksimal 2 Å. Semakin kecil nilai RMSD maka protokol penambatan molekul yang dilakukan semakin baik.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Agustus 2022- Februari 2023. Pemodelan senyawa dilakukan dengan menggunakan pendekatan komputasi *Molecular Docking* di Laboratorium Kimia Anorganik/Fisik Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laptop Lenovo dengan spesifikasi sistem operasi *windows 10 Pro 64-bit, Processor Intel(R) Core(TM) i3-7020U CPU @ 2.30GHz, RAM 4GB, software PLANTS, MarvinSketch 5.2.5.1, YASARA 12.2.22, mingwm.dll, cmd, LigPlus dan PyMol.*

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3 dimensi enzim DPP-4 yang diunduh dari *website Protein Data Bank* dengan ID: 4n8e dan struktur 3 dimensi senyawa turunan genistein yang dikonstruksi menggunakan *MarvinSketch 5.2.5.1.*

3.3. Prosedur Kerja

Adapun prosedur kerja pada penelitian ini mengikuti prosedur kerja yang dilakukan oleh Tegar dan Purnomo. Mulai dari langkah kerja validasi metode hingga langkah kerja *molecular docking* (Tegar dan Purnomo, 2013).

3.3.1. Validasi Metode

1. Preparasi Enzim DPP-4 (Protein)

Pemodelan struktur protein dilakukan dengan menggunakan *softeare YASARA*.

Buka file enzim DPP-4 dengan ID: 4n8e (*File>Load>PDB file>4n8e.pdb*).

Setelah struktur protein terlihat pada jendela *YASARA*, dilakukan seleksi terhadap beberapa bagian dari protein, karena pada protokol *molecular docking* beberapa bagian tidak diperlukan. Struktur protein 4n8e.pdb terdiri dari 2 rantai yaitu rantai A dan rantai B dengan susunan residu asam amino yang sama, maka untuk melanjutkan pada tahap *molecular docking* dapat dipilih satu rantai saja dan hapus rantai lainnya, dalam hal ini dipilih rantai B

(*Edit>Delete>Molecule>Sequence*; klik semua *sequence A>Name;A>Belongs to or has;All>OK*). Selanjutnya, hapus molekul air yang ada (*Edit>Delete>Waters*).

Pada protein 4n8e.pdb juga terdapat ion sulfat (ID: So4) dan karbohidrat 2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose (ID: Nag), hapus keduanya

(*Edit>Delete>Residue>Sequence*; klik semua *sequence Nag dan So4>Name;Nag dan So4>Belongs to or has;All>OK*). Setelah selesai, hanya akan tersisa struktur

protein dan ligan bawaan atau ligan asli (*native ligand*) dengan ID: 2kv, pada kedua struktur tersebut, tambahkan hidrogen (*Edit>Add>Hydrogens to:All*) dan simpan sebagai *YASARA Object* dengan nama file "4n8e.yob" (*File>Save as>YASARA Object*).

Untuk tahap preparasi Enzim DPP-4 hanya dibutuhkan struktur protein maka struktur ligan asli (*native ligand*) dapat dihapus

(*Edit>Delete>Residue>Sequence;2kv >Name;2kv>Belongs to or has;All>OK*).

Simpan struktur protein dengan format ".mol2" dan beri nama file sebagai

"protein.mol2" (*Load>Save as>Other file format>Format;mol2-Sybyl Mol2*).

