

STUDI *MOLECULAR DOCKING* SENYAWA FLAVONOID QUERCETIN DAUN MIMBA (*Azadiracta indica* A. Juss) SEBAGAI ANTIDIABETES DAN ANTIOKSIDAN

Molecular Docking Analysis of Flavonoid Quercetin Compounds from Neem Leaves (Azadiracta indica A. Juss) as Antidiabetic and Antioxidant Compounds

Bagas Apriliano Wijanarko¹, Lia Puspitasari^{2*}, Saiful Bahri¹

¹Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta Selatan

²Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta

*Corresponding author: lia.puspitasari@staff.uns.ac.id

ABSTRAK

Daun mimba (*Azadiracta indica* A. Juss) merupakan tanaman obat yang banyak diteliti memiliki aktivitas antidiabetes dan antioksidan, namun kajian *in silico* yang secara spesifik mengevaluasi peran quersetin sebagai senyawa utamanya terhadap beberapa target molekuler kunci diabetes melitus masih terbatas. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi aktivitas quercetin terhadap *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors-Gamma* (PPAR- γ), *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4), serta target yang berperan dalam pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) menggunakan pendekatan *structure-based drug design* melalui metode *molecular docking*. Hasil simulasi *docking* menunjukkan quersetin memiliki afinitas yang kuat dan stabil terhadap reseptor PPAR- γ dan DPP-4, yang ditunjukkan oleh nilai energi ikatan bebas yang rendah dan pembentukan interaksi molekuler penting berupa ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik pada sisi aktif reseptor. Quersetin juga menunjukkan interaksi yang relevan dengan target protein terkait ROS, yang mengindikasikan potensi aktivitas antioksidan melalui penghambatan jalur pembentukan stress oksidatif. Berdasarkan profil afinitas ikatan dan pola interaksi molekuler tersebut, quersetin pada daun mimba berpotensi memiliki aktivitas antidiabetes melalui mekanisme aktivasi PPAR- γ dan inhibisi DPP-4, serta berkontribusi dalam menurunkan stres oksidatif.

Kata Kunci: antidiabetes, antioksidan, daun mimba, molecular docking, quercetin.

ABSTRACT

Neem leaves (*Azadiracta indica* A. Juss) are a medicinal plant that has been widely studied for its antidiabetic and antioxidant activities, but *in silico* studies specifically evaluating the role of quercetin as its main compound against several key molecular targets of diabetes mellitus are still limited. Therefore, this study aims to examine the potential activity of quercetin against *Peroxisome Proliferator-Activated Receptors-Gamma* (PPAR- γ), *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4), and targets that play a role in the formation of *Reactive Oxygen Species* (ROS) using a *structure-based drug design* approach through the *molecular docking* method. The results of the docking simulation show that quercetin has a strong and stable affinity for PPAR- γ and DPP-4 receptors, as indicated by low free binding energy values and the formation of important molecular interactions in the form of hydrogen bonds and hydrophobic interactions at the active site of the receptor. Quercetin also shows relevant interactions with ROS-related targets, indicating potential antioxidant activity through inhibition of oxidative stress formation pathways. Based on the binding affinity profile and molecular interaction pattern, quercetin in neem leaves has the potential to have antidiabetic activity through the mechanism of PPAR- γ activation and DPP-4 inhibition, as well as contributing to reducing oxidative stress.

Keywords: *antidiabetic, antioxidant, neem leaf, molecular docking, quercetin.*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan salah satu penyakit degeneratif yang dipicu oleh stres oksidatif, sehingga memicu abnormalitas fungsi fisiologis tubuh. Secara umum, diabetes melitus disebabkan oleh ketidakmampuan sel beta pankreas untuk memproduksi hormon insulin (hormon yang mengatur kadar gula/glukosa) secara normal, atau penyakit yang ditandai dengan penurunan sensitivitas reseptor insulin (Triandita *et al.*, 2016).

Diabetes umumnya terbagi menjadi dua kategori, yaitu diabetes melitus 1 dan 2. Diabetes melitus tipe 1 merupakan penyakit yang diakibatkan oleh kehancuran sel beta pankreas, akibatnya tubuh tidak memproduksi hormon insulin. Sedangkan diabetes melitus tipe 2 adalah diabetes yang disebabkan oleh kurangnya produksi insulin oleh sel beta pankreas, dan berkurangnya sensitivitas reseptor insulin. Data global dan nasional menunjukkan adanya peningkatan jumlah penderita diabetes melitus secara konsisten dalam satu dekade terakhir. World Health Organization melaporkan bahwa jumlah penderita diabetes meningkat dari sekitar 108 juta pada tahun 1980 menjadi lebih dari 422 juta pada tahun 2014, dan diperkirakan terus meningkat. Di Indonesia, prevalensi diabetes melitus meningkat dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018 (Bhatt *et al.*, 2016; Kemenkes, 2018; Adelita *et al.*, 2020). Peningkatan ini menjadi tantangan serius karena diabetes melitus berkontribusi terhadap berbagai komplikasi metabolik dan penyakit degeneratif.

