

Validasi Penambatan Molekuler (*Docking*) (*Zingiber Officinale*) dan (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Ligan Aktif Reseptor Ppar γ

Okta Nursanti^{1*}, Isna Wardani², Ginayanti Hadisoebroto³

¹Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan, Kampus Universitas Pertahanan, Sentul, Bogor 16810, Jawa Barat, Indonesia

^{2,3} Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi Universitas Al- Ghifari

*E_mail: okta.nursanti@idu.ac.id, okta.nursanti@yahoo.com

Abstrak

Jahe dan sereh merupakan tanaman yang berkhasiat salah satunya yaitu sebagai anti diabetes tipe 2, senyawa jahe dan sereh yang berkhasiat sebagai antidiabetes antara lain cineol, farnesol, geraniol, linalool, limonen, pinen, terpineol dan zingeron. Tujuan dari penelitian ini adalah identifikasi senyawa metabolit sekunder yang mempunyai aktivitas anti diabetes yang aman serta melihat interaksi asam amino yang terbentuk antara molekul senyawa dari tanaman jahe dan sereh dengan sisi aktif protein PPAR γ hasil penambatan molekul. Penelitian ini dilakukan dengan metode insilico. Untuk pencarian ligan uji menggunakan ChEBI, pencarian struktur reseptor menggunakan Protein Data Bank, penambatan molekul menggunakan Arguslab dan visualisasi menggunakan Discovery Studio. Dari hasil penelitian uji toksisitas, farmakokinetik ke delapan senyawa yang ada pada jahe dan sereh mempunyai aktivitas antidiabetes yang aman. Dari hasil molekular docking senyawa yang mempunyai skor binding energi lebih rendah dari ligan pembanding adalah cineol, farnesol, geraniol, linalool, limonen, pinen, terpineol maka dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut dapat bersaing untuk berikatan dengan reseptor PPAR γ .

Kata kunci : Jahe; Sereh; Arguslab; Discovery studio; Antidiabetes

Abstract

Ginger and lemongrass are nutritious plants, one of which is as an anti-diabetic type 2, ginger and lemongrass compounds that have antidiabetic activity such as cineol, farnesol, geraniol, linalool, limonene, pinen, terpineol and zingeron. The purpose of this study was an initial screening for secondary metabolite compounds that have safe antidiabetic activity and to see the interaction of amino acids formed between molecular compounds from ginger and lemongrass plants with the active side of the PPAR γ protein produced by molecular tethering. This research was conducted by insilico method using Protein Data Banks, ChEBI for ligands test, Prottox Web server for compound prediction, and pkCSM for pharmacokinetics prediction. The software used is Arguslab and Discovery. The results of the toxicity test, the pharmacokinetics of the eight compounds present in ginger and lemongrass have safe antidiabetic activity. The results of molecular docking compounds show that cineol, farnesol, geraniol, linalool, limonene, pinen, terpineol have lower energy binding scores than the comparative ligands. It can be concluded that these compounds can compete for binding to the PPAR γ receptors.

Keywords : Ginger; Lemongrass; Prottox web server; pkCSM; Arguslab; Discovery studio; Anti-diabetic

PENDAHULUAN

Diabetes adalah penyakit metabolik kronis terkait dengan faktor genetik dan lingkungan. Penyakit ini menempati urutan ke-4 penyakit mematikan di dunia. Berdasarkan data WHO, jumlah penderita diabetes di Indonesia adalah sebesar 8.426.000 dan diperkirakan menjadi 21.257.000 penderita pada tahun 2030. Penyakit ini diklasifikasikan menjadi dua jenis yang dikenal sebagai jenis diabetes tipe I (tergantung insulin, IDDM) dan tipe II (tidak tergantung insulin, NIDDM). Diabetes melitus (DM) tidak terbatas pada kadar glukosa darah yang abnormal, tetapi dapat berkembang dan menyebabkan berbagai komplikasi antara lain: diabetik retinopati, gagal ginjal, dan diabetik neuropati perifer (López-Candales A. 2001; McKenney & Short 2011).

Faktor genetik dan mutasi gen telah terlibat dalam patogenesis diabetes. Adanya interaksi kompleks antara gen dan lingkungan dapat memainkan peran utama pada penyakit seperti diabetes dan komplikasinya (Ling 2008; Ling C 2009; SA. 2008; Liu L, Li Y 2008; Villeneuve LM 2010).

Beberapa riset mengatakan bahwa menurut Djama'an et al; (2012) pemberian jahe dalam bentuk perasan dapat menurunkan kadar glukosa darah. Sereh (*Cymbopogon citratus*). Tanaman sereh memiliki kandungan kimia berupa z-sitrat, borneol, estragole, methyleugenol, geranyl asetat (3,7-dimetil-2,6-oktadiena-1-ol asetat), geraniol (beberapa spesies lebih tinggi dalam senyawa ini dari pada sitral), beta-myrcene (MYR, 7-methyl-3-methylene-1,6 octadiene), limonene, piperitone, sitronelal, sitrat-2, alphaterpineole, pinene, farnesol, proximadiol, dan (+)-cymbodiacetal yang salah satunya dapat mengobati penyakit diabetes.

Dalam penelitian ini dilakukan metode *in silico* untuk mencari senyawa

yang aktif dari tanaman jahe dan sereh untuk pengobatan antidiabetes. *In silico* adalah suatu istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi komputer. Uji *in silico* telah menjadi metode yang digunakan untuk mengawali penemuan senyawa obat baru dan atau untuk meningkatkan efisiensi dalam optimasi aktivitas senyawa induk. Kegunaan uji *in silico* adalah memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013). Kelebihan dari metode *in silico* diantaranya adalah mengurangi error, mengurangi penggunaan hewan uji dan mengurangi pelarut.

Salah satu uji *in silico* dilakukan dengan melakukan docking molekul kandidat senyawa obat dengan reseptor yang dipilih. *Docking* adalah metode komputasi yang bertujuan meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji *in-vitro* (Motiejunas & Wade, 2006).