2. Preparasi Inhibitor Enzim DPP-4 (Native Ligand)

Preparasi struktur *Native Ligand* diawali dengan membuka file *YASARA Object* pada *softeare YASARA* (*File>Load>YASARA Object>4n8e.yob*). File ini terdiri

dari struktur protein dan *Native Ligand*, untuk mendapatkan struktur *Native Ligand*, maka struktur protein dapat dihapus (*Edit>Delete>Residue>Sequence;2kv>Name;2kv>Belongs to or has;All>* beri centang pada *Negate attribute>OK*). Simpan dengan format “.mol2” dan beri nama file sebagai “ref_ligand.mol2” (*Load>Save as>Other file format>Format;mol2-Sybyl Mol2*). Selanjutnya, buka *software MarvinSketch* dan buka file “ref_ligand.mol2” (*Open> ref_ligand.mol2*), lakukan optimasi pada struktur *Native Ligand* agar sesuai dengan suasana pH tubuh (*Structure>Clean 2D>Clean in 2D*) lalu (*Tools>Protonation>Major Microspecies>at pH;7.4>OK*), simpan struktur dengan format “.mrv” dan beri nama file sebagai “ligand_2D.mrv” (*Save as>Files of Type;.mrv*). Bersihkan jendela kerja *Marvinsketch* dan buka file *ligand_2D.mrv*, lakukan optimasi konformasi pada struktur dan jadikan 10 konformasi (*Tool>Conformatios>Conformers>Maximum number of conformers;10>OK*), simpan struktur dengan format “.mol2” dan beri nama file sebagai “.ligand.mol2” (*File>Save as>Files of Type;.mol2*).

3. Re-docking Native Ligand dengan Enzim DPP-4

Protokol *molecular docking* pada tahap validasi metode atau dapat disebut juga sebagai *Re-docking* dilakukan dengan menggunakan *software PLANTS* dan bantuan *cmd (command prompt)* untuk menuliskan *script* perintah. Tahap awal dari protokol *molecular docking* adalah mencari koordinat titik sisi aktif/sisi pengikatan dari protein, sisi dimana *native ligand* akan berinteraksi terhadap protein nantinya. Buka *software cmd* dan ketikkan perintah “*plants --mode bind ref_ligand.mol2 5 protein.mol2*” lalu tekan *enter*. Data koordinat yang muncul dengan menggunakan *software PLANTS* berupa *bindingsite_center* dan *bindingsite_radius*, salin koordinat tersebut dan letakkan pada *script* perintah *docking* lalu simpan dan beri nama sebagai “*pc_4n8e.txt*”. Dengan data koordinat yang sudah ada, jalankan (*running*) proses *molecular docking*, kembali ke *software cmd* dan ketikkan perintah “*plants --mode screen pc_4n8e.txt*” lalu tekan *enter*. Setelah proses selesai, untuk menyimpan data skor *docking* dari 10

konformasi *Native Ligand*, ketikkan “cd results” lalu *enter* dan ketikkan “*more bestranking.csv*”. Pilih satu struktur konformasi *native ligand* paling stabil yang memiliki skor *docking* terendah dan simpan file tersebut.

4. Menghitung Nilai RMSD

Parameter nilai RMSD (*root mean square deviation*) dilakukan dengan membandingkan struktur *native ligand* sebelum dan setelah dilakukannya protokol *molecular docking*. Nilai RMSD dihitung dengan menggunakan *software YASARA*. Buka struktur *native ligand* sebelum *docking* (*File>Load>Other file format>ref_ligand.mol2*), buka juga struktur *native ligand* setelah *docking* (*ligand re-docking*) (*File>Load>Other file format>”entry_x”.mol2*). Hapus keberadaan hidrogen dari kedua struktur (*Edit>Delete>Hydrogens*) lalu lakukan perhitungan nilai RMSD (*Analyze>RMSD of>Objects>Sequence;ref_ligand>Name;ref_ligand>Belong to or has;All>OK>Sequence;”entry_x”>Name;”entry_x”>Belong to or has;All>OK>Return RMSDs per;Object>OK*).

5. Visualisasi

Visualisasi 2D interaksi hasil *re-docking* dapat dilihat dengan terlebih dahulu menyatukan struktur protein dan *ligand re-docking* menggunakan *software PyMOL*. Buka file protein, ketikkan “*load protein.mol2*” lalu buka file *native ligand* sesudah protokol *molecular docking* (*ligand re-docking*) yang paling stabil, ketikkan “*load ‘entry_x’.mol2*”. Satukan kedua struktur dan simpan dengan format “.pdb” dengan cara ketikkan “*save 4n8e_complex.pdb, protein +”entry_x”* lalu tekan *enter*.

