

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Diabetes merupakan salah satu penyakit dengan pertumbuhan tercepat di dunia (Turner et al., 2016). Adanya perubahan gaya hidup yang berhubungan dengan percepatan urbanisasi (Gunathilaka et al., 2020), menyebabkan diabetes penyebab kematian ketiga terbesar saat ini, setelah penyakit kanker, serebrovaskular, dan kardiovaskular (Bhattacharjee et al., 2014). Data terbaru dari IDF (*International Diabetes Federation*) menunjukkan bahwa sekitar 380 juta orang saat ini terdiagnosis diabetes, dan diperkirakan meningkat menjadi 592 juta pada tahun 2035, terutama pada T2D (*Type 2 Diabetes*) (Turner et al., 2016). Diabetes tipe 2 (T2D) merupakan jenis diabetes yang paling umum ditemukan (Tshiyoyo et al., 2022).

Diabetes didefinisikan sebagai hiperglikemia atau peningkatan kadar glukosa darah (Turner et al., 2016) yang disebabkan oleh defisiensi sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya ("Diagnosis and classification of diabetes mellitus," 2013). Alfa glukosidase ( $\alpha$ -glukosidase), DPP-IV (*Dipeptidyl Peptidase-IV*), PPAR- $\gamma$  (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-gamma*) dan PTP1B (*Protein Tyrosine Phosphatase 1B*) merupakan target penting dalam pengobatan T2D (Nguyen and Le, 2012; Tshiyoyo et al., 2022). Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase seperti akarbose atau miglitol, menghambat dan mengurangi absorpsi glukosa ke dalam darah sehingga dapat menurunkan hiperglikemia (Hossain et al., 2020, Nguyen and Le, 2012). DPP-IV inhibitor merangsang sekresi insulin dan menekan sekresi glukagon (Deacon, 2020). Agonis PPAR- $\gamma$  dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan penyerapan glukosa di otot rangka dan adiposa (Dhankhar et al., 2023). Penghambatan pada PTP1B akan meningkatkan sensitivitas insulin dan pengambilan glukosa oleh organ, utamanya di hati dan otot (Liu et al., 2023).

Efektivitas bahan alam sebagai anti-diabetes telah dieksplorasi dalam berbagai penelitian (Aswad dkk., 2024; Bhattacharjee et al., 2014; Gunathilaka dkk., 2020). Selain itu, penggunaan produk alami dalam menyembuhkan penyakit juga merupakan ajaran dalam agama (El-Seedi et al., 2019). Organisme laut merupakan sumber alami senyawa bioaktif yang baru dibandingkan dengan tumbuhan darat dan mikroba nonlaut, (Jiménez, 2018). Sejak awal abad ke-20, semakin banyak pigmen alami aktif yang diidentifikasi dari organisme laut, khususnya alga dan mikroorganisme laut. Penyelidikan telah mengidentifikasi sejumlah besar pigmen laut, yang mencakup lebih dari sembilan puluh persen pigmen alami laut yang diketahui (Ye et al., 2019). Pigmen-pigmen ini dapat menjadi sumber inhibitor atau yang menjanjikan (Dirir et al., 2022; Ye et al., 2019). Produk alami lebih mirip dengan obat dibandingkan dengan yang sangat cocok dalam upaya penemuan obat baru (Jiménez,



penemuan obat merupakan proses yang sulit dan penuh kendala. Hal ini disebabkan oleh masalah pada sifat fisikokimia senyawa, seperti

kelarutan atau kestabilan senyawa yang diujikan. Biaya yang tinggi, waktu yang lama untuk penelitian dan pengembangan juga menyebabkan proses ini semakin sulit. Jadi, untuk meningkatkan peluang keberhasilan, penting untuk membuat setiap langkah proses menjadi lebih baik. Komputer dan teknologi kemudian membantu proses penemuan obat menjadi lebih cepat dan lebih efisien. Oleh karena itu, desain obat berbasis komputer (CADD) menjadi bagian penting dalam penemuan obat modern saat ini (Chang et al., 2023).

