

In Silico Study of Secondary Metabolite Compound from Noni fruit (*Morinda citrifolia*) as Potential Drug Candidates for Type 2 Diabetes Mellitus Targeting PPAR- γ

Rasya Salma Fauziyyah, Stella Aurelia Huang, Apsari Maratus Sholehah, Tribuana Tungga Dewi, Rizky Prasiska Wulandari, Halwa Aulia Nurdin, dan Rina Fajri Nuwarda✉

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21 Telp. (022)7796200 Jatinangor 45363

Info Artikel

Diterima : 20-08-2024

Disetujui : 19-11-2024

Dipublikasikan : 05-05-2025

Keywords:

Morinda citrifolia
Diabetes Mellitus Type 2
PPAR- γ
Molecular Docking
LigandScout

Abstrak

Diabetes tipe 2 merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah dalam tubuh akibat resistensi insulin yang tidak mencukupi. Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L) adalah salah satu tanaman obat alternatif yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit diabetes. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ), yang bertanggung jawab atas sensitisasi jaringan adiposa terhadap insulin, adalah salah satu reseptor yang berperan dalam pengobatan diabetes. Studi in silico ini menyelidiki potensi buah mengkudu dengan Prediksi Lipinski Rule of Five (RO5), prediksi ADME-Tox dan penambatan molekul untuk mengidentifikasi beberapa metabolit dengan afinitas pengikatan yang kuat terhadap PPAR- γ . Hasil penelitian menunjukkan rutin melanggar *Lipinski's Rule of Five* dan Nilai HIA 2.861176% rutin sulit dicerna secara oral dan lebih cocok untuk sediaan non-oral. Nilai KI 4,19 μ M dengan jenis interaksi asam amino yang paling menyerupai ligand alami mengindikasikan bahwa rutin menunjukkan afinitas pengikatan yang kuat terhadap PPAR- γ , menunjukkan potensi efikasi mereka sebagai agen antidiabetes.

Abstract

Diabetes type 2 is a chronic metabolic disorder characterized by an increase of blood sugar levels in the body due to insufficient insulin resistance. Noni (*Morinda citrifolia* L) is a medicinal plant that can be used as an alternative treatment for diabetes. One receptor involved in diabetes treatment is Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR- γ), which plays a role in insulin sensitization in adipose tissue. This in silico study investigates the potential of noni fruit using Lipinski's Rule of Five (RO5) prediction, ADME-Tox prediction, and molecular docking to identify several metabolites with strong binding affinity to PPAR- γ . The results indicate that rutin violates Lipinski's Rule of Five and has an HIA value of 2.861176%, making it poorly absorbed orally and more suitable for non-oral formulations. The KI value of 4.19 μ M and the amino acid interactions most similar to the natural ligand indicate that rutin shows a strong binding affinity to PPAR- γ , demonstrating its potential efficacy as an antidiabetic agent.

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia serta gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein akibat fungsi insulin yang tidak memadai. Ketidakcukupan fungsi insulin ini dapat disebabkan oleh gangguan atau kurangnya produksi insulin oleh sel beta pankreas langerhans, atau karena respon tubuh yang kurang terhadap insulin (Kemenkes, 2024). Menurut data dari WHO, Indonesia berada di peringkat keenam di dunia untuk DM tipe 2 pada tahun 2000, dengan 8,4 juta orang. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat hingga 21,3 juta pada tahun 2030. Penyakit DM ini mempengaruhi kualitas sumber daya manusia dan meningkatkan biaya kesehatan (Tiurma dan Syahrizal, 2021). Peningkatan kadar gula darah yang disebabkan oleh resistensi insulin atau produksi insulin yang tidak mencukupi adalah tanda dari kondisi kronis yang dikenal sebagai DM tipe 2 (Kemenkes RI, 2024). Pasien DM tipe 2 ini memberi respons yang kurang terhadap insulin sehingga mengakibatkan resistensi insulin. Akibat dari resistensi insulin, yang merupakan kelebihan insulin yang diproduksi pankreas, yang menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam darah. Gaya hidup tidak sehat, seperti kurangnya aktivitas fisik dan konsumsi makanan yang memicu obesitas, merupakan penyebab diabetes tipe 2 (Guyton and Hall, 2012).

Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) adalah reseptor utama yang mengontrol diferensiasi adipogenik dan homeostasis glukosa dan lipid. PPAR- γ meningkatkan sensitivitas insulin dan merupakan target pengobatan diabetes tipe 2. Thiazolidinedione, obat antidiabetes, bekerja dengan mengikat PPAR- γ , sehingga meningkatkan respon insulin terhadap glukosa. Selain itu, sintesis glikogen dan reseptor pengangkut glukosa 4 (GLUT4) meningkatkan sensitivitas dan sinyal insulin (Nursanti *et al.*, 2023).

Pengobatan DM tipe 2 biasanya dimulai dengan diet dan olahraga teratur. Namun, pada akhirnya, pasien biasanya memerlukan farmakoterapi, seperti obat antidiabetik oral atau insulin yang disuntikkan. Namun sebagian masyarakat Indonesia lebih memilih terapi dengan obat tradisional karena harga yang cenderung lebih murah dan juga budaya turun-temurun menggunakan tanaman obat (Leonita dan Mulyani, 2015). Salah satu tanaman obat yang biasa digunakan sebagai pengobatan alternatif penyakit diabetes adalah mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Karena rasanya yang pahit, buah mengkudu dianggap sebagai tanaman perdu dan bahkan ditebangi. Namun, dibalik tampilan dan rasanya yang pahit, buah mengkudu memiliki manfaat dan khasiat yang dipercaya membuat orang yang mengkonsumsinya secara teratur merasa lebih baik (Mukhriani *et al.*, 2023). Mengkudu adalah tanaman yang dapat membantu menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes. Selain bahan kimia seperti xeronine, proxeronine, dan vitamin C, buah mengkudu juga mengandung senyawa seperti flavonoid, antrakuinon, dan terpen. Xeronine bekerja dengan mengaktifkan enzim, mengatur fungsi protein dalam sel, dan sebagai adaptogen membantu sel beta pankreas yang rusak berfungsi kembali dengan baik, meningkatkan pengendalian kadar gula darah (Purwaningrum, 2018). Kandungan flavonoid dalam buah mengkudu tergolong tinggi. *Rutin, caffeic, artepillin C, quercetin-3-glucoside, kaempferol, vanilin dan vanillic* merupakan senyawa utama yang ada di buah mengkudu (Fontes *et al.*, 2023). Flavonoid alami memiliki efek antidiabetes lewat kemampuan untuk mencegah diabetes dan komplikasinya, seperti yang ditunjukkan oleh penelitian *in vitro* dan model hewan. Mekanisme molekuler antidiabetes flavonoid didasarkan pada jalur sinyal spesifik seperti transporter glukosa, enzim hati, inhibitor tirosin kinase, AMPK, PPAR, dan NF- κ B (Al-Ishaq *et al.*, 2019).

In silico merupakan sebuah pendekatan komputasional yang digunakan untuk meramal interaksi antara dua molekul dan menghasilkan model pengikatan. Metode ini meliputi penggunaan basis data, identifikasi hubungan, pengolahan data, pemodelan, dan teknik penambatan molekul (*molecular docking*). Penambatan molekul adalah suatu permasalahan optimisasi yang mencari orientasi terbaik dari ligan yang berikatan dengan protein tertentu (Rangaraju dan Rao, 2013).

Dalam konteks pengembangan obat, studi *in silico* memungkinkan identifikasi potensial senyawa kandidat dengan afinitas tinggi terhadap target terapeutik, seperti reseptor PPAR- γ dalam kasus pengobatan DM tipe 2. Dengan memanfaatkan teknik penambatan molekul dan simulasi dinamika molekuler, para peneliti dapat menggambarkan secara detail interaksi antara senyawa-senyawa tersebut dengan reseptor, serta memprediksi potensi aktivitas farmakologinya (Pinzi dan Rastelli, 2019). Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi potensi senyawa metabolit sekunder dalam buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) yang dapat berperan sebagai kandidat obat untuk pengobatan Diabetes Mellitus tipe 2 dengan pendekatan penambatan molekul diterapkan untuk memprediksi afinitas senyawa aktif buah mengkudu terhadap reseptor PPAR- γ , dengan menggunakan perangkat lunak seperti AutoDock untuk mengidentifikasi konformasi terbaik. Prediksi ADME-Tox juga digunakan untuk menilai profil farmakokinetik. Profil farmakokinetik termasuk penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas senyawa. Dengan menggabungkan metode-metode ini, dapat dievaluasi interaksi molekuler dan potensi farmakologi senyawa-senyawa dalam pembuatan obat antidiabetik.