Analisis dari interaksi yang antara *ligand re-docking* terhadap protein dilakukan dengan menggunakan *software Ligplus*. Buka file *ligand re-docking* (*File>Open>PDB file>Browse>4n8e_complex.pdb*), akan terlihat interaksi yang

terjadi dan untuk membandingkannya dengan interaksi *native ligand* sebelum *docking*, buka file *native ligand* (*File>Open>PDB file>Add>Browse>4n8e.pdb*).

3.3.2. *Molecular Docking*

Protokol *molecular docking* untuk senyawa sampel dan senyawa pembanding, menggunakan struktur protein yang sama dengan struktur protein pada tahap validasi metode. Oleh karena itu, pada tahap ini dapat dilanjutkan langsung ke langkah preparasi ligan.

1. Preparasi Ligan Sampel dan Ligan Pembanding

Preparasi struktur ligan sampel (senyawa turunan genistein) diawali dengan membuka *software MarvinSketch* lalu gambarkan struktur dari ligan. Selanjutnya, lakukan optimasi pada struktur agar sesuai dengan suasana pH tubuh (*Structure>Clean 2D>Clean in 2D*) dan (*Tools>Protonation>Major Microspecies>at pH;7.4>OK*). Simpan struktur dengan format “.*mrv*” dan beri nama file sebagai “*ligand_2D.mrv*” (*Save as>Files of Type;.mrv*). Bersihkan jendela kerja *MarvinSketch* dan buka file *ligand_2D.mrv*, lakukan optimasi konformasi pada struktur dan jadikan 10 konformasi (*Tool>Conformatios>Conformers>Maximum number of conformers;10>OK*), simpan struktur dengan format “.*mol2*” dan beri nama file sebagai “*ligand.mol2*” (*File>Save as>Files of Type;.mol2*).

2. *Molecular Docking* Ligan Sampel dan Ligan pembanding dengan Enzim DPP-4

Protokol *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan *software PLANTS* dan bantuan *cmd* (*command prompt*) untuk menuliskan *script* perintah. Karena struktur protein yang digunakan sama dengan struktur protein pada tahap validasi

metode maka sisi aktif/sisi pengikatan juga menggunakan koordinat titik yang sama sehingga langkah selanjutnya yang dilakukan adalah *running* proses *molecular docking*. Jalankan (*running*) proses *molecular docking*, dengan cara membuka *software cmd* dan ketikkan perintah “*plants --mode screen pc_4n8e.txt*” lalu tekan *enter*, setelah proses selesai, simpan data skor *docking* dari 10 konformasi ligan sampel, ketikkan “*cd results*” lalu *enter* dan ketikkan “*more bestranking.csv*”. Pilih satu struktur konformasi ligan paling stabil yang memiliki skor *docking* terendah dan simpan file tersebut.

3. Visualisasi 2D dan 3D

Visualisasi 2D dan 3D interaksi hasil *molecular docking* dapat dilihat dengan terlebih dahulu menyatukan struktur protein dan genistein menggunakan *software PyMOL*. Buka file protein, ketikkan “*load protein.mol2*” lalu buka file ligan yang paling stabil, ketikkan *load* “*ligan_entry_x*”.*mol2*. Kemudian satukan kedua struktur dan simpan dengan format “.*pdb*” dengan cara ketikkan “*save 4n8e_ligan.pdb, protein + “ligan_entry_x”*” lalu tekan *enter*.