Desain obat berbasis komputer (CADD) telah terbukti berhasil dalam penemuan obat (Jin et al., 2024). Molekular docking dan molekular dinamik (MD) telah digunakan untuk menemukan inhibitor kimia baru dari berbagai bahan alam baik dari tumbuhan atau sumber laut. Analisis profil farmakokinetik dan toksisitas senyawa terpilih sama pentingnya dengan molekular docking dan MD dalam mengidentifikasi kandidat inhibitor yang paling sesuai (Chaieb et al., 2022). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi pigmen laut sebagai inhibitor  $\alpha$ -glukosidase, DPP-IV, PTP1B dan agonis PPAR- $\alpha$  dengan metode CADD yaitu molekular docking, MD dan simulasi farmakokinetik-toksikologi. Pigmen laut yang berpotensi sebagai antidiabetes menunjukkan afinitas ikatan (*binding affinity*) dan interaksi ligan-reseptor yang kuat dan stabil serta profil farmakokinetik-toksikologi yang baik (Bansode et al., 2024; Chaieb et al., 2022). Hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam menciptakan terapi baru yang berasal dari pigmen laut untuk mengobati diabetes tipe 2 dengan lebih baik.

## 1.2. Teori

### 1.2.1. Diabetes

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit kronis pada metabolisme protein, lemak, dan karbohidrat, yang ditandai dengan peningkatan glukosa darah. Diabetes disebabkan oleh kekurangan dan/atau kerusakan insulin (Kooti et al., 2016). DM dapat dibedakan menjadi dua tipe utama: tipe 1 dan tipe 2. DM tipe 1 dikaitkan dengan kekurangan insulin yang absolut akibat gangguan autoimun pada sel beta pankreas, yang berfungsi mensekresikan insulin, sedangkan DM tipe 2 dikaitkan dengan kekurangan insulin yang relatif karena resistensi insulin, yang disebabkan oleh pola makan yang tidak sehat, gaya hidup yang kurang bergerak, dan obesitas. DM tipe 2 paling banyak terjadi di populasi penduduk dunia, akibat kelebihan produksi glukosa oleh hati dan kurang dimanfaatkannya glukosa oleh otot dan jaringan adiposa (Gunathilaka et al., 2020).

Resistensi insulin merupakan penyebab utama pada perkembangan DM tipe 2 yang terjadi pada individu yang obesitas dibandingkan individu yang kemudian diimbangi produksi insulin berlebih oleh sel  $\beta$ . Kelebihan produksi insulin, fungsi sel  $\beta$  menjadi terganggu dan menyebabkan hiperglikemia kronis dan hiperglikemia puasa. Resistensinya dapat mengurangi fungsi sel  $\beta$  dan meningkatkan hiperglikemia kronis pada DM tipe 2 juga dikaitkan dengan



dislipidemia yang mempengaruhi proses normal metabolisme lipid (Gunathilaka et al., 2020). Manifestasi klinis dari DM tipe 2 meliputi sering buang air kecil, adanya glukosa dalam urin rasa haus yang berlebihan dan kegelisahan. Komplikasi dapat timbul jika penyakit ini tidak dikelola atau diobati, di antaranya kerusakan pembuluh darah (penyakit kardiovaskular) dan tidak bekerjanya fungsi ginjal secara optimal (diabetes nefropati) (Omiyale et al., 2024). Oleh karena itu, pengembangan terapi untuk DM tipe 2 harus dapat menormalkan metabolisme glukosa dan mencegah komplikasi yang akan timbul (Gunathilaka et al., 2020).

### 1.2.2. Target Diabetes

Alfa glukosidase ( $\alpha$ -glukosidase) merupakan enzim yang ditemukan di usus halus dan merupakan target penting dalam pengobatan diabetes tipe 2 (T2D). (Tshiyoyo et al., 2022). Mekanisme kerja  $\alpha$ -glukosidase sebagai anti-diabetes yaitu dengan menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase, yang berperan dalam pemecahan disakarida yang tidak dapat diabsorpsi menjadi glukosa ( $\alpha$ -D-glukosa) yang dapat diabsorpsi (Singh et al., 2023). Dengan menghambat enzim ini, pelepasan glukosa dari karbohidrat makanan menjadi lebih lambat, yang kemudian mengurangi penyerapan glukosa ke dalam darah dan membantu mengontrol hiperglikemia postprandial (peningkatan kadar gula darah setelah makan). Pendekatan ini penting dalam menstabilkan kadar glukosa darah pada pasien diabetes, terutama pada diabetes tipe 2 (T2D) (Hossain et al., 2020). Inhibitor yang telah disetujui di antaranya akarbose, miglitol atau voglibose (Dirir et al., 2022). Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase merupakan target potensial untuk pengembangan obat antidiabetik (Gunathilaka et al., 2020).