Saat ini, diabetes melitus ditangani dengan pemberian obat-obatan farmakologi pada umumnya menggunakan antidiabetik hormonal dan antidiabetik oral seperti Biguanid, Tiazolidindion, Sulfonilurea, Glinid, SGLT2 Inhibitor, DPP-4 Inhibitor, Alfa Glukosidase Inhibitor dan GLP1-RA. Namun, beberapa keadaan tertentu obat-obatan ini tidak efektif, memiliki banyak efek samping, serta kontra indikasi

pada pasien kondisi khusus. Seperti halnya metformin (Biguanid), berpotensi menyebabkan diabetes nefropati, menyebabkan defisiensi vitamin B12 yang berdampak pada diabetes neuropati, dan juga berpotensi menyebabkan asidosis laktat. Mempertimbangkan hal itu, pemanfaatan obat herbal perlu dipertimbangkan sebagai terapi alternatif.

Ribuan spesies tanaman obat telah dipelajari di Indonesia untuk mengatasi gangguan kesehatan, termasuk mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) yang dikenal dapat menyembuhkan berbagai penyakit (Novitasari *et al.*, 2021). Senyawa bioaktif yang ada pada tanaman mimba antara lain promeliasin, limonoid, azadiron, C-sekomeliasin, vilasinin, gedunin, non-isoprenoid, salanin, nimbin, azadirachtin, flavonoid, polisakarida, asam amino/protein, nimbolida, hiperosida, β -sitosterol, quercitrin serta quercetin. Di antara senyawa tersebut, quercetin dan quercitrin dilaporkan sebagai senyawa utama yang berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis daun mimba, khususnya aktivitas antidiabetes dan antioksidan, sebagaimana dilaporkan dalam berbagai studi fitokimia dan farmakologi (Li'aini, Hendra, & Nyoman, 2021).

Beberapa penelitian eksperimental menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba dan kandungan flavonoidnya mampu menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan sensitivitas insulin, serta menghambat stres oksidatif melalui aktivitas penangkapan radikal bebas. Aktivitas antioksidan ini menjadi relevan karena stres oksidatif diketahui berperan penting dalam patogenesis diabetes melitus dan komplikasinya. Senyawa seperti quercetin, katekin, dan asam askorbat dalam daun mimba dilaporkan mampu menekan pembentukan ROS, sehingga berpotensi memberikan efek protektif terhadap sel β pankreas dan jaringan perifer (Isdadiyanto, Mardiaty, & Sitasiwi, 2021). Namun demikian, hubungan langsung antara

aktivitas antidiabetes, aktivitas antioksidan, dan mekanisme molekuler spesifik dari

Sebagian besar penelitian sebelumnya masih berfokus pada pengujian *in vitro* dan *in vivo*, sehingga informasi mengenai mekanisme molekuler interaksi senyawa quercetin dengan target protein kunci dalam regulasi metabolisme glukosa dan stres oksidatif masih terbatas. Pendekatan *in silico* melalui metode *structure-based drug design* menggunakan *molecular docking* menjadi penting untuk memprediksi afinitas ikatan dan pola interaksi quercetin terhadap target molekuler spesifik. Dalam penelitian ini, PPAR- γ dan DPP-4 dipilih sebagai target utama karena keduanya berperan sentral dalam pengaturan sensitivitas insulin dan homeostasis glukosa, sedangkan target terkait ROS dipilih untuk merepresentasikan jalur stres oksidatif yang berkontribusi terhadap progresivitas diabetes melitus. Hingga saat ini, kajian komputasi yang mengevaluasi quercetin dari daun mimba secara simultan terhadap target-target tersebut masih sangat terbatas, sehingga membuka peluang untuk dilakukan penelitian lebih lanjut (Pratiwi, 2021).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi aktivitas antidiabetes dan antioksidan senyawa quercetin dari daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) melalui analisis interaksi molekuler dengan reseptor PPAR- γ , DPP-4, dan target terkait ROS menggunakan pendekatan *structure-based drug design*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah mengenai mekanisme molekuler quercetin sebagai kandidat agen antidiabetes berbasis bahan alam, serta menjadi landasan bagi pengembangan dan pengujian eksperimental lanjutan.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian dilakukan berdasarkan beberapa tahap yaitu meliputi desain penelitian, preparasi struktur protein target dan ligan, validasi metode *molecular docking*, virtual skrining dan simulasi *molecular docking* senyawa uji, serta analisis dan visualisasi interaksi molekuler.

senyawa aktif utama daun mimba masih belum sepenuhnya dipelajari.

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan studi *in silico* menggunakan pendekatan *structure-based drug design* (SBDD) melalui simulasi *molecular docking* untuk mengevaluasi potensi aktivitas antidiabetes dan antioksidan senyawa quercetin sebagai senyawa aktif utama flavonoid daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.). Studi ini difokuskan pada evaluasi interaksi molekuler quercetin terhadap target protein yang berperan dalam regulasi metabolisme glukosa dan stres oksidatif.

