



## ***In Silico Study of Aglycon Curculigoside A and Its Derivatives as $\alpha$ -Amilase Inhibitors***

**Nursamsiar<sup>1\*</sup>, Maya M. Mangande<sup>1</sup>, Akbar Awaluddin<sup>1</sup>, Syamsu Nur<sup>1</sup> dan Aiyi Asnawi<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, South Sulawesi - Indonesia

<sup>2</sup>Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, West Java - Indonesia

Submitted 09 August 2019; Revised 24 January 2020; Accepted 27 January 2020; Published 03 February 2020

\*Corresponding author: n.siar@yahoo.co.id

### **Abstract**

$\alpha$ -amilase is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of starch polysaccharides into oligosaccharides to then produce glucose. Inhibitions of the  $\alpha$ -amylase enzyme is an effective strategy in modulating blood sugar levels in diabetes. The aglycon curculigoside A has similar structure to chalcon which is able to inhibit the  $\alpha$ -amilase enzyme for the treatment of type 2 diabetes. The aim of this study was to determine the interaction of the curculigoside A aglycone compound and its derivatives with the  $\alpha$ -amylase enzyme by using the molecular docking simulation method. It was carried out by using AutoDock 4.2 and  $\alpha$ -amilase protein (PDB ID: 1B2Y) as macro molecule. The molecular docking results showed that the aglycone curculigoside A and its derivatives able to interacted into the active site of the  $\alpha$ -amylase enzyme. Three best ligands according to the simulation and prediction tests were compound 10, compound 23, and compound 41 has formed hydrogen bonding to Asp197, Glu233 and Asp300 residues with free bonding energy of -7.29, -7.22, and -7.84 kcal/mol, respectively. In conclusion, three best ligands has the same pattern of hydrogen bonds to the native ligand AC1 (6-methyl-5-(4,5,6-trihydroxy-3-hydroxymethyl-cyclohex-2-enylamino)-tetrahydro-pyran-2,3,4-triol) via amino acids redissues of  $\alpha$ -amylase that play a role in the substrate by hydrolysis process.

**Keywords:** aglycon curculigoside A,  $\alpha$ -amilase, diabetes, docking

## **Studi In Silico Aglikon Kurkuligosida A dan Turunannya sebagai Inhibitor $\alpha$ -Amilase**

### **Abstrak**

$\alpha$ -amilase merupakan enzim yang mengkatalisis hidrolisis polisakarida pati menjadi oligosakarida untuk kemudian dicerna lebih lanjut menghasilkan glukosa. Penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase menjadi strategi yang efektif dalam memodulasi kadar gula darah penderita diabetes. Aglikon kurkuligosida A memiliki struktur yang mirip dengan kalkon yang mampu menghambat enzim  $\alpha$ - amilase untuk pengobatan diabetes tipe 2. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan interaksi antara senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya terhadap enzim  $\alpha$ -amilase menggunakan metode simulasi penambatan molekul. Simulasi penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan program AutoDock 4.2 dan protein  $\alpha$ - amilase (PDB ID: 1B2Y) sebagai makromolekul. Hasil penambatan molekul menunjukkan semua senyawa dapat berinteraksi dengan sisi aktif enzim  $\alpha$ - amilase. Tiga interaksi terbaik ditunjukkan oleh senyawa 10, senyawa 23 dan 41 dengan nilai energi bebas ikatan berturut-turut adalah -7,29; -7,22; dan -7,84 kkal/mol. Ketiga senyawa terbaik memiliki interaksi dengan sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase dengan residu asam amino penting yaitu Asp197, Glu233, dan Asp300 yang berperan dalam proses hidrolisis substrat polimerik seperti pati. Semua senyawa turunan aglikon kurkuligosida A yang diuji juga memiliki pola pengikatan yang mirip dengan interaksi ligan alami AC1 (6-metil-5-(4,5,6-trihidroksi-3-hidroksimetil-siklohex-2-enilamino)-tetrahidro-pyran-2,3,4-triol) dengan residu asam amino penting pada enzim  $\alpha$ -amilase.