DPP-IV (*Dipeptidyl Peptidase-IV*) merupakan enzim serin protease di membran yang bertanggung jawab atas inaktivasi hormon inkretin pengatur glukosa yaitu GLP-1 (*Glucose-like Peptide-1*) dan GIP (*Glucose-dependent Insulinotropic Peptide*) dengan memetabolismenya secara cepat (Rao and Hariprasad, 2021). GLP-1 merupakan peptida usus yang berperan dalam homeostasis glukosa. GLP-1 dilepaskan setelah konsumsi nutrisi dan bekerja melalui interaksi dengan reseptor GLP-1 di organ target seperti pankreas, otot, hati, lambung dan jaringan adiposa. Di pankreas, GLP-1 merangsang sekresi insulin dari sel  $\beta$  dan menekan pelepasan glukagon dari sel  $\alpha$ , yang mengakibatkan penurunan produksi glukosa di hati dan peningkatan penyerapan glukosa di otot dan jaringan adiposa. GLP-1 juga mengurangi laju pengosongan lambung dan menurunkan nafsu makan, yang mengarah pada penurunan asupan makanan dan penurunan berat badan (Deacon,



itu, strategi pengobatan terapeutik dengan inhibitor DPP-IV menghambat proses degradasi inkretin sehingga meningkatkan kadar GLP-1 terutama yang disetujui FDA (*Food and Drug Administration*) (Dirir et al., 2023). Banyak studi in-vivo menunjukkan pentingnya DPP-IV pada kadar GLP-1 lebih jauh lagi, yaitu selain meningkatkan kadar GLP-1, DPP-IV juga meningkatkan fungsi sel  $\beta$ -pankreas (Nguyen and Le, 2012).

PPAR- $\gamma$  (*Peroxisome Proliferator Activated Receptor*) merupakan reseptor nuklear yang terutama diekspresikan di jaringan adiposa. Mekanisme PPAR- $\gamma$  dalam homeostatis glukosa melibatkan beberapa aspek (Blaschke et al., 2006). PPAR- $\gamma$  yang merupakan faktor transkripsi yang diaktifkan oleh ligan dan berperan penting dalam metabolisme lipid dan glukosa. Ketika PPAR- $\gamma$  terikat dengan ligan atau senyawa sintesis seperti thiazolidinedion, struktur keseluruhannya menjadi aktif. PPAR- $\gamma$  kemudian membentuk kompleks heterodimer dengan *retinoid X-receptor* (RXR) dan terikat pada motif DNA spesifik yang dikenal sebagai *peroxisome proliferate response element* (PPREs) di gen target, sehingga mengaktifasi regulasi gen (Nguyen and Le, 2012). Aktivasi PPAR gamma ini meningkatkan sensitivitas insulin tubuh secara umum utamanya di jaringan adiposa. Aktivasi ini juga meningkatkan ekspresi dan konsentrasi plasma adiponektin, protein yang berasal dari jaringan adiposa. Adiponektin berperan dalam menurunkan kadar gula dalam darah dengan cara meningkatkan penyerapan glukosa di otot rangka dan adiposa, serta menurunkan sintesis glukosa oleh hati, dengan aktivasi pada *AMP-activated protein kinase* (Blaschke et al., 2006; Dhankhar et al., 2023). Saat ini, pioglitazon merupakan satu-satunya obat PPAR- $\gamma$  yang dapat digunakan untuk mengobati T2D (Alam et al., 2019).

PTP1B (*Protein Tyrosine Phosphatase 1B*) merupakan famili dari PTP yang berperan dalam transduksi signal insulin dengan cara mendefosforilasi reseptor insulin dan substratnya ketika berikatan dengan insulin (Awaluddin et al., 2019) atau pengatur negatif jalur sinyal insulin (Rao and Hariprasad, 2021). PTP1B disebut pengatur negatif jalur sinyal insulin karena bekerja dengan cara mendefosforilasi (menghilangkan gugus fosfat) pada reseptor insulin (IR) dan substrat reseptor insulin 1 (IRS1), yang menyebabkan inaktivasi dan penghentian sinyal dari jalur tersebut. PTP1B inhibitor berfungsi sebagai anti-diabetes dengan cara menghambat aktivitas PTP1B sehingga fosforilasi pada reseptor insulin (IR) dan substrat reseptor insulin 1 (IRS1) dapat dipertahankan, sehingga meningkatkan sensitivitas insulin dan pengambilan glukosa oleh organ, utamanya di hati dan otot, yang merupakan lokasi utama pengambilan glukosa (Liu et al., 2023). Obat penghambat PTP1B yang telah berhasil mencapai tahap uji klinis adalah ertiprotafib (Kumar et al., 2020). Inhibitor PTP1B merupakan target potensial untuk pengobatan DM tipe 2 dan obesitas (Liu et al., 2023).