Analisis dari interaksi yang antara genistein terhadap protein berdasarkan visualisasi 2D dapat dilakukan dengan menggunakan *software Ligplus*. Buka file ligan (*File>Open>PDB file>Browse>4n8e_ligan.pdb*), akan terlihat interaksi yang terjadi. Untuk visualisasi 3D dapat dilakukan dengan menggunakan *software PyMOL*, hubungkan *software PyMOL* dengan *software LigPlus* lalu klik ikon *PyMOL* pada jendela *LigPlus* sehingga jendela *software PyMOL* akan terbuka dan visualisasi 3D dari interaksi ligan dengan protein akan terlihat.

3.3.3. Analisis Farmakokinetik

Prediksi toksisitas ligan sebagai kandidat obat dilakukan secara online dengan menggunakan situs yang mendukung analisis ligan. Situs pengujian aturan

Lipinski menggunakan situs <http://www.swissadme.ch/>. Analisis ligan pada situs ini dilakukan dengan cara menggambar struktur ligan secara manual pada kotak yang telah disediakan lalu klik “Run!”. Setelah itu, data yang diperlukan akan muncul.

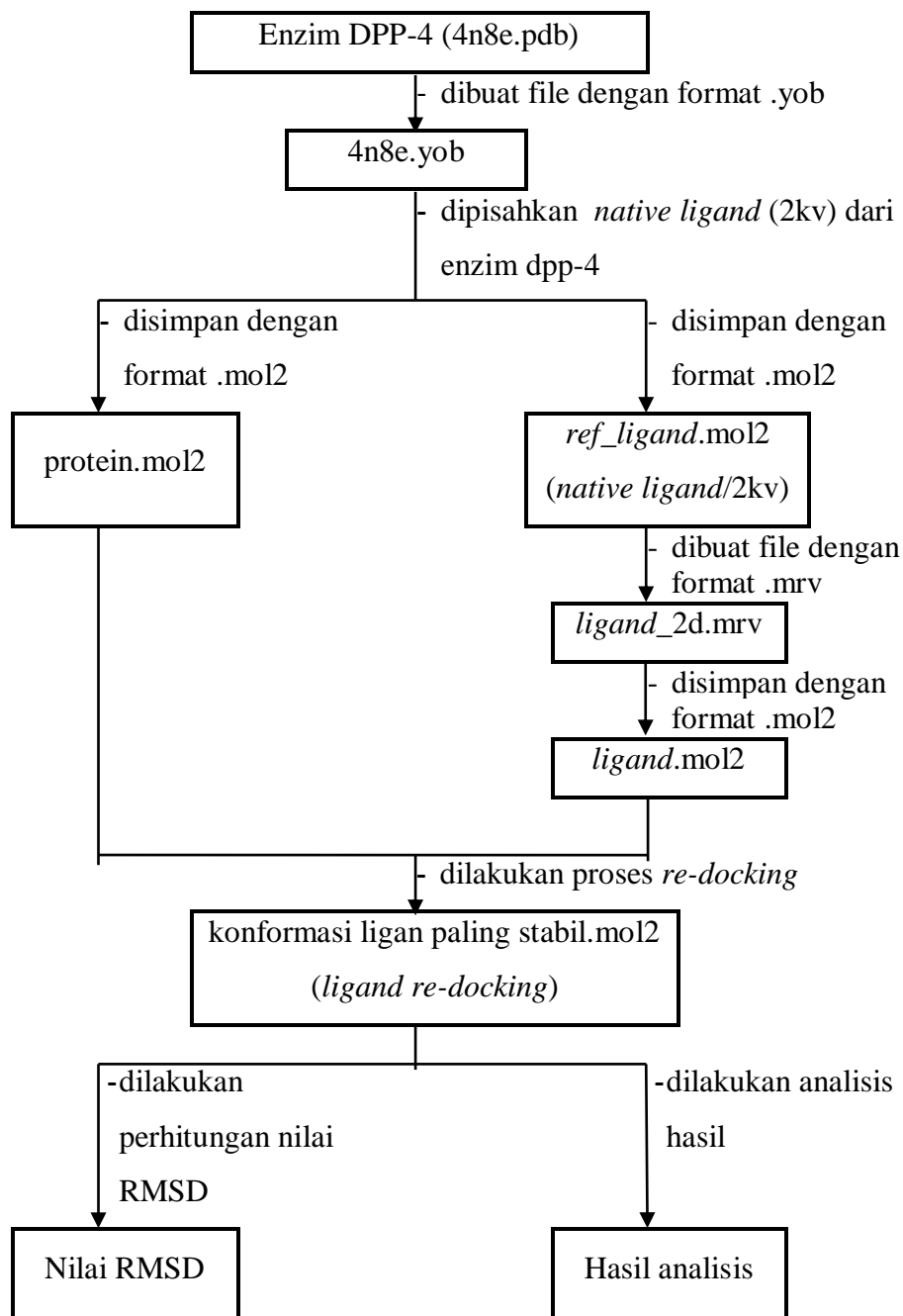
Prediksi absorpsi dan distribusi ligan sampel dilakukan melalui situs pengujian [preadme https://preadmet.webservice.bmdrc.org/](https://preadmet.webservice.bmdrc.org/). Analisis ligan pada situs ini dilakukan dengan cara menggambar struktur ligan secara manual pada kotak yang telah disediakan lalu klik “submit”. Setelah itu, data yang diperlukan akan muncul.