**Kata Kunci:** aglikon kurkuligosida A,  $\alpha$ -amilase, diabetes, penambatan molekul

## 1. Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit tidak menular yang paling umum terjadi secara global. International Diabetes Federation (IDF) memperkirakan 1 dari 11 orang dewasa usia 20–79 tahun menderita diabetes. Indonesia menempati peringkat ke-6 di dunia dengan jumlah penderita 10,3 miliar dan diprediksi akan mengalami peningkatan pada tahun 2045 sebanyak 16,7 miliar.<sup>1</sup> Diabetes mellitus merupakan penyakit gangguan metabolismik menahun akibat pankreas tidak cukup memproduksi insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Akibatnya terjadi peningkatan konsentrasi glukosa darah (hiperglikemia). DM dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 2 terjadi pada 90% dari semua kasus diabetes dan lebih disebabkan karena gaya hidup penderita diabetes, lingkungan dan faktor genetik.<sup>2</sup>

Salah satu strategi terapi untuk pengobatan DM tipe 2 adalah dengan memperlambat penyerapan glukosa melalui penghambatan enzim  $\alpha$ -amilase. Penghambatan enzim ini menunda pencernaan karbohidrat dan memperpanjang waktu pencernaan karbohidrat secara keseluruhan, menyebabkan penurunan penyerapan laju glukosa dan akibatnya mengurangi tingkat glukosa plasma postprandial.<sup>3</sup>  $\alpha$ -Amilase (*alpha-1,4glucan-4-glucanohydrolase*) adalah katalisator yang menghidrolisis alfa-1,4-glikosidik polisakarida pati menjadi oligosakarida untuk kemudian dicerna lebih lanjut menghasilkan glukosa. Agar dapat diserap oleh tubuh, pati akan dihidrolisis menjadi oligosakarida sederhana. Jika terjadi aktivitas enzim  $\alpha$ -amilase dan defisiensi insulin atau resistensi terhadap insulin, tingkat glukosa darah akan terus meningkat sehingga menyebabkan DM tipe 2.<sup>4</sup> Penghambatan enzim ini menunda dan memperpanjang waktu pencernaan karbohidrat secara keseluruhan, menyebabkan penurunan penyerapan laju glukosa dan akibatnya mengurangi tingkat glukosa plasma postprandial.<sup>3</sup> Penelitian mengenai senyawa kalkon dan bis-kalkon<sup>5</sup> menunjukkan bahwa senyawa tersebut

memiliki aktivitas penghambatan yang baik terhadap enzim  $\alpha$ -amilase dengan nilai IC<sub>50</sub> =  $1,25 \pm 1,05$  sampai  $2,40 \pm 0,09$   $\mu\text{M}$ . Selain itu, *in silico* senyawa trans-kalkon berupa struktur inti bifenolik dari prekursor flavonoid diuji aktivitas penghambatannya terhadap  $\alpha$ -amilase, dapat berinteraksi dengan sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase melalui ikatan hidrogen dengan residu asam amino Tyr62 dan Trp59.<sup>6</sup>

Kurkuligosida A merupakan senyawa glikosida benzilbenzoat yang termasuk dalam family glikosida kalkon yang diisolasi dari rimpang Curculigo orchoides.<sup>7</sup> Susindran (2014) melaporkan bahwa ekstrak etanol rimpang Curculigo orchoides (dosis 300mg/kg berat badan) meningkatkan aktivitas enzim seperti superoksid dismutase (SOD), mengurangi glutathione (GSH), katalase (CAT), dan lipid peroksida (LPO) pada tikus. Senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya memiliki kemiripan struktur dengan senyawa kalkon. Menurut Johnson dan Maggiora (1990) dalam Qomariyah dkk (2016), senyawa yang memiliki struktur kimia yang mirip akan memiliki sifat biologis yang mirip pula dan akan cenderung mengikat protein yang sama.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk memodelkan interaksi antara senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya dengan enzim  $\alpha$ -amilase. Metode *molecular* penambatan molekul digunakan dikarenakan dapat memberi gambaran awal untuk kandidat senyawa kurkuligosida A dan turunannya yang berpotensi sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -amilase.

## 2. Metode

### 2.1. Piranti lunak dan keras

ChemOffice 8.0 ([www.cambridgesoft.com](http://www.cambridgesoft.com)) dan HyperChem 8.07 release for Windows (Hypercube Inc.) digunakan di Laboratorium Kimia Komputasi, Sekolah Farmasi ITB, Bandung. Untuk menguji interaksi ligan dan protein digunakan AutoDock 4.2 dan Discover Studio Visualizer v4.5.0. Spesifikasi perangkat keras yang digunakan adalah Windows 7, 64 bits sebagai OS; prosesor Intel Core i3-2330 2,2 Ghz, RAM 2GB 1067 MHz DDR3.