### 1.2.3. Pigmen Bahan Alam Laut



Lautan mencakup lebih dari 70% luas permukaan bumi dan menjadi tuan rumah spesies yang sangat besar. Secara taksonomi, terdapat 35 juta spesies hewan. Dari jumlah tersebut, 34 juta ditemukan di lautan, dan hanya 1 juta ditemukan di lingkungan laut (Jiménez, 2018). Selain tumbuhan dan mikroorganisme yang tidak hidup di air, sumber alam laut merupakan sumber alami senyawa bioaktif yang beragam (Jiménez, 2018; Ye et al., 2019). Sejak awal abad ke-20, banyak senyawa bioaktif yang ditemukan di sumber laut, sebagian besar adalah alga dan

mikroorganisme yang hidup di laut. Studi sebelumnya telah mengulas 81 pigmen laut, yang merupakan lebih dari 90% dari semua pigmen laut alami yang diketahui (Ye et al., 2019).

Sumber utama pigmen bahan alam laut adalah hewan laut, tumbuhan dan mikroorganisme. Pigmen dari hewan laut yang paling umum adalah astaxantin yang diproduksi oleh krustasea dan echinochrom yang diproduksi oleh echinodermata. Untuk tumbuhan laut, dibagi menjadi tiga kategori yaitu klorofil, karotenoid dan fikobiliprotein. Di antara pigmen tersebut, klorofil, fukoxantin, lutein dan pikosianin yang paling terkenal. Adapun pigmen dari mikroorganisme relatif melimpah, dan mikroorganisme utama yang menghasilkan pigmen yaitu bakteri, sianobakteria, aktinobakteria, ragi dan jamur. Mikroorganisme laut tersebut ditemukan di berbagai tempat, seperti alga, ikan, moluska, spons, mangrove, air laut dan sedimen. Pigmen yang dihasilkannya beraneka ragam seperti karotenoid, turunan indol, poliena, alkaloid, peptida, makrolida, melanin, dan terpenoid. Pigmen-pigmen ini sifatnya unik dan memiliki aktivitas biologis yang beragam (Ye et al., 2019).

Pengujian potensi bahan alam utamanya bahan alam laut sebagai anti-diabetes telah dieksplorasi dalam berbagai penelitian, di antaranya rhaponticin dari tanaman herbal *Polygonum sp.* yang terbukti dapat menurunkan kadar glukosa, meningkatkan toleransi glukosa (Dirir et al., 2022), bromofenol pada alga merah signifikan menghambat PTP dan  $\alpha$ -glukosidase (Bhattacharjee et al., 2014), fukosterol, stigmasterol, dan  $\beta$ -sitosterol pada alga coklat *Sargassum sp.* berpotensi sebagai inhibitor  $\alpha$ -amilase dibandingkan akarbose (Rohim and Estiasih, 2019), dan senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya dari tanaman *Curculigo sp.* terbukti memiliki aktivitas penghambatan yang kuat terhadap PTP1B secara in vitro (Awaluddin et al., 2019). Bisindole pada alga laut *Caulerpa racemosa* terbukti berpotensi sebagai anti-diabetes melalui penelitian *in silico*. Beberapa bisindole yang diidentifikasi termasuk caulerpin, caulersin, racemosin A, racemosin B, dan racemosin C juga berpotensi sebagai anti-diabetes (Aswad, 2024). Adapun potensi pigmen laut sebagai anti-diabetes adalah hal yang menarik untuk diteliti. Pigmen yang berpotensi sebagai antidiabetes di antaranya fucoxanthin, yang memiliki kemampuan untuk menghambat PTP 1B dan aldose reduktase (Gunathilaka et al., 2020). Pigmen fucoxanthin yang ditemukan dalam alga coklat memiliki potensi sebagai antidiabetes. Fucoxanthin diketahui dapat mengontrol resistensi insulin dan menghambat adipokin, *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) dan *interleukin-6* (IL-6) (Bhattacharjee et al., 2014). Adapun senyawa-senyawa yang telah diidentifikasi sebagai penghambat  $\alpha$ -glukosidase yang menjanjikan untuk pengembangan obat anti-diabetes yaitu akridin, indol, imidazol, isatin, isobenzofuranon, karbazol, ol, triazin dan oksadiazol (Zahra et al., 2024).