Metode

Lipinski's Rule of Five (RO5)

Prediksi *Lipinski's Rule of Five* (RO5) dilakukan untuk menilai apakah suatu senyawa kimia layak dibuat sebagai obat oral pada manusia dengan cara mengevaluasi profil fisikokimia dari senyawa uji yang terdapat dalam tanaman obat serta senyawa pembanding. Pertama, dilakukan pemodelan molekul 2D senyawa uji menggunakan perangkat lunak ChemDraw, kemudian dianalisis dengan situs SwissADME yang dapat diakses melalui <http://www.swissadme.ch/>. Parameter uji yang perlu diperhatikan meliputi, berat molekul, nilai log P, ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen akseptor.

ADME-Tox

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam buah mengkudu juga telah diidentifikasi menggunakan prediksi ADME-Tox dengan memasukkan struktur senyawa ke dalam situs PreADMET. Pengujian ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi) dan toksisitas dilakukan secara terpisah. Hasil dari pengujian ADME mencatat nilai %HIA (*Human Intestinal Absorption*), permeabilitas sel Caco-2 (*Cancer coli-2*), penetrasi *Blood-Brain Barrier* (BBB), ikatan dengan protein plasma (*Plasma Protein Binding*, PPB), serta pengujian toksisitas melalui tes mutagen dan karsinogen. Analisis ini dapat dilakukan melalui situs Pre-ADMET di <http://www.swissadme.ch/>.

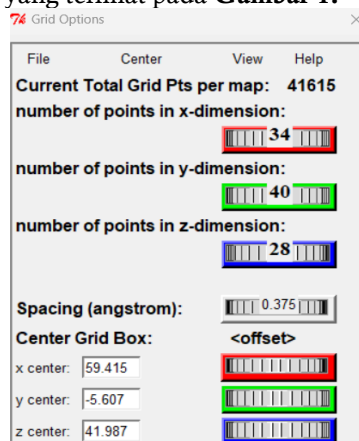
Skrining farmakofor

Potensi interaksi antara ligan dan senyawa uji diidentifikasi dan diprediksi menggunakan skrining farmakofor. Sebuah database aktif dan decoy dibuat dengan mengunduhnya dari situs <https://dude.docking.org/targets>. File yang diunduh dianalisis menggunakan perangkat lunak LigandScout 4.4 dengan perspektif berbasis ligan. Semua jenis data aktif dan decoy diubah menjadi data *training* dan disimpan dalam format .ldb. Model farmakofor dibangun berdasarkan database aktif yang telah dimodifikasi sebelumnya. Model farmakofor kemudian dibuat dengan menekan *Create Pharmacophore* dan disimpan dalam format .pmz. Dalam validasi farmakofor, sepuluh model farmakofor dipindahkan ke perspektif skrining. Database aktif dan decoy dimasukkan, dengan database aktif ditampilkan dalam warna hijau dan decoy dalam warna merah. Proses skrining dilakukan dengan menekan *Perform*.

Penambatan molekul

Penambatan molekul menggunakan perangkat lunak Biovia Discovery Studios 2021 Client dan Autodock 4.2.6 serta AutodockTools-1.5.6 dari The Scripps Research Institute, Inc (USA). Penambatan ini dilakukan pada laptop Acer AMD Ryzen 5 5500U with Radeon Graphics 2.10 GHz. Proses docking memerlukan penyusunan folder kerja yang berisi autogrid4.exe dan autodock4.exe, bersama dengan file reseptor dan ligan yang sudah dipersiapkan dalam format pdbqt. Ligan disiapkan dengan menghapus molekul air dan gugus yang tidak diperlukan menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio. Reseptor juga disiapkan dengan menghapus molekul air dan gugus ligan, serta melakukan penambahan ikatan hidrogen hanya pada bagian yang bersifat polar.