METODE

Alat

Perangkat keras dan perangkat lunak

Perangkat keras yang akan digunakan pada penelitian ini adalah : Laptop Acer dengan spesifikasi Aspire ES1-420, processor AMD E1-2500 APU with Radeon™ HD Graphics 1.40 GHz RAM 2GB, 64-bit operating system, window 10.

Perangkat lunak

Perangkat lunak yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- Prottox II untuk memprediksi keracunan senyawa dan LD₅₀. Dapat diakses secara gratis dari situs (http://tox.charite.de/prottox_II/). Senyawa rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*) diuji di *ProTox Web Server* dengan mengakses secara gratis di

(<http://tox.charite.de>). Berikut langkah-langkah uji toksisitas :

1. Masuk ke *database ProTox web server* dengan mengakses gratis (<http://tox.charite.de>).
 2. Setelah terbuka halaman *ProTox web server*, sorot menu bar, klik menu 'TOX PREDICTION' dan akan diarahkan pada halaman baru untuk uji toksisitas.
 3. Pada kolom 'search' 'Pubchem-Name' masukan nama senyawa yang akan kita uji, setelah muncul senyawa yang dimaksud, maka akan ditampilkan pada lembar kerja struktur dari senyawa tersebut dalam tampilan 2D.
 4. Pada tampilan 'additional models' centang semua model toksik prediksi kemudian tekan tombol 'start tox-prediction' disebelah kanan bawah, tunggu beberapa saat sampai muncul halaman hasil prediksi toksisitas.
 5. Setelah muncul halaman hasil prediksi toksisitas, disana akan ditampilkan prediksi *LD50, average similarity, prediction accuracy*.
- b. *ChEBI* untuk menggambar senyawa dan mencari ligan. Dapat diakses secara gratis dari situs (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>)
- Pencarian struktur senyawa rimpang jahe (*Zingiber officinale*) dan bisa di unduh dari *web server ChEBI* (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).
- Berikut langkah pencarian ligan di ChEBI
1. Masuk ke database ChEBI dengan mengakses webserver gratis (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).
 2. Pada kolom 'search' masukan nama senyawa yang akan kita cari, setelah muncul senyawa yang dimaksud, klik nama senyawa tersebut.
 3. Setelah terlihat nama senyawa dan struktur molekulnya dalam 2D, kemudian download dengan

format *molfile* pada pilihan format senyawa tersebut.

4. Namun jika nama senyawa yang kita cari tidak ditemukan, maka kita menggambar struktur senyawa tersebut pada lembar kerja yang telah disediakan.
5. *Protein Data Bank (PDB)* untuk mencari protein Dapat diakses secara gratis dari situs (<https://www.rcsb.org/>)
6. *Arguslab* untuk molecular docking secara virtual. Dapat diunduh secara gratis dari (<http://www.arguslab.com/arguslab.com/ArgusLab.html>)
7. *Discovery Studio* untuk visualisasi. Dapat diunduh secara gratis dari (<http://www3dsbiovia.com>).

Bahan

1. Ligan uji

Bahan uji pada table 1 yang digunakan adalah struktur dua dimensi dari tanaman jahe dan sereh yaitu senyawa zingeron, pinen, linalool, limonene, geraniol, terpineol, cineol dan farnesol yang diperoleh dari database ligand ChEBI.

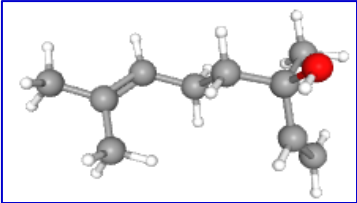
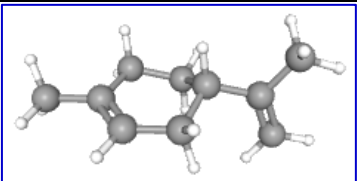
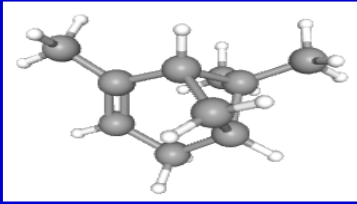
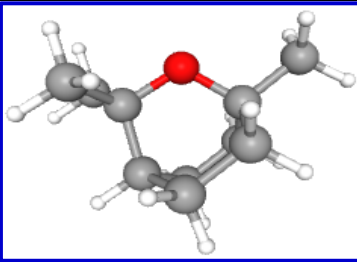
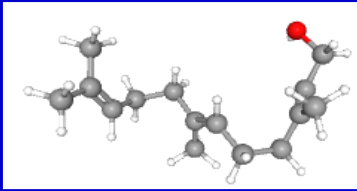
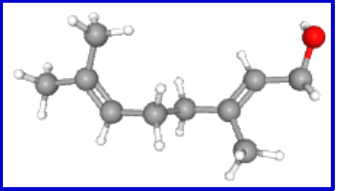
2. Struktur tiga dimensi protein target

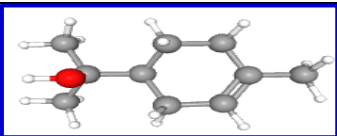
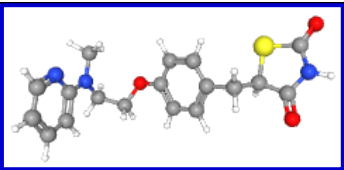
Bahan yang digunakan adalah struktur tiga dimensi (3D), terlihat pada gambar 1, dari reseptor *Peroxisome proliferasi-activated receptor γ* (PPAR γ) yang terikat dengan Rosiglitazone dengan kode PDB (Protein Data Bank) = 5YCP *homo sapiens* dan website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>).