### ocking dan Molekular Dinamik

ocking telah digunakan untuk menemukan inhibitor atau agen alam yang berasal dari tumbuhan atau organisme laut (Chaieb ing merupakan metode komputasi yang digunakan untuk

memprediksi struktur kompleks dari target biologis, termasuk kompleks antara ligan dan protein. Ada dua algoritma molekular docking yaitu memberikan skor pada energi ikatan kemudian memperkirakan afinitasnya, dan memprediksi interaksi protein dan ligan. Adapun hasilnya meliputi skor energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) pada kompleks reseptor-ligan dan nilai RMSD (Nugraha, 2023).

Energi bebas ikatan menunjukkan afinitas ligan terhadap reseptor. Afinitas yang rendah menunjukkan bahwa ligan dan reseptor memerlukan sedikit energi untuk berikatan. Akibatnya, ikatan antara ligan dan reseptor semakin kuat dan stabil jika semakin sedikit energi bebas yang mengikat (Nugraha, 2023). Skor dengan energi pengikatan terendah dipilih untuk analisis profil farmakokinetik (ADME), toksisitas, dan dinamika molekular. (Chaieb et al., 2022). Visualisasi hasil docking juga menunjukkan interaksi antara ligan dan reseptor, seperti interaksi hidrogen atau van der Waals (Nugraha, 2023). Selama suatu obat/senyawa mempunyai gugus fungsi yang dapat membentuk ikatan hidrogen, maka obat tersebut dapat larut lebih mudah dan berinteraksi lebih efektif dengan target biomolekularnya, sehingga menghasilkan ikatan dan spesifisitas yang lebih kuat (Coimbra et al., 2020). Adapun RMSD (*Root Mean Square Deviation*), terbagi atas dua yaitu l.b (*lower bound*) dan u.b (*upper bond*), digunakan untuk mengetahui kesesuaian konformasi ligan alami dengan ligan yang digunakan dalam proses docking (Nugraha, 2023).

Konstanta inhibisi (Ki) merupakan parameter yang menggambarkan kekuatan atau efektivitas inhibisi yang dilakukan oleh suatu ligan terhadap protein target. Nilai konstanta inhibisi yang lebih rendah menunjukkan bahwa ligan memiliki kemampuan yang lebih besar untuk menghambat protein target. Energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dapat digunakan sebagai prediktor untuk mengevaluasi kemampuan inhibisi suatu senyawa/ligan terhadap protein/reseptor target. Ki dapat dihitung dengan persamaan (Pebralia et al., 2024):

$$K_i = e^{\frac{\Delta G}{RT}}$$

Ki = Konstanta Inhibisi ( $\mu\text{M}$ )

$\Delta G$  = Energi bebas ikatan (kkal/mol)

R = Konstanta gas (1,987 kal/molK)

T = Suhu ruang (298,15 K)

Pada molekular docking, protein dianggap sebagai struktur kaku, yang kontras dengan kondisi dinamis dan terlarut. Olehnya, menjadi rasional untuk melakukan simulasi molekular dinamik (MD) untuk menguji stabilitas interaksi ligan-protein pada kondisi yang dinamis. Stabilitas kompleks ligan-protein diuji dengan menganalisis beberapa karakteristik seperti *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) dan *Radius of Gyration* (Bansode et al., 2024). Simulasi molekular dinamik (MD) memberikan data yang lebih detail tentang

stabilitas dan menguji fleksibilitas protein dalam sistem kompleks. Simulasi MD juga membantu memahami lebih baik berbagai interaksi dengan lebih baik (Sindhu et al., 2023).



### 1.2.5. Farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas

Profil farmakokinetik terdiri dari absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi, dan dapat diukur secara *in silico* (Nugraha, 2023, Mert-Ozupek dkk., 2022). Studi sebelumnya memprediksi profil ADME dari sifat fisikokimia bahan alam, dengan menggunakan sejumlah parameter seperti, berat molekul (MW), *rotatable bonds* (ROTBs), akseptor ikatan hidrogen (HBAs) dan donor ikatan hidrogen (HBDs) (Mert-Ozupek et al., 2022). Sifat fisikokimia yang mempengaruhi bioavailabilitas obat adalah kelarutan dan kemampuan senyawa untuk terserap di saluran cerna. Kelarutan tergantung pada berat molekul dan koefisien partisi. Sementara ikatan hidrogen berhubungan dengan lipofilisitas dan hidrofobisitas yang mempengaruhi permeabilitas membran (Nugraha, 2023). Fleksibilitas molekul bioaktif dapat diukur dengan *rotatable bonds*. Adapun lipofilisitas ( $\log P$ ) sangat penting untuk menjelaskan absorpsi dan distribusi bahan kimia pada sistem fisiologis, sama halnya dengan kelarutan dalam air ( $\log S$ ) (Mert-Ozupek et al., 2022). Berdasarkan aturan Lipinski, senyawa dapat diabsorpsi oral dengan baik bila memenuhi tiga atau lebih aturan tersebut, yaitu berat molekul (MW)  $\leq 500$ , koefisien partisi ( $\log P$ )  $\leq 5$ , donor ikatan hidrogen (HBDs)  $\leq 5$  dan akseptor ikatan hidrogen (HBA)  $\leq 10$  (Guan et al., 2019, Matsson et al., 2016).