Preparasi ligan menggunakan Autodock termasuk dalam perhitungan muatan dengan compute Gasteiger. Setelah persiapan ligan dan reseptor selesai, langkah selanjutnya adalah mengatur docking. Pengaturan docking dilakukan melalui aplikasi Autodock, dimulai dengan pengaturan untuk mendefinisikan interaksi antara ligan dan reseptor. Selanjutnya, grid box untuk docking diatur dan disimpan dalam format gpf. Grid koordinat dari chain B yang digunakan untuk docking senyawa x,y,z adalah 59,415; -5,607; 41,987 seperti yang terlihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Grid Box Sisi Aktif Ligan Alami pada Aplikasi AutodockTools-1.5.6

Setelahnya, dilakukan penyesuaian parameter docking menggunakan algoritma genetik dan output docking dijalankan menggunakan metode genetik Lamarckian GA, yang hasilnya disimpan dalam format dpf. Proses docking dijalankan melalui command prompt. Perintah pertama yang dimasukkan adalah autogrid4 -p dock.gpf -l dock.glg untuk mempersiapkan grid docking. Perintah kedua, autodock4 -p dock.dpf -l dock.glg, digunakan untuk menjalankan proses docking sendiri. Command prompt akan mengeksekusi perintah-perintah tersebut dan hasilnya dapat dilihat di aplikasi Autodock. Untuk memvisualisasikan interaksi antara ligan dan asam amino pada reseptor, hasil docking dapat dieksplorasi menggunakan Biovia Discovery Studio.

Hasil dan Pembahasan

Studi literatur metabolit sekunder quercetin, rutin, fisetin, vanillin, limonene, scopoletin, kaempferol, isorhamnetin, dan eugenol merupakan senyawa flavonoid dari buah mengkudu (*Agustina et al.*, 2021; *Fontes et al.*, 2023; *Jambocus et al.*, 2017). Lalu metabolit sekunder yang lain ada damnacanthal yaitu antrakuinon yang terdapat pada buah mengkudu (*Nerurkar et al.*, 2015). Sebanyak 10 senyawa metabolit sekunder dapat dianalisis sifat fisikokimianya menggunakan aturan *Lipinski's Rule of Five* (RO5). Selain itu, senyawa-senyawa ini dapat diuji melalui skrining farmakofor, serta dilakukan prediksi mengenai absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADME-Tox). Proses penambatan molekul terhadap reseptor *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma* (PPAR- γ), yang merupakan salah satu target untuk obat antidiabetes, juga dapat dipelajari (*Nursanti et al.*, 2023).

Hasil dari 10 senyawa metabolit sekunder yang ditemukan dalam buah mengkudu dievaluasi untuk memprediksi sifat fisikokimia mereka berdasarkan aturan *Lipinski's Rule of Five* (RO5). Tujuan dari evaluasi ini adalah untuk mengidentifikasi senyawa yang memiliki potensi untuk pengembangan lebih lanjut sebagai obat, dengan meminimalkan risiko kegagalan akibat rendahnya permeabilitas dan absorpsi. Aturan Lipinski RO5 digunakan untuk menilai permeabilitas senyawa melalui mekanisme difusi pasif melalui lipid bilayer, yang merupakan kriteria penting untuk mempertimbangkan kemungkinan pemberian oral dari suatu senyawa. Kriteria Lipinski RO5 mencakup batasan berat molekul kurang dari 500 Da, nilai Log P tidak lebih dari 5, jumlah ikatan donor kurang dari 5, dan jumlah ikatan hidrogen kurang dari 10. Untuk dianggap sebagai kandidat yang potensial untuk formulasi oral, senyawa harus mematuhi aturan Lipinski RO5 dengan tidak lebih dari satu pelanggaran terhadap kriteria yang disebutkan di atas.

Tabel 1. Hasil Aturan Lipinski RO5

| No | Nama Senyawa | Berat Molekul (<500 Da) | Log P (<5) | Ikatan Hidrogen | | Keterangan |
|----|--------------|-------------------------|------------|-----------------|----------------|----------------|
| | | | | Donor (<5) | Akseptor (<10) | |
| 1 | Quercetin | 302.2357 | 1.988 | 5 | 7 | Memenuhi |
| 2 | Rutin | 610.5175 | - | 10 | 16 | Tidak Memenuhi |
| | | | 1.6871 | | | |
| 3 | Vanillin | 152.14732 | 1.2133 | 1 | 3 | Memenuhi |
| 4 | Limonene | 136.23404 | 3.3089 | 0 | 0 | Memenuhi |
| 5 | Scopoletin | 192.16812 | 1.5072 | 1 | 4 | Memenuhi |
| 6 | Kaempferol | 286.2363 | 2.2824 | 4 | 6 | Memenuhi |
| 7 | Isorhamnetin | 316.26228 | 2.291 | 4 | 7 | Memenuhi |
| 8 | Eugenol | 164.20108 | 2.1293 | 1 | 2 | Memenuhi |
| 9 | Fisetin | 286.2363 | 2.2824 | 4 | 6 | Memenuhi |
| 10 | Damnacanthal | 282.2476 | 1.9887 | 1 | 5 | Memenuhi |