## 2.2. Ligan dan protein

Bahan-bahan yang digunakan yaitu struktur 3D ligand binding domain (LBD) enzim  $\alpha$ -amilase (PDB ID : 1B2Y) yang diperoleh dari basis data online Protein Data Bank ([www.pdb.org](http://www.pdb.org)) dan senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya.

## 2.3. Persiapan ligan

Ligan yang digunakan yaitu senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya sebanyak 57 senyawa. Ligan dibangun dengan membuat struktur 2D dengan menggunakan program ChemDraw Ultra 8.0 dalam paket program ChemOffice v.8.0 kemudian dikonversi menjadi format file \*.mol dengan menggunakan Chem3D v.8.0. Struktur ligan 3D tersebut selanjutnya dioptimasi geometri dengan metode semi empirik Austin Model 1 (AM1) menggunakan program HyperChem Release v8.07. dan disimpan dalam format file PDB.

## 2.4. Persiapan reseptor $\alpha$ -amilase

Makromolekul  $\alpha$ -amilase pankreas manusia yang berisi 6-metil-5-(4,5,6-trihidroksi-3-hidroksimetil-sikloheks-2-enilamino)-tetrahidro-piran-2,3,4-triol sebagai ligan alami (PDB: 1B2Y) diunduh dari situs protein data bank (PDB) yaitu [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org). Struktur protein ditampilkan pada paket program Discover Studio Visualizer v4.5. kemudian dipisahkan dari molekul air serta ligan alaminya lalu disimpan dalam format file \*.pdb yang diperlakukan sebagai reseptor.

## 2.5. Validasi metode penambatan molekul

Validasi metode penambatan molekul

dilakukan dengan penambatan molekul ulang ligan alami ke dalam sisi aktif reseptornya. Ukuran grid box adalah (40 x 40 x 40) poin (1 poin: 0,365 Å) dengan koordinat grid box (x,y,z) berturut-turut adalah 18,427 Å; 8,939 Å; dan 48,997 Å. Validitas parameter metode penambatan molekul dievaluasi berdasarkan nilai RMSD (*root mean square deviation*). Validasi metode penambatan molekul dinyatakan valid jika nilai RMSD lebih kecil dari 2,0 Å<sup>10</sup>.

## 2.6. Simulasi penambatan molekul

Senyawa Uji selanjutnya ditambahkan ke dalam sisi aktif reseptor dengan grid box dan koordinat yang sama pada saat validasi parameter metode penambatan molekul. Penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan program Autodock tools 1.5.6 dengan format file \*.pdbqt. Hasil analisis berupa energi bebas ikatan, ikatan hidrogen, dan pola pengikatan dengan residu asam amino lain pada sisi aktif reseptor.

## 3. Hasil

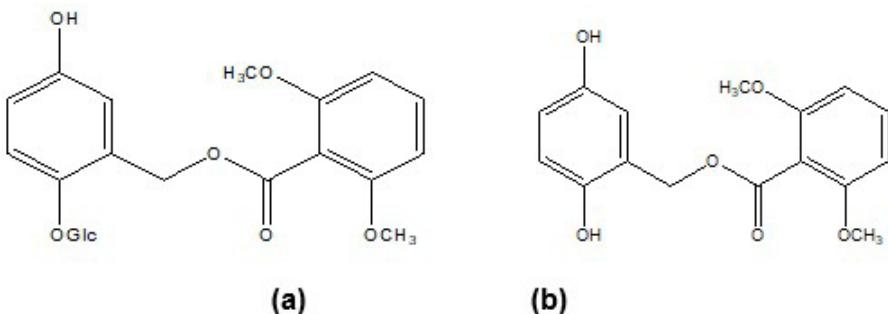
Hasil validasi parameter metode penambatan molekul melalui penambatan molekul ulang ligan alami (AC1) ke dalam sisi aktif resptor, Parameter metode penambatan molekul dipilih dengan jumlah run 50 dengan grid box (40 x 40 x 40) poin dan koordinat grid box (x,y,z) 18,427 Å, 8,939 Å, 48,997 Å (Tabel 1),

Setelah dilakukan validasi parameter metode penambatan molekul, lalu dilakukan penambatan molekul senyawa aglikon kurkuligosida A dan turunannya pada sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase.