Prediksi toksisitas ligan sampel dilakukan melalui situs pengujian [protox https://tox-new.charite.de/protox_II/](https://tox-new.charite.de/protox_II/). Analisis ligan pada situs ini dilakukan dengan cara klik centang pada kotak karsinogenik, imunotoksitas, mutagenitas dan sitotoksitas menggambar struktur ligan secara manual pada kotak yang telah disediakan lalu klik “Start Tox-Prediction”. Setelah itu, data yang diperlukan akan muncul.

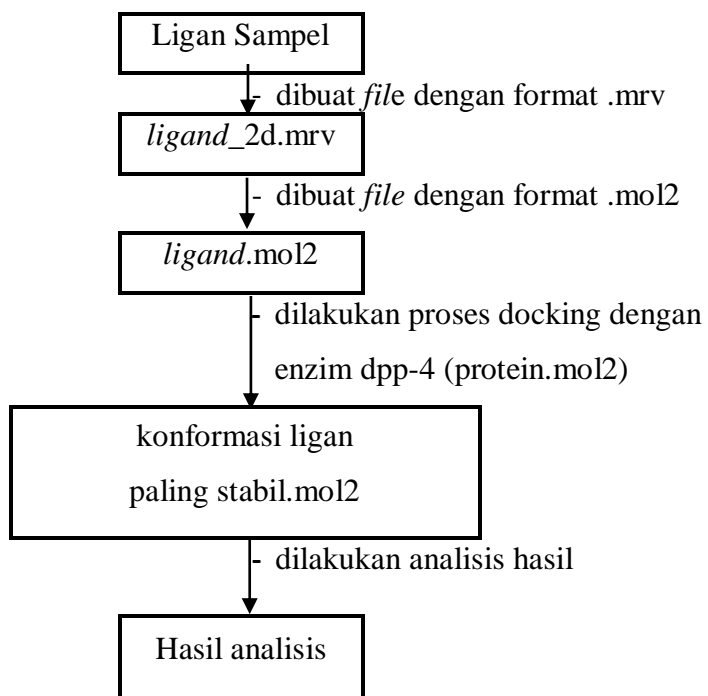
3.4. Diagram Alir

Adapun diagram alir ringkasan prosedur kerja validasi metode dan *molecular docking* sebagai berikut.

3.4.1. Diagram Alir Validasi Metode



3.4.2. Diagram Alir *Molecular Docking*



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil simpulan sebagai berikut.