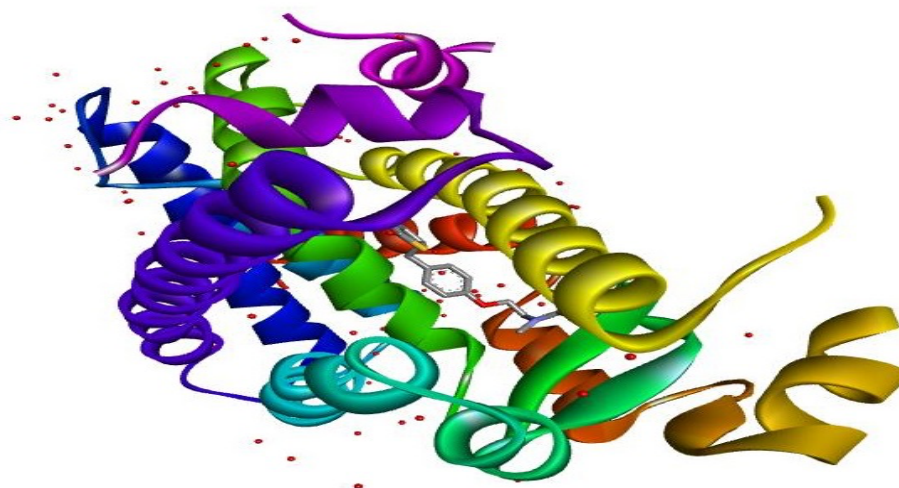
3. Ligan alami

Ligan alami yang digunakan adalah Rosiglitazone sebagai pembanding (gambar 2 dan 3).

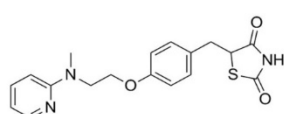
Tabel 1. Senyawa Uji

No	Senyawa	Struktur 3D
1	Linalool	
2	Limonen	
3	Pinen	
5	Cineol	
6	Farnesol	
7	Geraniol	

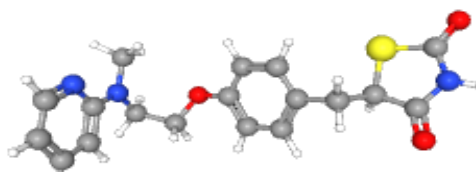
No	Senyawa	Struktur 3D
8	Terpineol	
10.	Rosiglitazone	



Gambar 1. Struktur reseptor PPAR γ diunduh dari protein data bank (PDB), dengan kode PDB ID 5YCP



Gambar 2.
Struktur 2D Rosiglitazone



Gambar 3.
Struktur 3D Rosiglitazone

Cara kerja

1. Pencarian ligan uji

Senyawa tanaman jahe dan sereh, diunduh dari ChEBI (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>), Ligan diunduh dengan format molfile dan disimpan sesuai dengan namanya masing-masing.

2. Prediksi Toksisitas Senyawa

Tanaman jahe dan sereh diprediksi toksisitasnya dengan menggunakan Protox Web Server (http://tox.charite.de/protox_II/) dan hasil yang di amati yaitu prediksi LD50 (letal dosis 50%) kelas

toksistas, kesamaan rata-rata, prediksi akurasi dan laporan model toksistas *hepatotoxicity, carcinogenicity, immunotoxicity, mutagenicity, cytotoxicity, Aryl hydrocarbon Receptor (AhR), Androgen Receptor (AR), Androgen Receptor Ligand Binding Domain (AR-LBD), aromatase, Estrogen Receptor Alpha (ER), Estrogen Receptor Ligand Binding Domain (ER-LBD), Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR-Gamma), Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2/antioxidant responsive element (nrf2/ARE), Heat shock factor response element (HSE), Mitochondrial Membrane Potential (MMP), Phosphoprotein (Tumor Suppressor) p53 dan ATPase family AAA domain-containing protein 5 (ATAD5)*

3. Uji sifat molekular ligan

Ligan diuji terlebih dahulu sifat molekulernya dengan mengacu kepada kaidah Lipinski Rule of Five. Senyawa tanaman jahe dan sereh, diunduh dari ChEBI (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>). Ligan diunduh dengan format *.mol* dan disimpan sesuai dengan namanya masing-masing (*cineol.mol*).

Cineol.mol diunggah ke (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>) dan di sertakan nilai pH dari senyawa tersebut. Hasil dibandingkan dengan kaidah *Lipinski Rule of Five* yaitu membandingkan massa molekul, lipofilisitas, donor ikatan hidrogen, akseptor ikatan hidrogen dan daya tahan molar.

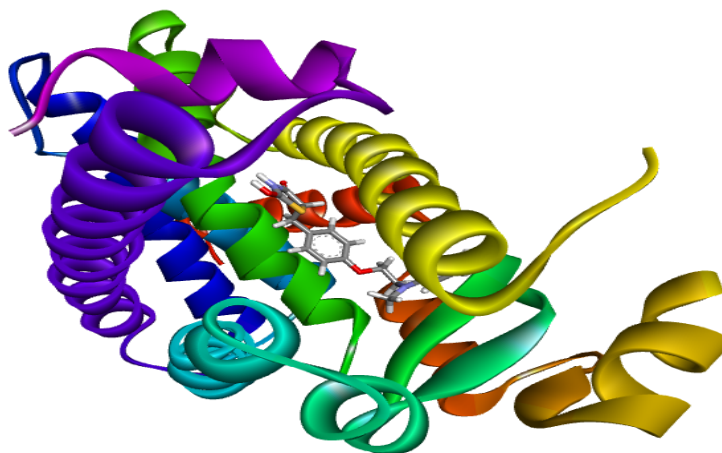
4. Pencarian struktur reseptor

Pencarian struktur reseptor di Protein Data Bank dengan mengakses secara gratis di

(<https://www.rcsb.org/>). *Protein Data Bank (PDB)* adalah sebuah *webserver* yang menyediakan database struktur tiga dimensi (3D) berukuran besar, seperti protein dan asam nukleat.

- Struktur reseptor PPAR γ diunduh dari protein data bank (PDB), dengan kode PDB ID : 5YCP
- Reseptor PPAR γ dipreparasi menggunakan *software* ArgusLab.
- Setelah dipreparasi, reseptor disimpan dalam satu folder dengan format *pdb*.

Protein dihilangkan air, ligan unik beserta ion pengganggu, serta dipilih rantai A dengan panjang 2105 asam amino.