Hasil prediksi berdasarkan aturan *Lipinski's Rule of Five* (RO5) dapat dilihat pada **Tabel 1**. Dari 10 senyawa yang diuji, 9 senyawa memenuhi kriteria RO5, sedangkan senyawa Rutin tidak memenuhi aturan tersebut karena memiliki lebih dari 5 ikatan donor dan lebih dari 10 ikatan hidrogen. Hal ini membuat senyawa Rutin sulit untuk diabsorpsi, karena semakin banyak ikatan donor dan hidrogen, semakin tinggi energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi.

Setelah analisis berdasarkan aturan Lipinski RO5, dilakukan prediksi ADME-Tox pada 10 senyawa metabolit sekunder. Dalam pengembangan obat, prediksi awal sifat farmakokinetik dan toksisitas sangat penting untuk menghindari kegagalan yang mahal dan tidak perlu. Prediksi profil ADME-Tox menunjukkan berbagai profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (*Nusantoro dan Fadlan*, 2020). Untuk studi karsinogenisitas, server PreADMET digunakan untuk memprediksi karsinogenisitas bahan kimia. Parameter yang digunakan untuk studi ADME-Tox meliputi HIA (*High*

Intestinal Absorption), Caco-2, PPB (*Protein Plasma Binding*), BBB (*Blood Brain Barrier*), mutagen, dan karsinogen. HIA digunakan untuk memprediksi persentase penyerapan obat di usus manusia, dengan penyerapan usus yang baik berada dalam rentang 70-100%. PPB digunakan untuk mengetahui persentase obat yang terikat dengan protein plasma.

Tabel 2. Hasil Prediksi ADMET

| No | Nama Senyawa | Absorpsi | | Distribusi | | Mutagen | Toksitas | |
|----|--------------|-----------|-----------------|------------|-----------|-------------|------------|----------|
| | | HIA (%) | Caco-2 (nm/sec) | PPB (%) | BBB | | Karsinogen | |
| | | | | | | | Mouse | Rat |
| 1 | Quercetin | 60.163717 | 3.42307 | 95.164469 | 0.166964 | Mutagen | Negative | Positive |
| 2 | Rutin | 2.861176 | 7.91267 | 43.897909 | 0.0285642 | Non Mutagen | Positive | Negative |
| 3 | Vanilin | 93.053476 | 19.5924 | 63.140074 | 0.561379 | Mutagen | Negative | Positive |
| 4 | Limonene | 100.00000 | 23.6317 | 100.00000 | 8.27823 | Mutagen | Negative | Positive |
| 5 | Scopoletin | 93.923563 | 0.27754 | 29.418383 | 0.644081 | Mutagen | Negative | Positive |
| 6 | Kaempferol | 79.439289 | 9.57744 | 89.698221 | 0.286076 | Mutagen | Negative | Positive |
| 7 | Isorhamnetin | 78.347665 | 4.93924 | 83.545382 | 0.0580929 | Mutagen | Negative | Positive |
| 8 | Eugenol | 96.774447 | 46.8865 | 100.00000 | 2.25544 | Mutagen | Positive | Positive |
| 9 | Fisetin | 77.825389 | 9.56346 | 88.033365 | 0.304125 | Mutagen | Negative | Positive |
| 10 | Damnacanthal | 96.021548 | 14.2518 | 88.938865 | 0.950012 | Mutagen | Negative | Positive |