1. Ligan D berinteraksi pada sisi aktif protein dengan membentuk 1 ikatan hidrogen terhadap asam amino Glu206 dan mampu membentuk ikatan hidrofobik lebih banyak dari ligan sampel lain. Ligan E berinteraksi pada sisi aktif protein dengan membentuk ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik yang sama dengan ligan genistein. Ligan F berinteraksi pada sisi aktif protein dengan membentuk 2 ikatan hidrogen terhadap asam amino Glu206 dan Tyr662, serta mampu membentuk ikatan hidrofobik sedikit lebih banyak dari ligan C dan E.
2. Ligan sampel B, C, D dan F menempati posisi sisi aktif protein dengan baik dan mampu berinteraksi dengan residu asam amino Glu205, Glu206 dan Tyr662 membentuk ikatan hidrogen, serta residu asam amino sisi aktif lainnya untuk membentuk ikatan hidrofobik.
3. Senyawa turunan genistein yang memiliki potensi terbaik sebagai antidiabetes adalah ligan F (*5-hydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-One*) yang merupakan hasil modifikasi gugus hidroksil posisi ke-7 dari struktur genistein menjadi gugus metoksi (-OCH₃) dengan skor *docking* sebesar - 78.5436.

4. Ligan F menunjukkan potensi farmakokinetik terbaik dibandingkan ligan sampel lainnya, dimana ligan F diprediksi dapat terabsorpsi dan terdistribusi dengan cukup baik, serta tidak bersifat toksik.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, diharapkan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan uji *molecular docking* terhadap turunan genistein lainnya dengan penggantian gugus hidroksil posisi C ke-4' dan C ke ke-5 untuk melihat potensinya sebagai antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Agistia, D. D., Purnomo, H., Tegar, M., and Nugroho, A. E. 2013. Interaction between active compounds from *aegle marmelos correa* as anti inflammation agent with COX-1 and COX-2 receptor. *Traditional Medicine Journal* 18(2): 80-87.
- Arba, M. 2019. *Buku Ajar Farmasi Komputasi*. Deepublish. Yogyakarta. 219 hlm.
- Benet, L. Z., Hosey, C. M., Ursu, O., and Oprea, T. I. 2016. BDDCS, The Rule Of 5 And Drugability. *Advanced Drug Delivery Reviews* 101: 89-98.
- Bissantz, C., Kuhn, B., and Stahl, M. 2010. A Medicinal Chemist's Guide To Molecular Interactions. *Journal of Medicinal Chemistry* 53(14): 5061-5084.
- Diantari, N. G. A. 2022. *Studi Komputasi Aktivitas Genistein Sebagai Inhibitor Dipeptidil Peptidase Iv. (Skripsi)*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta. 79 p.
- Fakih, T. M. dan Dewi, M. L. 2020. Identifikasi Peptida Bioaktif dari Protein Kedelai sebagai Inhibitor Enzim α -glukosidase untuk Kandidat Antidiabetes. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 17(2): 101-109.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Majority* 4(5): 93-101.
- International Diabetes Federation. 2021. **IDF Diabetes Atlas 10th edition**. International Diabetes Federation. <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. Diakses pada 14 Agustus 2022.
- Itoh, Y., Nakashima, Y., Tsukamoto, S., Kurohara, T., Suzuki, M., Sakae, Y., Oda, M., Okamoto, Y. and Suzuki, T. 2019. N+-CH... O Hydrogen bonds in protein-ligand complexes. *Scientific Reports* 9(1): 767.