Gambar 4. Struktur reseptor PPAR γ diunduh dari protein data bank (PDB) dihilangkan air, ligan unik beserta ion pengganggu, serta dipilih rantai A dengan panjang 2105 asam amino

3. Penambatan molekul

Dalam penelitian ini dilakukan *molecular docking* tanaman jahe dan sereh yang akan menjadi ligan dengan protein menggunakan *software Arguslab*. *Software* ini merupakan program yang terintegrasi untuk memprediksi interaksi (pengikatan) antara ligan dengan protein, *software* ini dapat menangani semua aspek dalam proses *docking*, mulai dari preparasi molekul, penentuan situs aktif pengikatan yang potensial dari protein target serta prediksi model pengikatan dari ligan.

Parameter yang digunakan pada proses *molecular docking* dengan *software Arguslab* antara lain pada RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2 dilihat binding energy (kcal/mol).

Berikut langkah-langkah *docking* menggunakan Arguslab :

1. Buka *software ArgusLab*, tunggu beberapa saat.
2. Klik menu file, *open*, cari lokasi kita menyimpan file, *open file pdb* dengan *format pdb file*.
3. Setelah terbuka, *expand* folder reseptor kita dan cari folder *misc* (disini tempat ligan pembanding berada).
4. Pilih ligan pembanding yang sudah diketahui, pilih menu edit dan pilih '*hide unselected*'.
5. Klik ikon *center molecular*, hapus gugus hidrogen.
6. Klik kanan pada ligan, pilih *make ligand group from this residue*, maka hasilnya akan tampil di *folder group*.
7. Buka *folder group*, pilih ligan, klik kanan pilih *make a binding site group for this group*, maka akan tampil *binding site*.
8. Kembali ke menu file, *open*, cari tempat kita menyimpan senyawa dengan format *molfile*.
9. Setelah terbuka, *expand* folder senyawa kita dan cari *folder misc* (disini tempat senyawa berada).

10. Klik kanan pada senyawa, pilih *make a ligand group from this residue*, maka hasilnya akan tampil di *folder group*.

11. Klik ikon *set up a dock calculation*, pada kolom ligan, pilih senyawa jahe atau sereh kemudian pada kolom *binding site bounding box* pilih *calculate size*, kemudian klik start untuk memulai *docking*.

12. Tunggu sekitar 10 detik hingga proses *docking* selesai dan hasil *docking* ditampilkan pada lembar yang sudah disediakan.

4. Analisa hasil

Preparasi Nilai/skor binding *energy* yang didapat dari *molecular docking* antara tanaman jahe (*Zingiber Officinale*) dan sereh (*Cymbopogon citratus*) dengan PPAR γ dibandingkan dengan hasil/skor binding *energy molecular docking* antara ligan alami yaitu rosiglitazone dengan PPAR γ

Jika hasil/skor binding *energy* yang di dapat dari tanaman jahe dan sereh lebih kecil/rendah nilai binding *energy* dari binding *energy* ligan alami rosiglitazone, maka senyawa dapat disimpulkan bahwa kedelapan senyawa tersebut dapat bersaing untuk berikatan di molekul. PPAR γ .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protox Web Server

ProTox II Web Server adalah laboratorium *virtual* untuk prediksi toksisitas pada molekul kecil. Prediksi toksisitas senyawa merupakan bagian penting dari proses pengembangan desain obat. Prediksi toksisitas kimia komputasi tidak hanya lebih cepat untuk penentuan dosis toksik pada hewan, tetapi juga dapat membantu mengurangi jumlah percobaan hewan. Dalam pelaksanaan uji toksisitas *virtual*, *ProTox II Web Server* memprediksi berbagai titik akhir toksisitas seperti toksisitas akut, hepatotoksisitas, sitotoksitas, .karsinogenesis,

mutagenisitas, imunotoksitas dan target toksisitas. Berikut hasil dari uji toksisitas dari senyawa yang telah dilakukan pada toksisitas *virtual*.

Berdasarkan hasil prediksi toksisitas menggunakan *Protox Web Server*, didapat kan hasil seperti pada tabel diatas, dengan nilai prediksi kelas toksisitas bernilai 5 pada semua ligan uji dan bernilai 4 pada ligan pembanding yaitu Rosiglitazone. Pada penjelasan ProTox II Web Server prediksi toksisitas dijelaskan bahwa semakin kecil angka

atau bilangan maka semakin toksik prediksi suatu senyawa, sebaliknya jika semakin besar angka atau bilangan maka semakin aman suatu senyawa tersebut.

Berdasarkan hasil prediksi LD₅₀ menggunakan *Protox Web Server*, didapatkan hasil seperti pada tabel diatas, dimana hasil yang paling tinggi di tunjukan oleh Farnesol dengan hasil LD₅₀ 5000 mg/kg dan yang paling rendah di tunjukan oleh geraniol dengan hasil LD₅₀ 2100 mg/kg.

Tabel 2. Hasil Prediksi kelas toksisitas dan LD₅₀

No	Senyawa	LD ₅₀ mg/kg	Prediksi kelas toksisitas	Memenuhi Syarat/Tidak
1.	Linaool	2200	5	Memenuhi
2.	Limonen	4400	5	Memenuhi
3.	Pinen	3700	5	Memenuhi
4.	Zingeron	2580	5	Memenuhi
5.	Cineol	2480	5	Memenuhi
6.	Farnesol	5000	5	Memenuhi
7.	Geraniol	2100	5	Memenuhi
8.	Terpineol	2830	5	Memenuhi
9.	Rosiglitazone	1000	4	Memenuhi

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan yang dikategorikan tidak beracun bila tertelan adalah farnesol. Syarat memeunhi sebagai calon obat adalah jika terdapat pada kelas 4 dan 5.

Kelas I : fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$)

Kelas II : fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$)

Kelas III : beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$)

Kelas IV : berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$)

Kelas V : mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$)

Kelas VI : tidak beracun ($LD_{50} > 5000$)

Similarity and Accuracy adalah pencarian kesamaan, kemiripan dan keakuratan dari struktur input yang dibangun dan dibandingkan dengan model dari basis data dengan menggunakan tampilan 2D. Indeks kesamaan dan kemiripan didefinisikan sebagai struktur molekul yang dibandingkan dengan ribuan struktur yang kemiripannya sama dalam database ProTox II Web Server.