Seluruh simulasi komputasi dilakukan menggunakan komputer dengan spesifikasi prosesor Intel® Core™ i5, RAM 8 GB, dan sistem operasi Windows 10 (64-bit). Perangkat lunak yang digunakan meliputi AutoDock Tools 1.5.6 dan AutoDock 4.2 untuk preparasi dan simulasi docking, ChemDraw untuk pembuatan dan optimasi struktur ligan, serta Discovery Studio Visualizer untuk visualisasi dan analisis interaksi molekuler.

Preparasi Struktur Protein Target dan Ligan

Struktur tiga dimensi protein target diperoleh dari RCSB Protein Data Bank, yaitu *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma* (PPAR- γ , PDB ID: 2GTK), *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4, PDB ID: 4A5S), dan protein target yang terkait dengan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS, PDB ID: 4UXL). Setiap struktur protein dipreparasi dengan menghilangkan ligan ko-kristal dan seluruh molekul air, kemudian ditambahkan atom hidrogen polar serta muatan parsial Kollman menggunakan *AutoDock Tools*. Protein yang telah dipreparasi kemudian disimpan dalam format *.pdbqt* sebelum dilakukan proses docking.

Struktur dua dimensi senyawa quercetin diperoleh dari database PubChem, kemudian dikonversi menjadi struktur tiga dimensi dan dilakukan optimasi geometri menggunakan ChemDraw. Struktur ligan

selanjutnya dipreparasi dengan penambahan atom hidrogen dan penentuan muatan parsial Gasteiger menggunakan *AutoDock Tools*, kemudian disimpan dalam format *.pdbqt*.

Validasi Metode Molecular Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan pendekatan *redocking* terhadap ligan ko-kristal pada masing-masing protein target untuk memastikan keandalan parameter *docking* yang digunakan. Proses *docking* dilakukan menggunakan algoritma *Genetic Algorithm* (GA) dengan jumlah 100 GA runs. Parameter *grid box* ditentukan berdasarkan posisi ligan ko-kristal pada sisi aktif masing-masing protein target, dengan ukuran *grid* yang mencakup seluruh daerah pengikatan aktif. Validasi dianggap memadai apabila konformasi ligan hasil *redocking* menunjukkan kesesuaian posisi dengan ligan ko-kristal.

Virtual Skrining dan Simulasi Molecular Docking Senyawa Uji

Simulasi *molecular docking* senyawa quercetin terhadap reseptor PPAR- γ , DPP-4, dan target terkait ROS dilakukan menggunakan *AutoDock 4.2* dengan parameter yang sama seperti pada tahap validasi. *Docking* difokuskan pada sisi aktif protein target yang telah ditentukan sebelumnya. Konformasi ligan dengan energi ikatan paling rendah dipilih sebagai hasil terbaik untuk dianalisis lebih lanjut.

Analisis dan Visualisasi Interaksi Molekuler

Hasil *docking* dianalisis berdasarkan nilai energi ikatan bebas (*binding free energy*) dan jenis interaksi molekuler yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik, antara quercetin dan residu asam amino kunci pada sisi aktif protein target. Visualisasi dan identifikasi interaksi molekuler dilakukan menggunakan *Discovery Studio Visualizer*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menginterpretasikan *molecular docking* quercetin pada PPAR- γ , DPP-4, dan protein kinase terkait ROS berdasarkan afinitas pengikatan, kesamaan residu asam amino, serta relevansinya terhadap mekanisme antidiabetes dan antioksidan. Pembahasan secara menyeluruh berdasarkan urutan penelitian yang telah dilakukan.

Identifikasi Reseptor dan Senyawa Pemandu

Berdasarkan tabel 1, reseptor yang digunakan dalam penelitian ini meliputi PPAR- γ , DPP-4, dan protein kinase terkait ROS, masing-masing diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) beserta informasi terkait klasifikasi protein, ligan pemandu (*native ligand*), metode penentuan struktur, organisme asal, dan nilai resolusi. Data dari PDB dipilih karena menyediakan struktur protein tiga dimensi yang tervalidasi dan banyak digunakan dalam studi *structure-based drug de*

Tabel 1. Hasil Identifikasi Reseptor dan Senyawa Pemandu

Kode PDB	Reseptor	Klasifikasi	Native Ligand	Metode	Organisme	Resolusi
2GTK	PPAR- γ	Transcription Regulator	Propionic Acid	XRD	Homo Sapiens	2,10 Å
4A5S	DPP-4	Hydrolase	Heterocyclic DPP-4 inhibitor	XRD	Homo Sapiens	1,62 Å
4UXL	Protein kinase	Transferase	PF-06463922	XRD	Homo Sapiens	2,40 Å

Berdasarkan hasil analisa dari Database Protein Data Bank, ketiga reseptor diperoleh menggunakan metode *X-Ray Diffraction*

(XRD), metode ini dianggap lebih baik dibandingkan dengan metode lainnya seperti *nuclear magnetical resonance* (NMR),

karena hasil ekstraksi protein yang dilakukan menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) akan lebih representatif dalam mewakili hal bentuk keadaan aslinya dibandingkan dengan menggunakan *nuclear magnetical resonance* (NMR). Ketiga reseptor juga diperoleh dari organisme *Homo Sapiens* hal ini memungkinkan hasil yang diperoleh akan lebih representatif karena menggunakan reseptor yang berasal dari manusia.