Kemampuan absorpsi suatu senyawa juga dapat ditentukan dengan nilai permeabilitas *Caco-2* dan *human intestinal absorption* (HIA). Permeabilitas *Caco-2* merupakan parameter untuk menentukan kemampuan absorpsi dari obat oral, sedangkan HIA menunjukkan kemampuan absorpsi molekul di saluran cerna. Volume distribusi (VDs) merupakan parameter untuk distribusi, yaitu perbandingan distribusi konstan antara total dosis obat yang terdistribusi merata ke seluruh tubuh dengan konsentrasi obat dalam plasma. Semakin tinggi volume distribusi, semakin tinggi konsentrasi obat yang terdistribusi di dalam jaringan dibanding plasma. Untuk metabolisme, sitokrom P450 (CYP450) merupakan parameter penting. Enzim ini terutama ditemukan di hati dan berperan dalam mengoksidasi molekul organik asing sehingga dapat diekskresikan. CYP450 sebagian besar menonaktifkan sebagian besar obat, namun beberapa obat dapat diaktifkan oleh enzim ini. Oleh karena itu, penting untuk melakukan prediksi aktivitas CYP450 terhadap kandidat obat yang potensial. CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4 merupakan isoform CYP450 yang memetabolisme lebih dari 50% obat klinis (Nugraha, 2023).

Ekskresi adalah proses tubuh mengeluarkan produk beracun atau limbah. Ginjal berperan penting dalam eliminasi obat, terutama untuk senyawa hidrofilik yang terionisasi. Parameter yang digunakan yaitu *Total Clearance* dan *Renal Organic*



*Substrate* (OCT2). Klirens total merupakan gabungan antara klirens ginjal, sedangkan OCT2 adalah berperan mengangkut darah ke dalam sel epitelial ginjal, untuk disekresikan ke dalam keluaran lewat urin (Nugraha, 2023). Pengujian toksisitas *in vitro* untuk memilih kandidat obat yang lebih baik (Mert-Ozupek et al., 2022). Pengujian toksisitas *AMES-test* memungkinkan seseorang mengevaluasi suatu senyawa dengan menggunakan bakteri. Potensi

hepatotoksik suatu senyawa juga dapat diprediksikan dari nilai yang positif pada parameter hepatotoksisitas.

### 1.3. Rumusan Masalah

1. Bagaimana prediksi mekanisme aksi senyawa pigmen dari bahan alam laut sebagai antidiabetes secara molekular?
2. Bagaimana afinitas dan interaksi pigmen bahan alam laut terhadap  $\alpha$ -glukosidase, DPP-IV, PPAR- $\gamma$  dan PTP1B secara *in silico*?
3. Bagaimana prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas pigmen bahan alam laut terhadap  $\alpha$ -glukosidase, DPP-IV, PPAR- $\gamma$  dan PTP1B secara *in silico*?

### 1.4. Tujuan dan Manfaat

#### 1.4.1. Tujuan

1. Memprediksi mekanisme aksi senyawa pigmen dari bahan alam laut sebagai antidiabetes secara molekular.
2. Menentukan afinitas dan interaksi pigmen bahan alam laut terhadap  $\alpha$ -glukosidase, DPP-IV, PPAR- $\gamma$  dan PTP1B secara *in silico*.
3. Memprediksi profil farmakokinetik dan toksisitas pigmen bahan alam laut terhadap  $\alpha$ -glukosidase, DPP-IV, PPAR- $\gamma$  dan PTP1B secara *in silico*.