Berdasarkan hasil *Average Similarity* dan *Prediction Acuracy* (tabel 3) menggunakan Protox Web Server, didapatkan hasil seperti tabel di atas ,semua ligan menunjukkan hasil *average similarity* dan *predition accuracy* dengan nilai 100% dan ligan pembanding memiliki hasil lebih rendah dengan nilai *Average Similarity* 49.59% dan *Prediction Acuracy* 54.26%. Dengan demikian linalool, limonen, pinen,

zingeron, cineol, farnesol, geraniol, terpineol, dan Rosiglitazone tidak memiliki struktur yang sama.

Berdasarkan hasil prediksi Toksisitas Target Organ menggunakan *Protox Web Server*. Didapatkan hasil

seperti tabel 2, semua ligan seperti linalool, limonene, pinen, zingeron, cineol, farnesol, geraniol, terpineol tidak memiliki efek toksisitas dan ligan pembanding rosiglitazone ternyata memiliki efek terhadap imunitas.

Tabel 3. Hasil *Average Similarity* dan *Prediction Acuracy*

No	Senyawa	<i>Average Similarity</i>	<i>Prediction Acuracy</i>
1	Linalool	100%	100%
2	Limonen	100%	100%
3	Pinen	100%	100%
4	Zingeron	100%	100%
5	Cineol	100%	100%
6	Farnesol	100%	100%
7	Geraniol	100%	100%
8	Terpineol	100%	100%
9	Rosiglitazone	49.59%	54.26%

Penambatan Molekul

Penambatan molekul (*molecular docking*) adalah metode komputasi yang bertujuan meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji *in-vitro* (Motiejunas & Wade, 2006).

Validasi dasar dan standar untuk simulasi *docking* molekul adalah dengan melihat kemampuan simulasi untuk mereproduksi mereproduksi pose dan struktur ligan ko-kristal (Kellenberger E, Foata N 2008; Kellenberger E, Rodrigo J, Muller P 2004). Fungsi obyektif yang umumnya digunakan untuk menilai kemampuan ini adalah RMSD. RMSD menggambarkan penyimpangan (deviasi) jarak pose hasil *docking* dibandingkan dengan pose 3D dari ligan target (struktur kode PDB) yang dihitung dan divisualisasikan dengan menggunakan aplikasi untuk visualisasi grafis molekular (YASARA dan PYMOL). Nilai RMSD $\leq 2,0$ dianggap sebagai acuan dalam simulasi *docking*, apabila nilai RMSD $\leq 2,0$ maka bisa maju ke langkah selanjutnya jika tidak maka harus dikonfigurasi kembali (Kellenberger E, Rodrigo J, Muller P 2004). Berikut adalah rumus dari RMSD (2.4):

$$\text{RMSD} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_i^2}$$

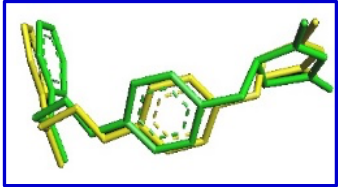
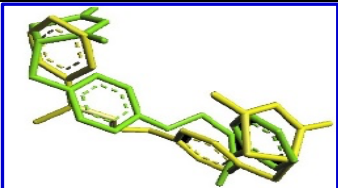
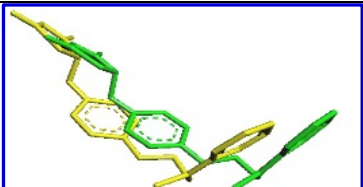
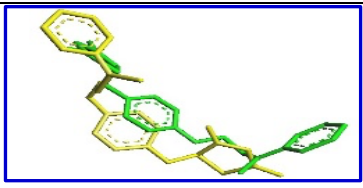
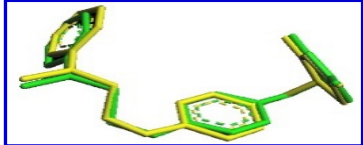
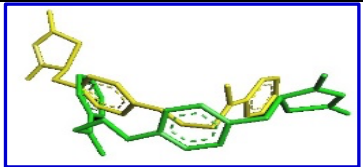
Dimana delta (δ) adalah jarak antara pasang N atom setara (biasanya C α , N, O, dan C β).

Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan cara *redocking* antara ligan alami dengan reseptor *PPAR gamma*. Untuk pengecekan validasi, parameter yang digunakan adalah RMSD. RMSD merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi permukaan ligan pada struktur sebelum dan sesudah *docking*. Metode penambatan molekul dikatakan valid apabila nilai RMSD kurang dari 2 Angstrom, yang artinya parameter *docking* yang digunakan telah valid, sehingga bisa digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji.

Sebelum dilakukan *docking*, pada penelitian ini dilakukan validasi sebanyak 6 kali dan dievaluasi terhadap satu pose *docking* dengan skor terendah. Dengan parameter yang dievaluasi yaitu nilai RMSD dari hasil pose terendah. Berdasarkan hasil validasi menggunakan

Arguslab, didapat hasil seperti tabel 5. Hasil validasi menunjukan bahwa kombinasi Argus-Dock-Flexibel menghasilkan hasil terendah dengan rerata RMSD 1.15 Angstrom dengan satu *pose* terbaik dari 50 *pose*.

Tabel 5. Hasil Validasi Docking Rosiglitazone

No	Perlakuan	RMSD	<i>Superimpose</i>
1.	GADock-Dock-Rigid	1.13	
2.	GADock-Dock-Flexibel	6.7	
3.	GADock-Dock-Torsion	2.3	
4.	Argus-Dock-Rigid	8.5	
5.	<u>Argus-Dock-Flexibel</u>	<u>1.01</u>	
6.	Argus-Dock-Torsion	9.22	

Tabel 6 Hasil Validasi Terbaik

No	Perlakuan	RMSD	Rata-rata
1	Argus-Dock-Flexibel	1.01	1.15
		1.08	
		1.23	
		1.23	
		1.23	



Gambar 5. *Superimpose* antara Rosiglitazone ligan(ligan alami) warna hijau dengan Rosiglitazone hasil *redocking* warna kuning.