Senyawa pemandu (*native ligand*) pada masing-masing reseptor digunakan untuk mengidentifikasi dan memverifikasi lokasi sisi aktif protein target. Ligan ko-kristal pada struktur PPAR- γ , DPP-4, dan target terkait ROS dipilih karena telah terbukti berinteraksi langsung dengan residu asam amino kunci pada sisi aktif protein. Informasi interaksi ligan pemandu ini digunakan sebagai acuan dalam menentukan posisi *grid box* dan area pengikatan selama simulasi *molecular docking*, sehingga memungkinkan evaluasi afinitas dan pola interaksi quercetin secara lebih akurat dan relevan secara biologis.

Parameter lain yang diperhatikan dalam

pemilihan reseptor adalah nilai resolusi kristalografi, yang mencerminkan tingkat keakuratan struktur protein terhadap kondisi aslinya. Secara umum, struktur protein dengan nilai resolusi $\leq 2,5$ Å dianggap layak dan reliabel untuk studi *molecular docking*. Pada penelitian ini, reseptor DPP-4 memiliki resolusi terbaik (1,62 Å), diikuti oleh PPAR- γ (2,10 Å) dan protein kinase terkait ROS (2,40 Å). Nilai resolusi tersebut menunjukkan bahwa ketiga struktur protein masih berada dalam rentang yang dapat diterima untuk analisis interaksi ligan–reseptor, dengan tingkat kepercayaan tertinggi pada struktur DPP-4 (Gupta, Sharma, & Kumar, 2018).

Hasil Validasi Metode *Molecular Docking*

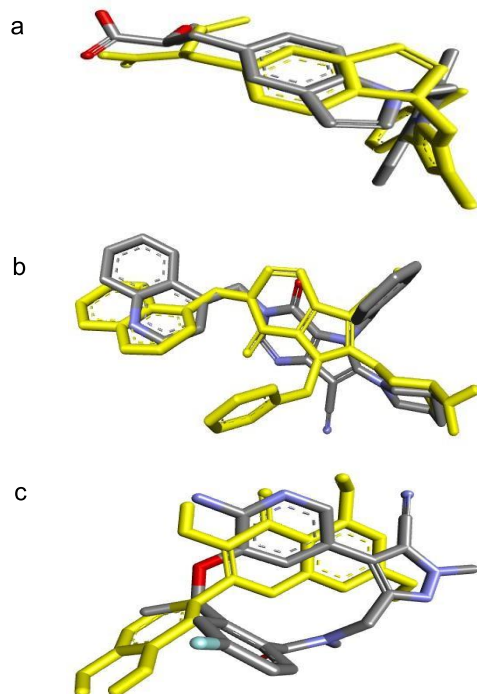
Berdasarkan tabel 2, terdapat reseptor dan resolusi, asam amino *interaction* (*native ligand*), nilai *free energy* serta nilai konstanta inhibisi. Data di bawah juga diketahui untuk nilai RMSD dari ketiga reseptor, yaitu: PPAR-y, DPP-4, dan ROS.

Tabel 2. Hasil Validasi Metode *Molecular Docking*

Reseptor (Resolusi)	Asam Amino Interaction (Native Ligand)	Free Energy (ΔG Gibbs)	Inhibition constant (CI)	RMSD
2GTK (2,10 Å)	SER 289, HIS232, HIS449, ILE281, ARG288, MET348, PHE282, ILE341, LEU330, MET364, CYS285	-10,7 kcal/mol	14,43 nM	1,19 Å
4A5S (1,62 Å)	TYR631, GLU206, TYR662, GLU205, ARG125, TYR547, TRP629, TYR666	-14,77 kcal/mol	14,86 pM	0,48 Å
4UXL (2,40 Å)	MET2029, GLU2027, GLU2030, LEU1951, LEU2026	-6,87 kcal/mol	9,15 μ M	1,522 Å

Hasil validasi metode *docking* yang dilakukan pada tiga reseptor ditekankan pada nilai *Root Mean Standard Deviation* (RMSD) yaitu nilai yang merepresentasikan perbedaan posisi *native ligand* sebelum *didocking* dan setelah *diredocking* (dengan persyaratan <2 Armstrong) (Bissantz, Kuhn, & Stahl, 2010). Data hasil pengujian menunjukkan bahwa

ketiga reseptor PPAR-y, DPP-4, dan protein kinase memiliki hasil yang memenuhi persyaratan dengan nilai RMSD sebesar masing-masing 1,19; 0,48; dan 1,522 seperti yang ditampilkan dalam gambar 1, ditandai dengan warna kuning yang telah dilakukan *re-docking*.