Hasil prediksi ADMET 10 senyawa metabolit sekunder dalam buah mengkudu terlampir pada **Tabel 2**. Berdasarkan **Tabel 2**, prediksi ADME senyawa uji dari buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L) menunjukkan bahwa dari parameter Caco-2, terdapat 8 senyawa yang memiliki permeabilitas sedang (4-70 nm/sec), menunjukkan kemampuan senyawa tersebut untuk melewati barrier antar sel epitel usus. Permeabilitas Caco-2 diklasifikasikan menjadi tiga: rendah (<4 nm/sec), sedang (4-70 nm/sec), dan tinggi (>70 nm/sec). Selain itu, terdapat 8 senyawa uji yang memenuhi kriteria *High Intestinal Absorption* (HIA), mengindikasikan daya adsorpsi yang baik. Untuk parameter *Plasma Protein Binding* (PPB), 7 senyawa memiliki ikatan lemah (<90%), yang berarti senyawa ini tidak terlalu kuat dalam berdifusi menembus membran plasma dan berinteraksi dengan protein. Dalam parameter *Blood Brain Barrier* (BBB), kemampuan senyawa untuk menembus sawar otak sedang jika nilai BBB berada di rentang 0,1–2. Nilai BBB di bawah 0,1 menunjukkan kemampuan menembus sawar otak yang rendah. Dari 10 senyawa, limonene dan eugenol memiliki nilai BBB tertinggi, masing-masing sebesar 8,278 dan 2,255, menunjukkan kemampuan yang baik untuk menembus sawar otak. Data toksisitas menunjukkan hasil pengujian pada tikus dan mencit, dengan hasil prediksi dari parameter PreADMET yang menunjukkan senyawa rutin tidak bersifat mutagenik, berbeda dengan senyawa lain yang menyebabkan mutagenisitas.

Setelah dilakukan pengujian terhadap senyawa metabolit sekunder, dilakukan pemodelan farmakofor terhadap reseptor yang digunakan yaitu PPAR- γ . Dalam pemodelan farmakofor, diperlukan senyawa *aktif (active)* dan *inaktif (decoy)* dari reseptor yang kemudian dianalisis menggunakan LigandScout

lewat Kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) kemudian dilihat nilai *Area Under Curve* (AUC). Nilai AUC semakin mendekati 1 memiliki nilai yang semakin baik (Nahm, 2022).

Tabel 3. Hasil Validasi Farmakofor

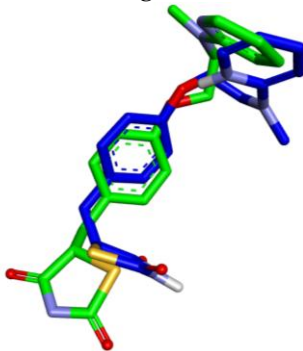
| Model Farmakofor | Hits | True Positive | False Positive | AUC 100% |
|------------------|------|---------------|----------------|----------|
| 1 | 494 | 100 | 394 | 0,7 |
| 2 | 422 | 90 | 332 | 0,63 |
| 3 | 421 | 85 | 336 | 0,63 |
| 4 | 438 | 86 | 352 | 0,6 |
| 5 | 279 | 61 | 218 | 0,56 |
| 6 | 279 | 61 | 218 | 0,56 |
| 7 | 422 | 96 | 326 | 0,75 |
| 8 | 430 | 94 | 336 | 0,67 |
| 9 | 460 | 93 | 367 | 0,59 |
| 10 | 481 | 99 | 382 | 0,68 |

Suatu model dinilai mampu membedakan senyawa aktif (*active*) dan inaktif (*decoy*) apabila nilai AUC kurva ROC lebih dari 0,7. Berdasarkan hasil dari **Tabel 3.** didapatkan total 10 model farmakofor dengan nilai AUC yang bervariasi. Dari hasil tersebut didapatkan dua model farmakofor yang baik yaitu Model 1 dan 7. Model 7 dinyatakan valid karena memiliki nilai AUC tertinggi yaitu 0,75 yang artinya dapat mendeteksi aktif set sebagai senyawa aktif, dan mendeteksi *decoy set* sebagai senyawa pengecoh oleh model farmakofor, sehingga bisa digunakan untuk memprediksi memiliki jumlah aktif set yang lebih banyak. Sehingga, Model 7 dipilih sebagai model farmakofor untuk dilakukan penambatan molekular.

Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan memvisualisasikan hasil docking untuk mengamati interaksi antara senyawa dan residu asam amino pada reseptor. Tahap ini sangat penting dalam menentukan senyawa yang diduga memiliki aktivitas biologis, yang dapat menjadi dasar untuk pengembangan obat di masa mendatang. Sebelum memulai proses seleksi ligan dalam penelitian ini, dilakukan validasi dengan cara menambatkan kembali ligan asli (BRL) ke reseptor asal pada rantai B protein reseptor. Untuk validasi, digunakan parameter RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Metode docking dianggap valid jika nilai $\text{RMSD} \leq 2\text{\AA}$ (Ruswanto, 2015). RMSD mengukur perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah proses penambatan.