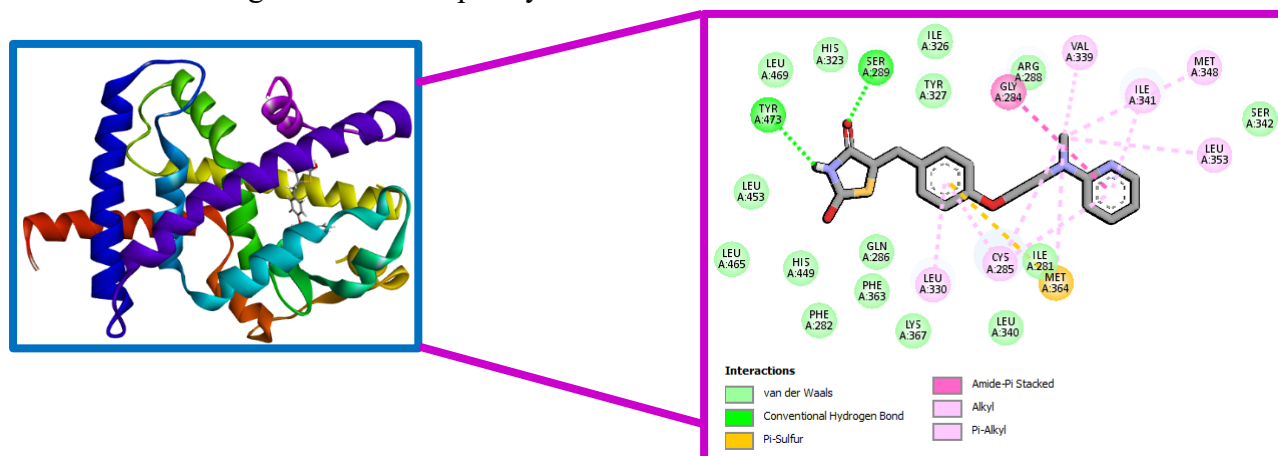
Tabel 7. Hasil *Molecular Docking*

No	Senyawa	Energi Ikatan Kcal/mol	Rata-Rata
1	Linalool	-10.59	-10.59
		-10.59	
		-10.59	
		-10.59	
		-10.59	
2	Limonen	-12.43	-12.43
		-12.43	
		-12.43	
		-12.43	
		-12.43	
3	Pinen	-12.77	-12.77
		-12.77	
		-12.77	
		-12.77	
		-12.77	
4	Zingeron	-7.22	-7.22
		-7.22	
		-7.22	
		-7.22	
		-7.22	
5	Cineol	-10.82	-10.82
		-10.82	
		-10.82	

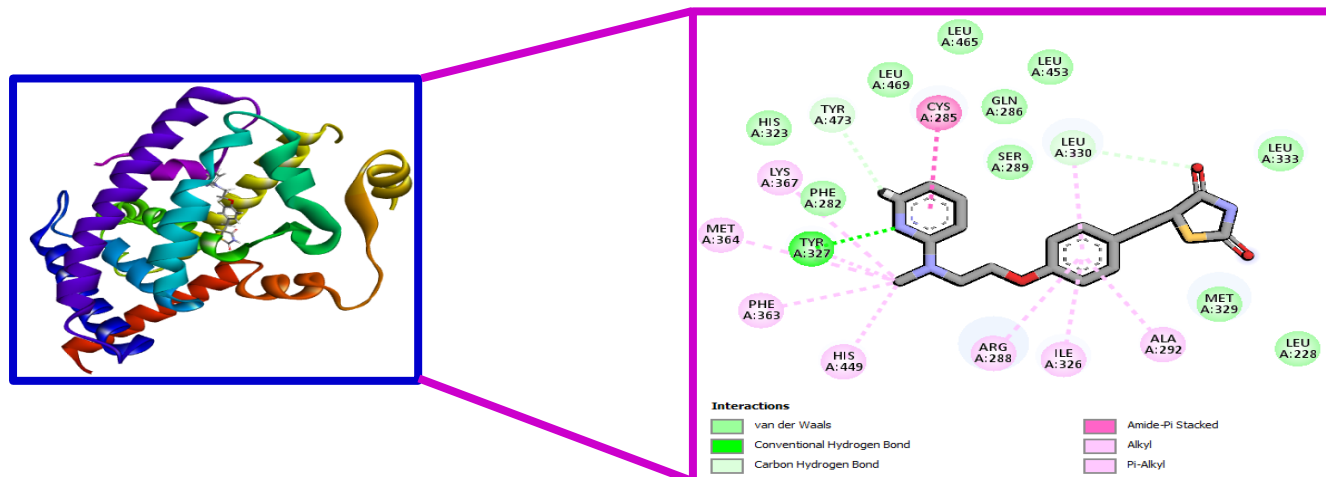
		-10.82 -10.82	
6	Farnesol	-11.96 -11.96 -11.96 -11.96 -11.96 -11.96	-11.96
7	Geraniol	-10.59 -10.59 -10.59 -10.59 -10.59	-10.59
8	Terpineol	-11.50 -11.50 -11.50 -11.50 -11.50	-11.50
9	Rosiglitazone	-10.37 -10.45 -10.54 -10.54 -10.54	-10.48

Hasil dari proses *docking* yaitu prediksi aktivitas interaksi ligan dengan reseptornya berupa nilai energi ikatan antara ligan-reseptor. Semakin kecil energi yang dihasilkan dari ikatan suatu ligan yang dengan reseptornya maka semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptornya.