Gambar 1. (a). Validasi *Docking* 2GTK dengan Nilai RMSD 1,19 Å; (b). Validasi *Docking* 4A5S dengan Nilai RMSD 0,48 Å; (c). Validasi *Docking* 4UXL dengan Nilai RMSD 1,522 Å

Hasil validasi metode *docking* diperoleh nilai *free energy binding* untuk ligand *propionic acid* pada reseptor PPAR- γ yaitu -10,7 kcal/mol, dengan nilai konstanta inhibisi sebesar 14,43 nM dan memiliki *hydrogen bonding interaction* pada asam amino SER289 dan *non hydrogen bonding interaction* pada asam amino HIS232, HIS449, ILE281, ARG288, MET348, PHE282, ILE341, LEU330, MET364, dan CYS285. Sedangkan untuk ligand *heterocyclic* DPP-4 inhibitor pada reseptor DPP-4 memiliki nilai *energy binding* -14,77 kcal/mol, konstanta inhibisi 14,86 pM, dan *hydrogen bonding interaction* pada asam amino TYR631, GLU206, TYR662, GLU205, serta *non hydrogen bonding interaction* pada asam amino ARG125, TYR547, TRP269, dan TYR2666. Kemudian untuk ligand PF-06463922 pada protein kinase terkait ROS memiliki nilai *energy binding* -6,87 kcal/mol, konstanta inhibisi 9,15 μ M, dan residu asam amino untuk *hydrogen bonding interaction*

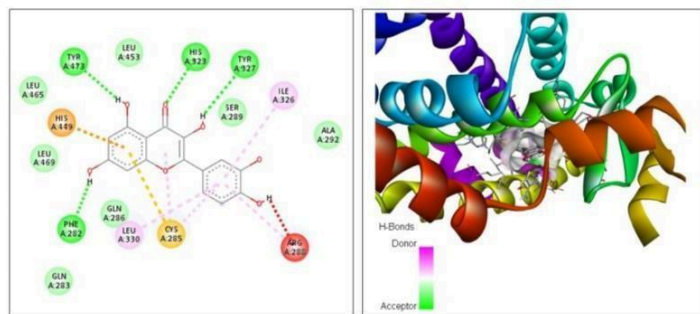
adalah MET2029, dan GLU2027, sedangkan untuk *non hydrogen bonding interaction* pada GLU2030, LEU1951, dan LEU2026. Hasil yang diperoleh ini relatif sesuai dengan hasil yang diperoleh dari penelitian sebelumnya (Kuhn *et al.*, 2006; Sutton *et al.*, 2012; Zou *et al.*, 2015) Nilai-nilai dari hasil ini dijadikan sebagai standar untuk menilai aktivitas antidiabetes dari senyawa quercetin yang diuji pada skrining *molecular docking* (Shivanika *et al.*, 2020).

Hasil Virtual Skrining Senyawa Uji

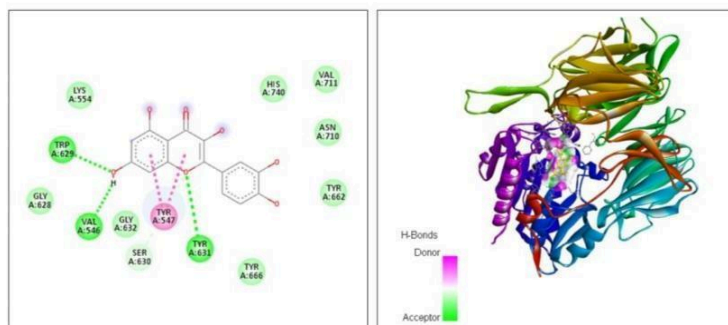
Berdasarkan tabel 3, terdapat kode PDB, interaksi antara quercetin dengan *native ligand*, nilai *free energy binding* serta nilai konstanta inhibisi. Data dibawah juga diketahui untuk *hydrogen bonding interaction* ditandai dengan warna hijau, *non hydrogen bonding interaction* ditandai warna hitam, kemudian untuk warna merah menandai aktif *side* berada di sekitar struktur tapi tidak berinteraksi.