Nilai RMSD yang dihitung merupakan hasil dari konfirmasi ligan-protein terbaik dari dua tipe RMSD yang itu RMSD 2PRGB (*Chain B*) dan RMSD 2PRGA (*Chain A*). Semakin kecil nilai RMSD, semakin baik perkiraan posisi ligan, karena posisi tersebut semakin mendekati konformasi asli (Lestari, 2015). Hasil dari redocking ligand (*Chain D*)-protein reseptor (*Chain A*) didapatkan nilai RMSD sebesar 1,840 Å dengan binding energy sebesar -9,51 kcal/mol dan ligand (*Chain E*)-protein reseptor (*Chain B*) didapatkan nilai RMSD sebesar 1,767Å dengan binding energy sebesar -9,53 kcal/mol, ditentukan menggunakan. Grid koordinat yang digunakan untuk untuk penambatan molekul pada senyawa uji menggunakan hasil dari redocking ligan ligand (*Chain E*)-protein reseptor (*Chain B*) dikarenakan nilai RMSD nya lebih kecil dibandingkan ligand (*Chain D*)-protein (*Chain A*).

Setelah didapatkan nilai RMSD terbaik pada Chain B, ligand alami yang telah di *re-docking* dilakukan tahap visualisasi untuk menunjukkan bahwa ligand tidak bergeser terlalu jauh dan sisi aktif sama seperti ligand alaminya. Pada **Gambar 2.** dapat terlihat bahwa posisi ligand hasil *re-docking* memiliki kemiripan dengan ligand alami sebelum di *re-docking*.



Gambar 2. Overlay dari Ligan Native BRL (Hijau) dan Ligan Hasil *Re-docking* (Biru)

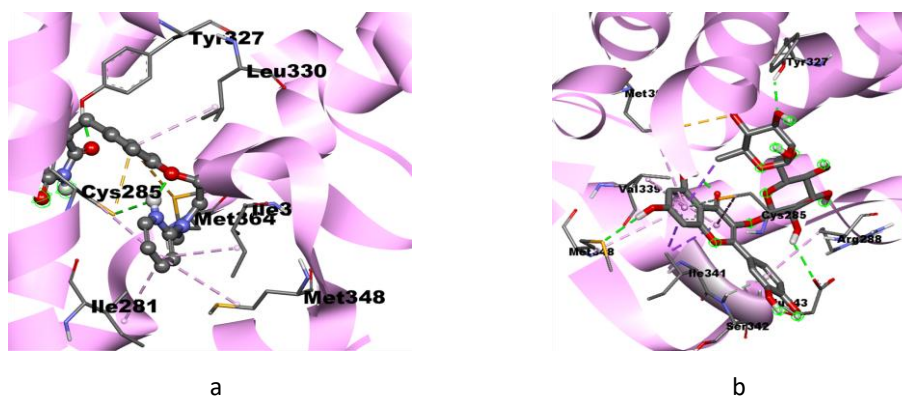
Tabel 4. menampilkan hasil proses docking yang berupa prediksi aktivitas interaksi antara ligan dan reseptor, dinyatakan dalam nilai energi ikatan ligan-reseptor. Berdasarkan teori energi Gibbs, semakin rendah nilai energi ikatan yang dihasilkan, semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor tersebut.