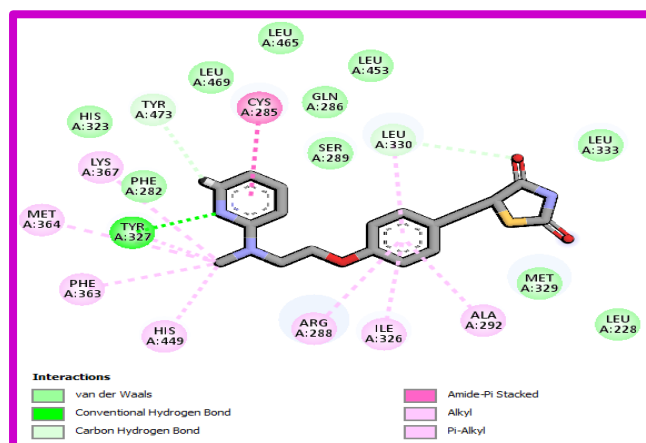
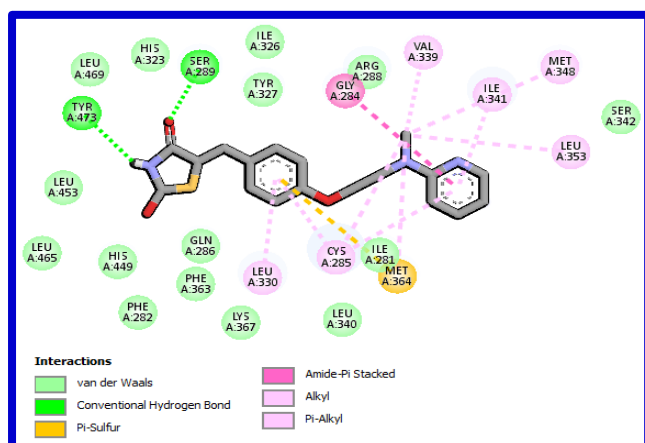
Berdasarkan hasil docking menggunakan *arguslab*, didapat hasil seperti tabel diatas. Diketahui ligan uji yang paling stabil adalah pinen dengan nilai -12.77 Kcal/mol sedangkan energi dari ligan pembanding yaitu -10.48 Kcal/mol.



Gambar 6. Visualisasi Asam Amino kompleks dengan Rosiglitazone dari Protein Data Bank



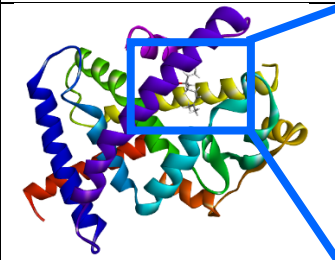
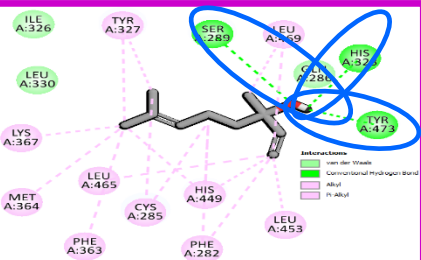
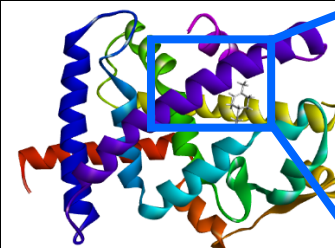
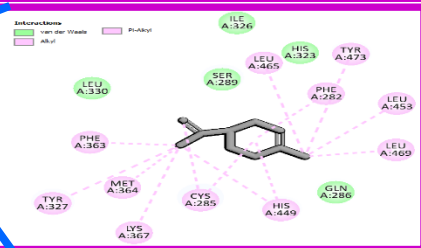
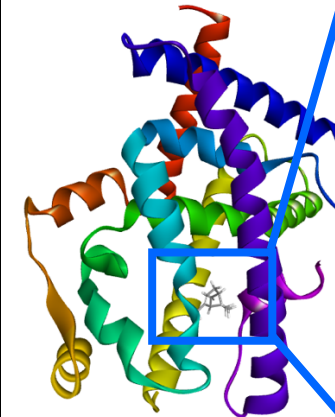
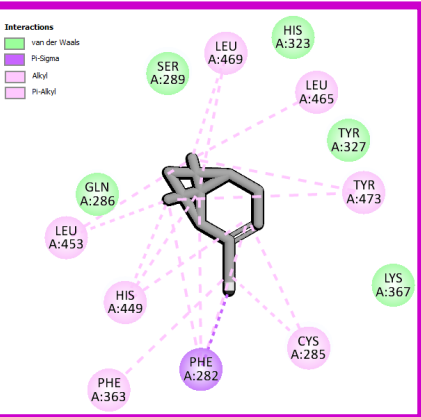
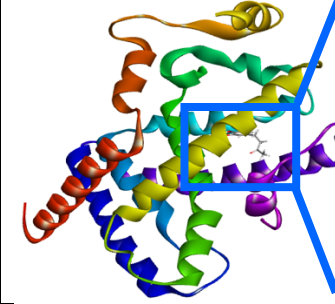
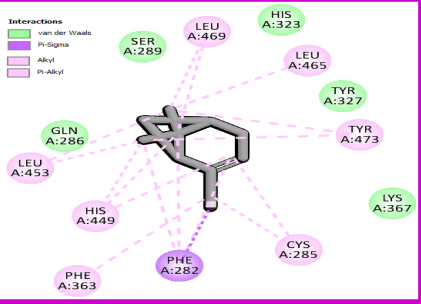
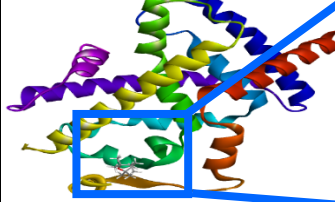
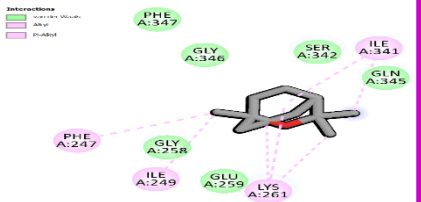
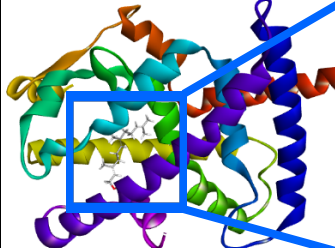
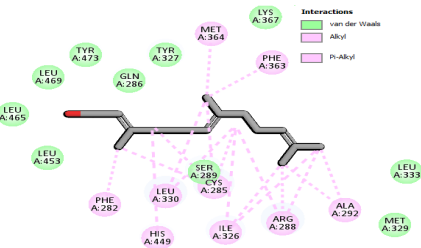
Gambar7. Visualisasi Asam Amino kompleks dengan Rosiglitazone hasil *redocking*