Tabel 3. Hasil Virtual Skrining Senyawa Uji

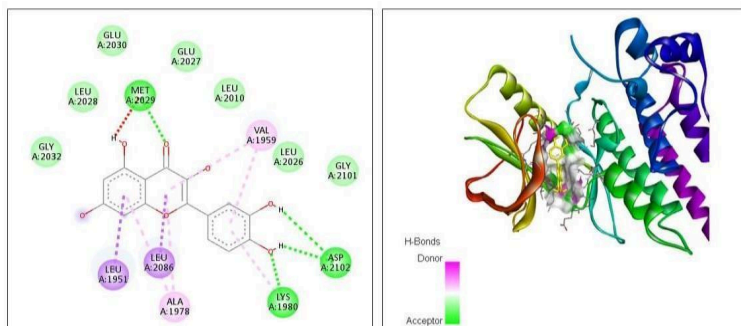
PDB ID	Amino Acid Residue		Free energy (ΔG Gibbs)		Inhibition Constant	
	Quersetin	Native Ligand	Quersetin in	Native Ligand	Quersetin	Native Ligand
2GT K	PHE282, TYR473, HIS323, TYR327, ARG288, ILE326, LEU330, HIS449, CYS285, GLN283, GLN286, LEU469, LEU465, LEU453, SER289, ALA292,	SER 289, HIS232, HIS449, ILE281, ARG288, MET348, PHE282, ILE341, LEU330, MET364, CYS285, GLY284, LEU353, VAL339, GLN286, LEU465, LEU469, TYR473, ILE326, TYR327, SER342, GLU343	-7,36 kcal/mol	-10,7 kcal/mol	4,04 μ M	14,43 nM
4A5 S	TRP629, VAL546, TYR631, TYR547, SER630, HIS740, VAL711, ASN710, TYR662, TYR666, GLY632, GLY628, LYS554	TYR631, GLU206, TYR662, GLU205, ARG125, TYR547, TRP629, TYR666, TYR752, GLY632, ASN710, ASP663, PHE357, SER630, HIS740, LYS554, ASP545, TRP627	-6,69 kcal/mol	-14,77 kcal/mol	12,58 μ M	14,86 pM
4UX L	MET2029, ASP2102, LYS1980, LEU1951, LEU2086, ALA1978, VAL1959, GLY2032, LEU2028, GLU2030, GLU2027, LEU2010, LEU2026, GLY2101,	MET2029, GLU2027, GLU2030, LEU1951, LEU2026, LYS1980, VAL1959, ALA1978, ASN2084, GLY2101, HOH4027, HOH4001, HOH4046, LEU2086, LEU2028, LEU2010, HOH4081, ASP2102, ARG2083, HOH4048, ASP2033, GLY1954, HOH4047, GLY1952, HOH4021, GLY2023	-6,90 kcal/mol	-6,87 kcal/mol	8,75 μ M	9,15 μ M



Gambar 2. Visualisasi Interaksi antara Quersetin dan *Reseptor peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR-y)



Gambar 3. Visualisasi Interaksi antara Quersetin dan *Reseptor Dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4)



Gambar 4. Visualisasi Interaksi antara Quersetin dan Protein kinase terkait ROS

Proses optimasi struktur dilakukan dengan meminimalisir energi untuk menjadikan *ligand* lebih stabil mendekati keadaan awal selama penambatan molekuler berlangsung. *Merck Molecular 2 Force Field* (MM2FF) adalah salah satu jenis persamaan minimalisasi energi yang sering digunakan pada senyawa organik. Minimalisasi energi MM2 juga dapat mengidentifikasi lebih dari satu konformasi molekuler yang stabil.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, diketahui bahwa *energy binding* quercetin pada ketiga reseptor memiliki nilai -7,36,

-6,69, dan -6,90 kcal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa quercetin memiliki aktivitas yang poten pada ketiga reseptor dinilai dari *energy binding* yang diperoleh pada ketiganya yaitu <-6 kcal/mol, yang dalam hal ini dapat dikatakan poten sebagai modulator atau inhibitor (Luo *et al.*, 2018), namun jika dibandingkan dengan *native ligand/lead compound*, pada reseptor PPAR-y dan DPP-4 *native ligand* memiliki nilai *energy binding* yang lebih rendah yaitu masing-masing -10,7, dan -14,77 kcal/mol. Sementara perbedaan nilai *energy binding*

antara quercetin dan *native ligand* pada protein kinase terkait ROS relatif kecil, sehingga tidak dapat diinterpretasikan sebagai perbedaan afinitas yang signifikan apabila hanya ditinjau berdasarkan skor docking. Oleh karena itu, evaluasi potensi aktivitas quercetin pada target ini lebih ditekankan pada kesamaan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi ligan–reseptor.

Nilai *free energy binding* yang semakin kecil mendeskripsikan energi aktivasi yang semakin rendah, untuk itu potensi interaksi antara senyawa dengan reseptor semakin cepat berlangsung (*Spontan Reaction*) (Menzinger & Wolfgang, 1969; Muchtaridi, 2017; Seeliger & de Groot, 2010). Dinilai dari data konstanta inhibisi, quercetin masih memiliki nilai yang lebih besar dibandingkan *native ligand* pada reseptor PPAR- γ dan DPP-4, namun pada protein kinase terkait ROS, quercetin memiliki nilai yang lebih baik (8,75 μ M) karena nilai yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan *native ligand* (9,15 μ M). Nilai ini merepresentasikan kapasitas senyawa dalam menginhibisi reseptor ataupun enzim, dimana nilai yang relatif rendah dianggap memiliki kekuatan yang besar karena cukup dengan konsentrasi yang rendah suatu senyawa memiliki kapasitas inhibisi yang besar (Chou, 1974).