- Kalhotra, P., Chittepu, V. C., Osorio-Revilla, G. and Gallardo-Velazquez, T. 2020. Phytochemicals In Garlic Extract Inhibit Therapeutic Enzyme DPP-4 And Induce Skeletal Muscle Cell Proliferation: A Possible Mechanism Of Action To Benefit The Treatment Of Diabetes Mellitus. *Biomolecules* 10(2): 305.
- Lipinski, C. A. 2004. Lead-And Drug-Like Compounds: The Rule-Of-Five Revolution. *Drug discovery today: Technologies* 1(4): 337-341.
- Made, P. dan Pathni, S. D. 2018. Tren Terapi Diabetes Dengan Glp-1 Receptor Agonist. *Cermin Dunia Kedokteran* 45(4): 291–296.
- Muttaqin, F. Z., Pratama, M. F and Kurniawan, F. 2019. Molecular Docking And Molecular Dynamic Studies Of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor On Melanoma Skin Cancer And Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium* 2(2): 112-121.
- Namoto, K., Sirockin, F., Ostermann, N., Gessier, F., Flohr, S., Sedrani, R. and Baeschlin, D. K. 2014. Discovery Of C-(1-Aryl-Cyclohexyl)-Methylamines As Selective, Orally Available Inhibitors Of Dipeptidyl Peptidase IV. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 24(3): 731–736.
- Nuraini, H. Y. dan Supriatna, R. 2016. Hubungan Pola Makan, Aktivitas Fisik Dan Riwayat Penyakit Keluarga Terhadap Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat* 5(1): 5-14.
- Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A. and Varma, A. K. 2010. Optimized Hydrophobic Interactions And Hydrogen Bonding At The Target-Ligand Interface Leads The Pathways Of Drug-Designing. *PloS one* 5(8): e12029.
- Penaforte-Saboia, J. G., Couri, C. E. B., Albuquerque, N. V., Silva, V. L. L., Cunha Olegario, N. B., Fernandes, V. O., and Jand Junior, R. M. M. 2021. Emerging Roles Of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors In Delaying The Progression Of Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 14: 565.
- Perkeni, P. 2019. *Pedoman Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia Edisi Pertama*. PB Perkeni. Jakarta. 119 hlm.

- Pratama, K. F., Fauzi, M. dan Hasanah, A. N. 2020. Activity Screening And Structure Modification Of Trigonelline As New Anticancer Drug For Non Small Cell Lung Cancer Through In Silico. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 7(3): 90-99.
- Pulungan, A. B., Annisa, D., dan Imada, S. 2019. Diabetes Melitus Tipe-1 pada Anak: Situasi di Indonesia dan Tata Laksana. *Sari Pediatri* 20(6): 392-400.
- Rachmania, R. A. 2019. Validasi Protokol Skrining Virtual Dan Analisis Interaksi Inhibitor Antiproliferasi Sel Kanker Berbasis Bahan Alam Terhadap Reseptor Cyclin-Dependent Kinase 4 (CDK 4). *Media Farmasi* 16(1): 21-40.
- Rahmawaty, A., Cahyani, F. R., Safitri, N., Sitepu, A. A. N. C., Hapitria, E. N. dan Megantara, S. 2022. Uji In Silico Kandungan Senyawa Tanaman Anggur (*Vitis vinifera L.*) untuk Kandidat Obat Anti Hiperlipidemia. *Majalah Farmasi dan Farmakologi* 26(2): 57-62.
- Rehman, K., Ali, M. B. and Akash, M. S. H. 2019. Genistein Enhances The Secretion Of Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Via Downregulation Of Inflammatory Responses. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 112: 108-670.
- Sinurat, M. R., Rahmayanti, Y., dan Rizarullah, R. 2021. Uji Aktivitas Antidiabetes Senyawa Baru Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Inhibitor Enzim DPP-4: Studi in Silico. *Jurnal IPA & Pembelajaran IPA* 5(2): 138-150.
- Tegar, M. and Purnomo, H. 2013. Tea Leaves Extracted As Anti-Malaria Based On Molecular Docking PLANTS. *Procedia Environmental Sciences* 17: 188-194.
- Weni, M., Safithri, M. dan Seno, D. S. H. 2020. Molecular Docking of Active Compounds Piper crocatum on the A-Glucosidase Enzyme as Antidiabetic. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 7(2): 64-72.
- Yousefi, H., Karimi, P., Alihemmati, A., Alipour, M. R., Habibi, P. And Ahmadiasl, N. 2017. Therapeutic Potential Of Genistein In Ovariectomy-Induced Pancreatic Injury In Diabetic Rats: The Regulation Of MAPK Pathway And Apoptosis. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 20(9): 1009.