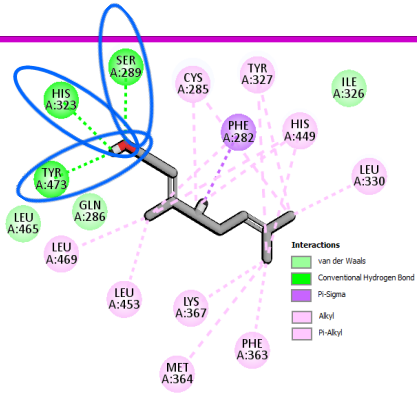

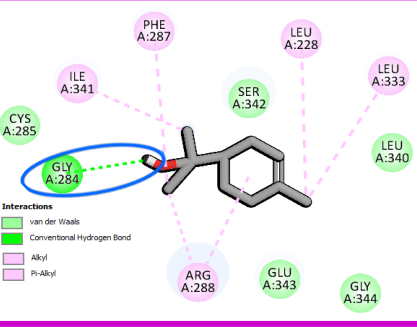
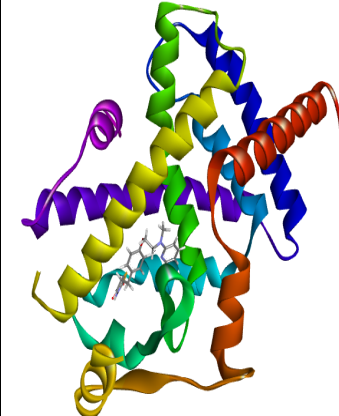
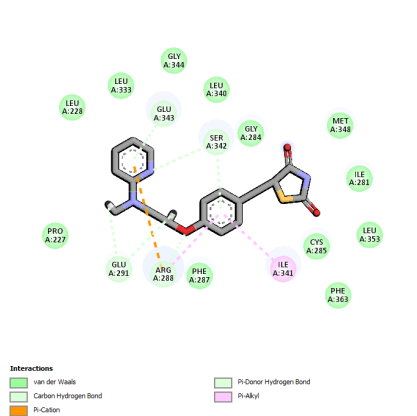


Pada gambar diatas menunjukkan interaksi asam amino dengan Rosiglitazone dengan *PPAR gamma* Rosiglitazone yang merujuk kepada *Protein Data Bank*. Gambar selanjutnya menunjukkan interaksi asam

amino *PPAR gamma* dengan hasil *redocking* dengan kombinasi *ArgusDock-Dock-Flexible*. Residu kunci asam amino terletak pada asam amino yang mempunyai ikatan hidrogen yaitu TYR A : 327, TYR A: 47

Tabel 8 Hasil Visualisasi Hasil *Docking*

No	Senyawa	Gambar 3D	Gambar 2D	Ikatan
1	Linalool			TYR A: 473 SER A : 289 HIS A : 328
2	Limonen			-
3	Pinen			-
4	Zingeron			-
5	Cineol			-
6	Farnesol			-

7	Geraniol			SER A: 289 HIS A: 323 TYR A: 473
8	Terpineol			GLY A: 284
9	Rosiglitazone			-

Hanya Linalool, Geraniol, Terpineol yang memiliki ikatan hidrogen sama dengan Rosiglitazone.

KESIMPULAN

Berdasarkan uji toksisitas senyawa menggunakan protox web server disimpulkan bahwa ke delapan senyawa terbukti aman.

Dari hasil molekular docking senyawa yang mempunyai skor binding energi lebih rendah dari ligan pembanding adalah cineol, farnesol, geraniol, linalool, limonen, pinen, terpineol maka dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut dapat bersaing untuk berikatan dengan reseptor PPAR γ .

DAFTAR RUJUKAN

- Anastas, P.T & Warner J.C. , (1998). *Green Chemistry : Theory and Practices*, New York : OxfordUniversity Press.
- DiPiro JT, Chisholm-Burns MA, Wells BG, Schwinghammer TL, Malone PM, Kolesar JM. (2013). *Pharmacotherapy principles and practice third edition*, McGraw-Hill Education, San Francisco, 758.
- DiPiro JT, Wells BG, Schwinghammer TL, DiPiro CV. (2015). *Pharmacotherapy handbook ninth edition*, McGraw-Hill Education, San Francisco, 161-164.
- International Diabetes Federation. (2017). *IDF diabetes atlas 8th edition*, International Diabetes Federation, Brussels, 16-20, 43-46, 124-125.

- In J.B. Taylor & D.J. Trigg (Ed6.), *Comprehensive Medicinal Chemistry II volume 4: Computer-Assisted Drug Design*. Elsevier.
- Kementarian Kesehatan RI, 2014, *Situasi dan analisis diabetes, Pusat Data dan Informasi*, Jakarta.
- Li, H.. et al. (2000). HypoGen: an automated system for generating 3D predictive pharmacophore models. In *Pharmacophore Perception, Development, and Use in Drug Design*. International University Line, pp. 171–189.
- Ling C, G.L., (2009). Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes*, (58), pp.2718–2725.
- Ling, C. et al., (2008). Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. *Diabetologia*, (51), pp.615–622.
- Liu L, Li Y, T.T., 2008. Gene-environment interactions and epigenetic basis of human diseases. *Curr Issues Mol Biol*, (10), pp.25–36.
- López-Candales A., (2001). Metabolic syndrome X: a comprehensive review of the pathophysiology and recommended therapy. *J Med*, (32), pp.283–300.
- Mirghani, M.E.S., Liyana, Y., Parveen, J., (2012). Bioactivity analysis of Lemongras (*Cymbopogon citratus*) essential oil. *International Food Research Journal*.
- Motiejunas, D., & Wade, R. (2006). *Structural, Energetics, and Dynamic Aspects of Ligand-Receptor Interactions*.