Selain mempertimbangkan nilai energi dan konstanta inhibisi, salah satu parameter penentu aktivitas suatu senyawa itu dinilai dari interaksi antara struktur senyawa uji dengan asam amino pada reseptor. Senyawa quercetin diketahui memiliki empat kesamaan interaksi dengan *native ligand* pada reseptor PPAR- γ , satu diantaranya adalah *hydrogen bonding interaction* yaitu pada asam amino HIS323 yang berinteraksi dengan gugus karbonil (C=O) dari struktur quercetin (Gambar 2). Pada reseptor DPP-4, hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa quercetin memiliki tiga asam amino yang sama dengan *native ligand*, 2 diantaranya adalah *hydrogen bonding interaction* TRP629 dan TYR631 yang masing-masing berinteraksi dengan gugus hidroksi dan benzopiran pada struktur quercetin (Gambar 3). Sedangkan pada protein kinase terkait

ROS, quercetin memiliki dua interaksi yang sama dengan *native ligand* yaitu pada asam amino MET2029 (*Hydrogen Bonding Interaction*) dan LEU1951 (*Non-Hydrogen Bonding Interaction*). *Hydrogen bonding interaction* memiliki sifat interaksi yang reversibel dan relatif lebih kuat dibandingkan jenis interaksi lainnya (Gambar 4) (Matta *et al.*, 2005).

Kesamaan interaksi yang dimiliki oleh senyawa uji dengan *native ligand* menggambarkan aktivitas yang sama dalam berikatan pada reseptor, interaksi yang terjadi dari kedua senyawa pada kantung aktif reseptor dapat bersifat inhibitor atau aktivator pada masing-masing reseptor (Fauzi *et al.*, 2019; Muchtaridi *et al.*, 2017). Hasil ini menunjukkan bahwa pada reseptor PPAR- γ , quercetin dapat berperan sebagai *activator* gen PPAR- γ yang pada regulasinya dapat menginduksi GLUT2 dan GLUT 4 yang pada mekanismenya mampu memberikan efek peningkatan transport gula dari darah menuju sel sehingga mampu mengontrol kadar gula dalam darah.

Hasil dari pengujian ini juga menunjukkan bahwa kapabilitas quercetin sebagai antidiabetes melitus terjadi melalui efek penghambatan pada reseptor DPP-4, yang dalam hal ini diketahui mampu mencegah penguraian *hormone increatin* yang dimediasi oleh enzim DPP-4, sehingga kadar *hormone increatin* dapat dipertahankan. *Hormone increatin* diketahui mampu memicu atau memberikan sinyal pada pelepasan hormon insulin untuk mengontrol kadar gula darah. Di samping memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, quercetin juga didapati memiliki aktivitas penghambatan pada ROS, yaitu spesies oksigen radikal yang dapat memicu stres oksidatif yang merupakan faktor utama terbentuknya penyakit degeneratif termasuk diabetes melitus (Roslan *et al.* 2017).

KESIMPULAN

Quercetin menunjukkan potensi aktivitas pada tiga target reseptor terkait diabetes dan stres oksidatif dengan nilai afinitas yang baik berdasarkan hasil virtual screening. Pada PPAR- γ , quercetin memiliki

ΔG $-7,36$ kcal/mol dan K_i $4,04$ μM , sedangkan pada DPP-4 menunjukkan ΔG $-6,69$ kcal/mol dan K_i $12,58$ μM , yang mendukung potensi peningkatan pengambilan glukosa dan pemeliharaan kadar hormon incretin. Sementara itu, pada protein kinase terkait ROS, quercetin memiliki ΔG $-6,90$ kcal/mol dan K_i $8,75$ μM , menunjukkan potensi modulasi stres oksidatif yang relevan dalam pencegahan komplikasi diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan apresiasi dan terima kasih kepada Program Studi S1 Farmasi Universitas Sebelas Maret (UNS) serta Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN) atas dukungan dan fasilitas yang diberikan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelita, M., Arto, K. S., & Deliana, M. (2020) 'Kontrol Metabolik pada Diabetes Melitus Tipe-1', *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(3): 227–232. <https://doi.org/10.55175/cdk.v47i3.360>.
- Bhatt, H., Saklani, S., & Upadhayay, K. (2016) 'Anti-oxidant and anti-diabetic activities of ethanolic extract of *Primula Denticulata* Flowers', *Indonesian Journal of Pharmacy*, 27(2): 74–79. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm27iss2pp74>.
- Bissantz, C., Kuhn, B., & Stahl, M. (2010) 'A Medicinal Chemist's Guide To Molecular Interactions', *Journal Of Medicinal Chemistry*, 53(14): 5061–5084. <https://doi.org/10.1021/jm100112j>.
- Chou, T.-C. (1974) 'Relationships Between Inhibition Constants And Fractional Inhibition In Enzyme-Catalyzed Reactions With Different Numbers Of Reactants, Different Reaction Mechanisms, and Different Types And Mechanisms Of Inhibition', *Molecular Pharmacology*, 10(2): 235–247. [https://doi.org/10.1016/S0026895X\(25\)13852-2](https://doi.org/10.1016/S0026895X(25)13852-2).
- Fauzi, M., Cahyati., & Rusdin, A. (2019) 'Determination of Potential Compounds from Watermelon (*Citrullus lanatus*) as a Candidate for Dyslipidemia', *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 10(1): 42–50. <https://doi.org/10.52434/jfb.v10i1>.
- Gupta, M., Sharma, R., & Kumar, A. (2018) 'Docking Techniques In Pharmacology: How Much Promising?', *Computational Biology And Chemistry*, 76: 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.06.005>.
- Isdadiyanto, S., Mardiaty, S. M., & Sitasiwi, A. J. (2021) 'Kadar Apoprotein A dan Apoprotein B Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang diinduksi Pakan Tinggi Lemak Setelah diberi Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*)', *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 6(1): 49–55. <https://doi.org/10.14710/baf.6.1.2021>.
- Kemenkes, R. (2018) *Hari Diabetes Sedunia Tahun 2018*. Jakarta: Pusat Data Dan Informasi Kementerian Kesehatan RI, 1–8.
- Kuhn, B., Hilpert, H., Benz, J., Binggeli, A., Grether, U., Humm, R., Mohr, P. (2006) 'Structure-Based Design Of Indole Propionic Acids As Novel PPAR- α/γ Co-Agonists', *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 16(15): 4016–4020. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.05.007>.
- Li'aini, A. S., Hendra, W. I. P. A., & Nyoman, L. I. (2021) 'Karakterisasi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta Indica* A. Juss) dari Desa Jagaraga, Kecamatan Sawan, Kabupaten Buleleng Bali', *Buletin Plasma Nutrafah*, 27(1): 51–56. <https://doi.org/10.21082/blpn.v27n1.2021.p51-56>.
- Luo, H., Fokoue-Nkoutche, A., Singh, N., Yang, L., Hu, J., & Zhang, P. (2018) 'Molecular Docking For Prediction and Interpretation of Adverse Drug Reactions', *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 21(5): 314–322.