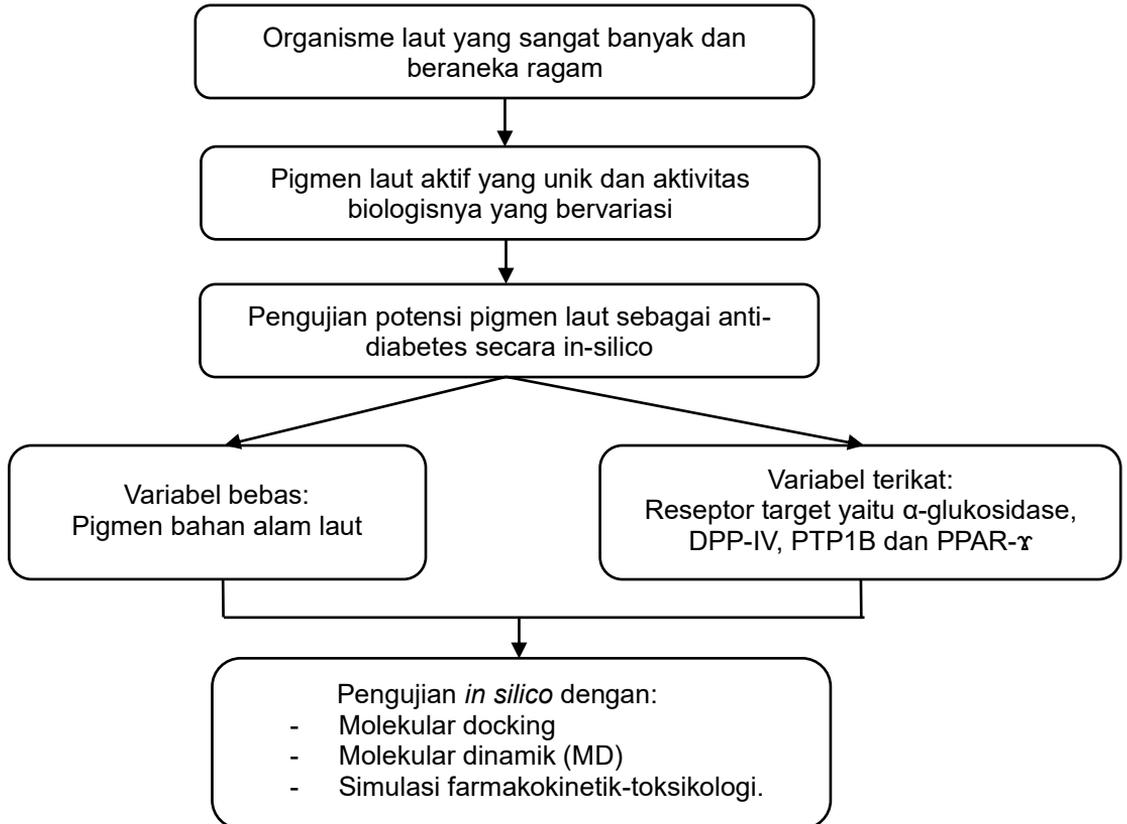
#### 1.4.2. Manfaat

Penelitian ini dapat menjadi acuan pengembangan obat anti-diabetes melalui prediksi *in silico*. Diharapkan senyawa yang diujikan dapat berkontribusi dalam menciptakan terapi baru yang berasal dari pigmen laut untuk mengobati diabetes dengan lebih baik.



## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1. Kerangka Konsep



### 2.2. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis, Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang beralamat di Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10 Tamalanrea, Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan, pada bulan Maret - Agustus 2024.

### 2.3. Alat dan Bahan



Perangkat lunak yang digunakan yaitu perangkat keras berupa satu set komputer yang mampu melakukan perhitungan kimia dengan spesifikasi i5-60060, CPU @ 2.00 GHz 1.99 GHz, RAM 4,00 GB (3.90 GB), Hardisk > 500 GB. Perangkat lunak yang digunakan berupa sistem operasi Windows Pro version 1607, UCSF-Chimera<sup>®</sup> yang terhubung dengan

Autodock Vina, PyMOL, Discovery Studio, Microsoft Excel, pkCSM<sup>®</sup> dan YASARA<sup>®</sup> (Musdalifa, 2023; Nugraha, 2023; Rasyid et al., 2023).

Bahan yang digunakan yaitu struktur 3D protein yang diperoleh dari RCSB PDB (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB 2QMJ (*Human Maltase-Glucoamylase*) untuk  $\alpha$ -glukosidase, 4A5S (*Human DPP4*) untuk DPP-IV, 2Q5S untuk PPAR- $\gamma$  (*PPAR-gamma Bound to Partial Agonist*), 4Y14 (*Tyrosine Phosphatase 1B Complexed with Inhibitor*) untuk PTP1B (Rao and Hariprasad, 2021), dan 81 struktur senyawa pigmen dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Ye et al., 2019).