Ligan yang digunakan dalam penelitian

**Tabel 1.** Hasil validasi docking

Ligan Alami	ED (kkal/mol)	Ki (nM)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino
6-Metil-5-(4,5,6-Trihidroksi-3-Hidroksimetil-Sikloheks-2-enilamino)-Tetrahidro-Piran-2,3,4-Triol	-9,14	199,58	0,73	Trp58, Tyr62, Asn100, His101, Asn137, Tyr151, Arg158, Asp167, Arg195, Asp197, Ala198, His201, Glu233, Ile235, Thr254, Asn298, His299, Asp300, Gly306, Arg337



**Gambar 1.** Struktur Kurkuligosida A (a) dan Aglikon kurkuligosida A (b)

adalah 57 senyawa turunan aglikon kurkuligosida A hasil modifikasi. Energi bebas ikatan (ED) yang diamati merupakan energi interaksi dari ikatan ligan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase. Hasil penambatan molekul senyawa uji menunjukkan semua senyawa dapat berinteraksi dengan sisi aktif reseptor yang ditandai dengan nilai energi bebas ikatan yang bernilai negatif (Tabel 2).

#### 4. Pembahasan

Penambatan molekul digunakan untuk mengetahui interaksi ligan dengan makromolekul karena kemampuan untuk memprediksi dengan tingkat akurasi tinggi dan konformasi ligan dalam situs pengikatan target yang tepat.<sup>11</sup> Pemilihan protein target yang digunakan yakni enzim  $\alpha$ -amylase pankreas manusia (HPA) dengan kode PDB 1B2Y yang tersedia pada Protein Data Bank (rcsb.pdb). Kode PDB ini dipilih karena metode pengukuran menggunakan difraksi sinar-X walaupun dengan resolusi agak rendah 3.2 Å tetapi cukup memenuhi untuk pengujian secara *in silico*. Struktur enzim  $\alpha$ -amilase dideterminasi menggunakan teknik difraksi sinar-X dan enzim ini ditemukan terdiri dari tiga domain struktural. Domain

terbesar yaitu domain A yang membentuk paralel sentral beruntai delapan yang salah satu ujungnya merupakan sisi aktif enzim dengan residu asam amino Asp197, Glu233, dan Asp300.<sup>12</sup>

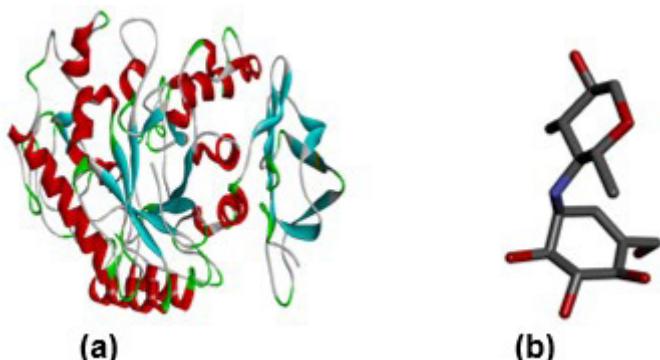
#### 4.1. Validasi metode penambatan molekul

Proses validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan cara penambatan molekul ulang ligan alami pada sisi aktif reseptor (PDB ID : 1B2Y). Parameter tahap validasi ini dilihat berdasarkan *Root Mean Squared Deviation* (RMSD). RMSD yang kurang dari 2 Å menunjukkan parameter metode penambatan molekul yang digunakan memberikan hasil yang lebih mendekati hasil eksperimental.

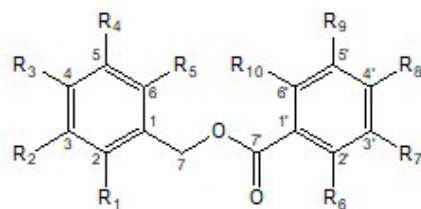
Dari hasil validasi diperoleh nilai RMSD 0,73 Å yang berarti parameter metode penambatan molekul yang digunakan memenuhi syarat. RMSD yang semakin kecil menunjukkan posisi ligan hasil penambatan molekul ulang yang semakin mendekati posisi ligan hasil kristalografi.<sup>13</sup>

#### 4.2. Penambatan molekul senyawa

Proses penambatan molekul terhadap  
57 senyawa turunan aglikon kurkuligosida



**Gambar 2.** Struktur enzim  $\alpha$ -amylase (a) dan ligan alami (AC1) (b)

**Tabel 2.** Senyawa turunan aglikon kurkuligosida A dan nilai energi bebas ikatan ligan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase

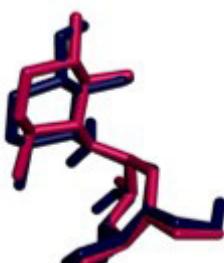
No.	Senyawa	Subtituen										ED (Kkal/mol)	Ki ( $\mu$ M)
		R1	R2	R3	R4	R6	R7	R8	R9	R10			
1	Ligan Alami											-9,14	0,199
2	Senyawa 1	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-5,55	84,96	
3	Senyawa 2	H	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-6,12	32,91	
4	Senyawa 3	H	OH	H	OH	H	OH	H	OH	H	-6,66	13,06	
5	Senyawa 4	OH	H	H	OH	H	OH	H	OH	H	-6,66	13,12	
6	Senyawa 5	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-5,99	40,38	
7	Senyawa 6	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,26	25,96	
8	Senyawa 7	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-6,30	24,17	
9	Senyawa 8	OH	Cl	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,81	10,28	
10	Senyawa 9	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,46	18,41	
11	Senyawa 10	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl	OCH <sub>3</sub>	-7,29	4,57	
12	Senyawa 11	OH	Cl	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-6,12	32,62	
13	Senyawa 12	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	Cl	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-5,91	46,66	
14	Senyawa 13	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	Cl	OCH <sub>3</sub>	-6,04	37,07	
15	Senyawa 14	OH	Cl	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,44	19,18	
16	Senyawa 15	OH	CF <sub>3</sub>	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-5,41	107,44	
17	Senyawa 16	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-5,66	70,98	
18	Senyawa 17	OH	CF <sub>3</sub>	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,18	29,47	
19	Senyawa 18	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>3</sub>	-6,00	39,77	
20	Senyawa 19	OH	CF <sub>3</sub>	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,00	39,76	
21	Senyawa 20	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-5,89	48,39	
22	Senyawa 21	OH	CF <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	-6,88	9,00	
23	Senyawa 22	OH	H	H	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	-5,76	59,98	
24	Senyawa 23	OH	H	Cl	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	-7,22	5,14	
25	Senyawa 24	OH	CF <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	Cl	H	OCH <sub>3</sub>	-6,37	21,35	
26	Senyawa 25	OH	H	NO <sub>2</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	-6,48	17,81	
27	Senyawa 26	OH	H	NO <sub>2</sub>	OH	H	H	NO <sub>2</sub>	H	H	-6,94	8,22	
28	Senyawa 27	H	OH	NO <sub>2</sub>	OH	H	OH	NO <sub>2</sub>	OH	H	-5,96	42,60	
29	Senyawa 28	OH	H	H	OH	H	H	NO <sub>2</sub>	H	H	-7,11	6,14	
30	Senyawa 29	OH	H	H	OH	H	OH	NO <sub>2</sub>	OH	H	-6,69	12,37	
31	Senyawa 30	H	OH	H	OH	H	NO <sub>2</sub>	H	H	H	-7,13	5,96	
32	Senyawa 31	H	OH	H	OH	H	NO <sub>2</sub>	H	NO <sub>2</sub>	H	-6,95	8,08	
33	Senyawa 32	H	OH	H	OH	Cl	H	H	H	H	-6,80	10,32	
34	Senyawa 33	H	OH	H	OH	H	Cl	H	H	H	-6,93	8,29	
35	Senyawa 34	H	OH	H	OH	H	H	Cl	H	H	-6,94	8,15	