- <https://doi.org/10.2174/1386207321666180524110013>.
- Matta, C. F., Hernández-Trujillo, J., Tang, T., & Bader, R. F. W. (2003) 'Hydrogen-Hydrogen Bonding: A Stabilizing Interaction In Molecules And Crystals', *Chemistry-A European Journal*, 9(9): 1940-1951. <https://doi.org/10.1002/chem.200204626>.
- Menzinger, M., & Wolfgang, R. (1969) 'The Meaning And Use Of The Arrhenius Activation Energy', *Angewandte Chemie International Edition In English*, 8(6): 438-444. <https://doi.org/10.1002/anie.196904381>.
- Muchtaridi, M., Syahidah, H. N., Subarnas, A., Yusuf, M., Bryant, S. D., & Langer, T. (2017) 'Molecular Docking And 3D-Pharmacophore Modeling To Study The Interactions Of Chalcone Derivatives With Estrogen Receptor Alpha', *Pharmaceuticals*, 10(4): 81. <https://doi.org/10.3390/ph10040081>.
- Novitasari, P. R., Gemantari, B. M., Mufidah, S., & Sari, P. A. K. (2021) 'Potential Effects Of Neem Plants (*Azadirachta Indica* A. Juss.) As Antidiabetic', *Journal Of Food And Pharmaceutical Sciences*, 9(2): 422-430. <https://doi.org/10.22146/Jfaps.1938>.
- Pratiwi, D. (2021) 'Studi Molecular Docking Senyawa dari Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata* Linn.) sebagai Antidiabetes pada Reseptor PPAR- γ ', *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(1), 61-65. <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v8i1.533>.
- Roslan, J., Giribabu, N., Karim, K., & Salleh, N. (2017) 'Quercetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the heart of streptozotocin-nicotinamide-induced adult male diabetic rats', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 86: 570-582. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.044>.
- Seeliger, D., & De Groot, B. L. (2010) 'Ligand Docking And Binding Site Analysis With Pymol And Autodock/Vina', *Journal Of Computer-Aided Molecular Design*, 24(5): 417-422. <https://doi.org/10.1007/s10822-010-9352-6>.
- Shivanika, C., Kumar, D., Ragunathan, V., Tiwari, P., & Sumitha, A. (2020) 'Molecular Docking, Validation, Dynamics Simulations, And Pharmacokinetic Prediction Of Natural Compounds Against The Sars-Cov-2 Main-Protease', *Journal Of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(2): 585-611. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1815584>.
- Sutton, J. M., Clark, D. E., Dunsdon, S. J., Fenton, G., Fillmore, A., Harris, N. V, Mackenzie, R. E. (2012) 'Novel Heterocyclic Dpp-4 Inhibitors For The Treatment Of Type 2 Diabetes', *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22(3): 1464-1468. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2011.11.054>.
- Triandita, N., R. Zakaria, F., Prangdimurti, E., & Eska Putri, N. (2016) 'Perbaikan Status Antioksidan Penderita Diabetes Tipe 2 Dengan Tahu Kedelai Hitam Kaya Serat', *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 27(2): 123-130. <https://doi.org/10.6066/jtip.2016.27.2.123>.
- Zou, H. Y., Li, Q., Engstrom, L. D., West, M., Appleman, V., Wong, K. A., Brooun, A. (2015) 'PF-06463922 Is A Potent And Selective Next-Generation Ros1/Alk Inhibitor Capable Of Blocking Crizotinib-Resistant Ros1 Mutations', *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 112(11): 3493-3498. <https://doi.org/10.1073/pnas.1420785112>.