## 2.4. Metode Penelitian

### 2.4.1. Preparasi Ligan (Pigmen)

Sebanyak 81 senyawa pigmen yang merupakan ligan diperoleh dari studi literatur (Ye et al., 2019). Struktur senyawa kemudian dibuat menggunakan fitur “draw structure” di <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Canonical SMILES yang dihasilkan dikonversi menjadi file PDB menggunakan perangkat lunak UCSF-Chimera<sup>®</sup> (Aswad, 2024). Selanjutnya, ditambahkan hidrogen polar dan muatan Gasteiger ke setiap ligan menggunakan opsi “minimize” pada UCSF Chimera<sup>®</sup> (Amengor et al., 2024). *Minimize tool* digunakan untuk meminimalisir energi dan mengoptimalkan struktur senyawa pigmen (Mert-Ozupek et al., 2022).

### 2.4.2. Preparasi Protein

Struktur protein dari *Research Collaboratory Structural Bioinformatics Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb>) dibuka dengan UCSF-Chimera<sup>®</sup>. Selanjutnya dipreparasi dengan opsi “dock prep”, yang berfungsi untuk menambahkan hidrogen, memperbaiki rantai samping yang memendek, memberikan muatan pada struktur protein dan menghilangkan molekul pelarut. Protein yang telah dipreparasi kemudian disimpan dalam format PDB agar mudah dikenali alat Autodock dan aplikasi visualisasi seperti Discovery Studio (Amengor et al., 2024).

### 2.4.3. Molekular Docking dan Verifikasi

Struktur ligan dan protein dimasukkan ke UCSF-Chimera<sup>®</sup> yang terhubung dengan Autodock Vina untuk melakukan molekular docking. Selanjutnya dilakukan an menentukan *grid-box* dan direktori penyimpanan file melalui a (Nugraha, 2023). *Grid-box* dibangun mengelilingi kantong protein untuk mendapatkan posisi dan ukuran *grid-box* untuk -faktor yang mempengaruhi pengikatan ligan dianalisis oleh Autodock Vina, yang diperluas ke UCSF-Chimera<sup>®</sup> (Amengor et



Untuk memastikan konsistensi, setiap percobaan docking dilakukan dalam empat proses teknis. Dalam setiap putaran, Autodock Vina menghasilkan sembilan peringkat postur berdasarkan energi pengikatnya. Pemilihan pose terbaik ditentukan dengan mengevaluasi energi pengikatan ligan dan kemampuan ligan dalam membentuk interaksi optimal dengan residu asam amino protein target. Verifikasi molekular docking dilakukan dengan re-docking ligan alami dan menghitung RMSD ligan hasil re-docking menggunakan PyMOL (Amengor et al., 2024). Terakhir, menganalisis hasil docking dari yaitu skor energi bebas ikatan dan interaksi ligan-reseptor. Adapun visualisasi interaksi ligan-reseptor dianalisis menggunakan perangkat lunak Discovery Studio (Nugraha, 2023)

#### 2.4.4. Uji *In Silico* Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi profil farmakokinetik (ADME) dan toksisitas senyawa pigmen dihitung di pkCSM<sup>®</sup> (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/>) dengan menginput *file* struktur dalam format Canonical SMILES (Aswad, 2024). Selanjutnya dilakukan analisis bioavailabilitas menggunakan *rules of 5 Lipinski* dan profil farmokinetik-toksisitas berdasarkan parameter-parameter yang dihasilkan (Musdalifa, 2023; Nugraha 2023).

#### 2.4.5. Molekular Dinamik (MD)

Simulasi molekular dinamik (MD) dijalankan menggunakan perangkat lunak YASARA<sup>®</sup> (YASARA Bioscience GmbH, Wina, Austria) untuk menganalisis stabilitas dari konformasi terbaik yang ditemukan pada tahap molekular docking (Land and Humble, 2018). Amber14 digunakan sebagai medan gaya, dan kondisi batas periodik. Tingkat pH diatur ke 7,4 dan suhu diatur ke 310 K. Untuk menyeimbangkan sistem, ditambahkan pelarut TIP3P dan ion lawan (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>). Simulasi kemudian dijalankan selama 100 ns dengan *timestep* 0,25 fs. Setiap 25 ps, RMSD, RMSF dan *radius of gyration* dikumpulkan dan dianalisis (Rasyid et al., 2023).