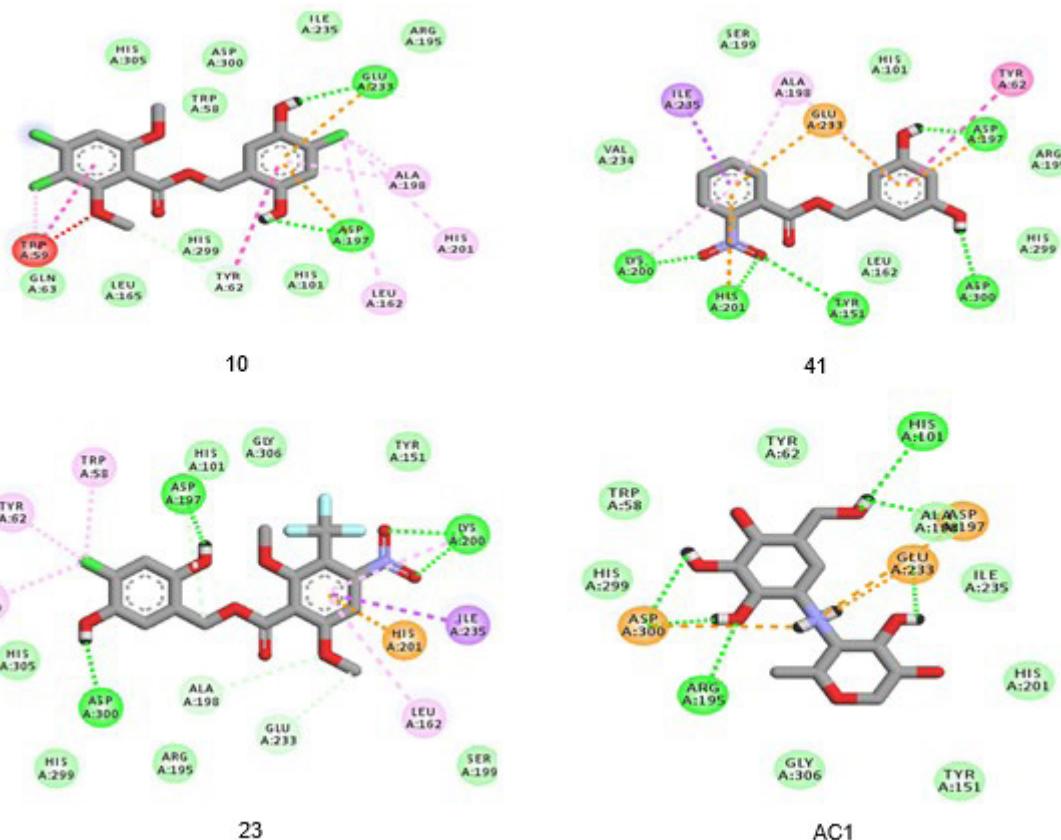
**Tabel 2.** Senyawa turunan aglikon kurkuligosida A dan nilai energi bebas ikatan ligan terhadap enzim  $\alpha$ -amilase (lanjutan)

No.	Senyawa	Subtituen										ED (Kkal/mol)	Ki ( $\mu$ M)
		R1	R2	R3	R4	R6	R7	R8	R9	R10			
36	Senyawa 35	H	OH	H	OH	H	H	Br	H	H	-6,80	10,35	
37	Senyawa 36	H	OH	H	OH	H	H	H	Br	H	-7,08	6,44	
38	Senyawa 37	H	OH	H	OH	F	H	H	H	H	-6,20	28,60	
39	Senyawa 38	H	OH	H	OH	H	H	F	H	H	-6,32	23,17	
40	Senyawa 39	H	OH	H	OH	H	H	$\text{NO}_2$	H	H	-6,84	9,75	
41	Senyawa 40	H	OH	H	OH	H	H	$\text{CF}_3$	H	H	-6,47	18,07	
42	Senyawa 41	H	OH	H	OH	$\text{NO}_2$	H	H	H	H	-7,84	1,78	
43	Senyawa 42	H	OH	H	OH	H	H	$\text{C}_2\text{H}_5$	H	H	-6,66	13,04	
44	Senyawa 43	H	OH	H	OH	H	H	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	H	H	-7,27	4,71	
45	Senyawa 44	H	H	OH	H	$\text{OCH}_3$	H	H	H	$\text{OCH}_3$	-6,52	16,56	
46	Senyawa 45	H	H	OH	H	Cl	H	H	H	H	-6,15	31,08	
47	Senyawa 46	H	H	OH	H	H	H	H	Cl	H	-6,33	22,75	
48	Senyawa 47	H	H	OH	H	H	H	Cl	H	H	-6,29	24,64	
49	Senyawa 48	H	H	OH	H	H	H	Br	H	H	-6,66	13,11	
50	Senyawa 49	H	H	OH	H	H	H	H	Br	H	-6,57	15,39	
51	Senyawa 50	H	H	OH	H	F	H	H	H	H	-6,19	28,96	
52	Senyawa 51	H	H	OH	H	H	H	F	H	H	-6,08	34,65	
53	Senyawa 52	H	H	OH	H	H	H	$\text{NO}_2$	H	H	-6,62	13,99	
54	Senyawa 53	H	H	OH	H	H	H	$\text{CF}_3$	H	H	-5,79	56,75	
55	Senyawa 54	H	H	OH	H	H	H	H	H	$\text{NO}_2$	-7,15	5,75	
56	Senyawa 55	H	H	OH	H	H	H	$\text{C}_2\text{H}_5$	H	H	-6,44	18,87	
57	Senyawa 56	H	H	OH	H	H	H	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	H	H	-6,75	11,28	
58	Senyawa 57	H	H	OH	H	H	$\text{CH}_3$	H	H	H	-6,24	26,56	

A dilakukan sebanyak 50 kali dalam sekali penambatan molekul tiap senyawa, sehingga dihasilkan 50 pose pada ligan dengan energi bebas yang berbeda-beda untuk memperoleh interaksi yang terbaik. Turunan aglikon kurkuligosida A (Tabel 1) didesain dengan memperhatikan aspek kemudahan dalam sintesis dan *Lipinski's rule of five*. Hasil simulasi penambatan molekul kemudian divisualisasi menggunakan Discover Studio

Visualizer v4.5. Parameter yang dianalisis adalah energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), ikatan hidrogen, dan pola interaksi lain dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor. Pengamatan interaksi residu asam amino bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang dapat menstabilkan ikatan ligan dengan reseptor. Interaksi lain antara ligan yang dapat

**Gambar 3.** Overlay konformasi ligan copy (merah) dengan ligan alami (biru)



**Gambar 4.** Interaksi senyawa 10, 23, 41 dan ligan alami (AC1) pada sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase

meningkatkan kestabilan konformasi adalah interaksi elektrostatik dan interaksi van der Walls.<sup>14</sup>

Interaksi melalui ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama dengan ligan alami menunjukkan kemiripan jenis interaksi dalam hal ini menggambarkan kemiripan aktivitas.<sup>15</sup> Semua senyawa uji memiliki nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) yang negatif. Semakin negatif nilai energi bebas ikatan menunjukkan tingkat kestabilan yang baik antara ligan dan protein target (reseptor) sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat.<sup>14</sup>

Berdasarkan hasil visualisasi, dapat diketahui bahwa seluruh senyawa turunan aglikon kurkuligosida A mampu berinteraksi dengan enzim  $\alpha$ -amilase pada sisi aktif enzim dengan membentuk ikatan dengan asam amino kunci yaitu Asp197, Glu233 dan Asp30012. Residu Asp197 bertindak sebagai nukleofilik katalitik dalam reaksi hidrolisis yang dilakukan oleh enzim  $\alpha$ -amilase pada substrat polimerik seperti pati makanan. Residu Asp300 sangat penting dalam mengoptimalkan orientasi substrat yang

terikat di situs aktif yang berdekatan dengan residu katalis dan menstabilkan keadaan transisi.<sup>16</sup>

Senyawa yang menunjukkan interaksi terbaik yaitu senyawa 10 (4-kloro-2,5-dihidroksibenzil-3,4-dikloro-2,6-dimetoksibenzoat), senyawa 23 (4-kloro-2,5-dihidroksibenzil-2,6-dimetoxi-4-nitro-3-(trifluorometil)benzoat), dan senyawa 41 (3,5-dihidroksibenzil-2-nitrobenzoat) dengan nilai energi bebas ikatan berturut-turut adalah -7,29; -7,22; dan -7,84 kkal/mol (Gambar 4 dan Tabel 1).

Berdasarkan Gambar 4, bagian dari senyawa terbaik yang paling berkontribusi dalam interaksinya dengan reseptor adalah melalui ikatan hidrogen gugus hidroksil (O-H). Selanjutnya gugus hidroksil dari cincin A berinteraksi dengan molekul air nukleofilik yang memainkan peran dalam reaksi hidrolisis substrat sehingga secara efektif menghentikan fungsinya.<sup>16</sup> Ketiga senyawa uji berinteraksi dengan residu asam amino yang sama dengan ligan alami pada sisi aktif reseptor. Ketiga senyawa ini membentuk ikatan hidrogen dengan residu Asp197, Glu233 dan Asp300.

Selain membentuk interaksi dengan residu asam amino penting, senyawa uji juga membentuk interaksi lain dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor.

Senyawa aglikon kurkuligosida A memiliki cincin aromatik berbentuk planar yang memungkinkan adanya interaksi van der Waals dan interaksi  $\pi$ . Sistem aromatik yang kaya elektron dan anion yang kekurangan elektron dapat membentuk interaksi  $\pi$  anion. Interaksi  $\pi$  anion memainkan peran penting dalam stabilitas protein dan pengikatan ligan, serta interaksi ini menguntungkan secara energetik.<sup>17-18</sup>

## 5. Simpulan

Semua senyawa turunan aglikon kurkuligosida A dapat berinteraksi dengan sisi aktif enzim  $\alpha$ -amilase. Tiga ligan dengan interaksi terbaik ditunjukkan oleh senyawa 10, 23, dan 41 dengan nilai energi bebas ikatan berturut-turut adalah  $-7,29$ ;  $-7,22$ ; dan  $-7,84$  kkal/mol. Ketiga senyawa terbaik membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino penting yaitu Asp197, Glu233 dan Asp300.

## Daftar Pustaka

1. Zheng, Y., Sylvia, H. L. dan Frank, B. H. Global Aetiology and Epidemiology of Type 2 Diabetes Melitus and Its Complications. Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. 2018; 14: 88
2. Proenca C., Freitas, Marisa., Ribeiro D., Oliveria, E.D.F., Sousa, Joana., Tome, Sara M., Ramos, Maria J., et al.  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition by Flavonoids : an In Vitro and In Silico Structure –Activity Relationship Study. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2017; 32 (1): 1216-1228.
3. De Sales, P., de Souza, P., Simeoni, L., Magalhães, P., dan Silveira, D.  $\alpha$ -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. Department of Pharmaceutical Sciences, School of Health Sciences, Campus Darcy Ribeiro, University of Brasília, Brasília, Brazil. J Pharm Pharmaceut Sci. 2012; 15(1): 141-183.
4. Agarwal, P. dan Gupta, R. Alpha-Amylase Inhibition Can Treat Diabetes Melitus. Research and Reviews Journal of Medical And Health Sciences. 2016; 5(4): 1-8.
5. Bale, A., Khan, K., Salar, U., Chigurupati, S., Fasina, T., Ali, F., et al. Chalcones and Bis-Chalcones: As Potential  $\alpha$ -Amylase Inhibitors; Synthesis, In Vitro Screening, and Molecular Modelling Studies. Bioorganic Chemistry. 2018; 79: 179–189.
6. Najafian, M., Habibi, A., Nastaran H., Parichehreh, Y., Kazem, P. dan Bagher, L. Trans-chalcone: a novel small molecule inhibitor of mammalian alpha-amylase. Springer Science+Business Media B.V: London. 2010.
7. Valls, J., Richard, T, Larroche F., Leblais, V., Muller B., Delaunay J.C., et al. Two New Benzylbenzoate Glucosides from Curculigo orchoides. Fitoterapia. 2006; 77: 416-419.
8. P. Susindran P., Ramesh N., Anti-diabetic effect of Curculigo orchoides Gaertn extracts in alloxan induced diabetic rats, Journal of Pharmacy Research. 2014; 8(7): 942-947.
9. Qomariasih N., Budi S., Farit, M.A. Analisis Gerombol Simultan dan Jejaring Farmakologi antara Senyawa dengan Protein Target pada Penentuan Senyawa Aktif Jamu Anti Diabetes Tipe 2. Jurnal Jamu Indonesia. 2016; 1(2): 30-40.
10. Trott, O. dan Olson, A.J. Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading, J. Comp. Chem., 2010; 31, 455–461.
11. Ferreira, L., Santos, R., Glaucius, O., dan Andricopulo, A. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies, Molecules. 2015; 20: 13384-13421.
12. Withers, S. G., Brayer, G. D., Luo, Y. The structure of human pancreatic  $\alpha$ -amylase at 1.8 Å resolution and comparisons with related enzymes. Protein Sci. 1995; 4: 1730–1742.
13. Kontoyianni, M., McClellan, Sokol.

- Evaluation of Docking Performance: Comparative Data on Docking Algorithm. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004; 47: 558-565.
14. Syahputra, G. 2014, Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksgenase, Institut Pertanian Bogor: Bogor.
15. Cosconati, S., Forli, S., Perryman, A.L., Harris R, Goodsell, D.S, dan Olson, A.J. Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice, Expert Opinion on Drug Discovery, 2010; 5: 597-607.
16. Williams, L., Chunmin L., Stephen G., dan Brayer, G. Order and Disorder: The Differential Structural Impacts of Myricetin and Ethyl Caffeate on Human Amylase, an Anti-Diabetic Target, *J. Med. Chem.* 2012; 23: 1-37.
17. Schwans, J. P., Sunden, F., Jonathan, k., Lassila, Gonzalez, A., Tsai, Y., et al. Use Of Anion-Aromatic Interactions Io Position The General Base In The Ketosteroid Isomerase Active Site. *PNAS*. 2013; 110(28): 11308-11313.
18. Schottel, B. L., Chifotides, H. T., Dumbar, K. R. Anion  $\pi$  Interaction *Chem Soc Rev.* 2007; 37: 68-83.