Tabel 4. Luaran Simulasi Penambatan Molekul

| No | Nama Senyawa | Binding energy (kkal/mol) | Ki (uM) | Interaksi dengan Asam Amino | | |
|----|--|------------------------------|------------|--|----------------------------|--|
| | | | | Ikatan Hidrogen | Ikatan van der waals | Lain-lain |
| 1 | 2,4- Thiazolidinedione, 5-[[4-[2-(Methyl-2 - Pyridinylamino) Ethoxy] Phenyl] Methyl]-(9Cl)) (Ligand Alami) | -9,53 | 103, 18 | CYS B: 285 TYR B: 327 | - | ILE B: 281 ILE B: 341 LEU B: 330 MET B: 348 MET B: 364 |
| 2 | Quercetin | -5,93 | 45 | SER B: 289 TYR B: 473 HIS B: 449 | - | CYS B: 285 ARG B: 288 LEU B: 330 |
| 3 | Rutin | -7,34 | 4,19 | CYS B: 285 SER B: 342 MET B: 348 GLU B: 343 TYR B: 327 | - | ILE B : 341 MET B: 364 ILE B: 341 ARG B: 288 VAL B: 339 |
| 4 | Vanillin | -3,42 | 3,11 | CYS B: 285 | - | - |
| 5 | Limonene | -4,82 | 291, 05 | - | - | HIS B: 323 HIS B: 449 LEU B: 469 CYS B: 289 TYR B: 327 MET B: 364 LEU B: 330 |
| 6 | Scopoletin | -6,51 | 16,9 8 | HIS B: 323 TYR B: 327 TYR B: 473 | - | CYS B: 285 HIS B: 449 LEU B: 453 LEU B: 465 LEU B: 469 MET B: 364 |
| 7 | Kaempferol | -6,41 | 19,9 6 | HIS B: 449 LYS B: 367 LEU B: 350 TYR B: 327 | - | CYS B: 285 MET B: 364 ARG B: 288 LEU B: 330 |
| 8 | Isorhamnetin | -6,70 | 12,3 1 | HIS B: 449 LYS B: 367 GLN B: 286 LEU B: 340 TYR B: 327 | - | CYS B: 285 MET B: 364 ARG B: 288 ILE B: 341 VAL B: 339 |
| 9 | Eugenol | -5,90 | 47,6 8 | HIS B: 323 GLN B: 286 | - | HIS B: 449 CYS B: 285 ILE B: 326 LEU B: 469 MET B: 364 PHE B: 363 TYR B: 327 |

| No | Nama Senyawa | Binding energy (kcal/mol) | Ki (uM) | Interaksi dengan Asam Amino | | |
|----|--------------|------------------------------|------------|--|----------------------------|--|
| | | | | Ikatan Hidrogen | Ikatan van der waals | Lain-lain |
| 10 | Fisetin | -6,83 | 9,84 | HIS B: 449 MET B: 364 ARG B: 288 | - | ILE B: 326 CYS B: 285 LEU B: 330 PHE B: 282 |
| 11 | Damnachantal | -8,05 | 1,25 | CYS B: 285 SER B: 289 | - | MET B: 364 LEU B: 330 LEU B: 333 ARG B: 288 VAL B: 339 |

Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan mengamati nilai energi bebas (ΔG) dan konstanta penghambatan (K_i) dari hasil docking. Nilai ΔG yang kecil atau negatif menunjukkan kemungkinan terbentuknya ikatan antara ligan dan makromolekul (Fiona dkk, 2024). Dari **Tabel 4**, menunjukkan bahwa dari 10 senyawa uji, rutin memiliki jumlah dan jenis interaksi asam amino yang paling menyerupai ligand alami, yaitu melalui ikatan hidrogen pada asam amino CYS B: 285 dan TYR B: 327 serta ikatan lainnya pada ILE B: 341 dan MET B: 364. Hal ini mengindikasikan bahwa baik sisi aktif maupun kantong tempat ligan alami dan senyawa-senyawa tersebut berada pada situs yang serupa dalam struktur reseptor PPAR- γ . Hal ini menimbulkan harapan bahwa mereka memiliki kemampuan yang sebanding dalam menghambat aktivitas atau fungsi dari reseptor PPAR- γ seperti yang terlihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Visualisasi 3D dari (a) 3D-2,4-thiazolidinedione, 5-[[4-[2-(methyl-2-pyridinylamino)ethoxy]phenyl]methyl]-(9CI) dan (b) 3D-Rutin dengan Chain B Reseptor PPAR- γ

Simpulan

Berdasarkan pengujian RO5, ADMET, dan molecular docking terhadap 10 senyawa metabolit sekunder buah mengkudu, senyawa rutin menunjukkan potensi terbaik sebagai obat antidiabetes dengan reseptor Chain B PPAR- γ . Nilai K_i 4,19 uM dengan jenis interaksi asam amino yang paling menyerupai ligand alami, yaitu melalui ikatan hidrogen pada asam amino CYS B: 285 dan TYR B: 327 serta ikatan lainnya pada ILE B: 341 dan MET B: 364 yang mengindikasikan bahwa rutin menunjukkan afinitas pengikatan yang kuat terhadap PPAR- γ . Namun, dilihat dari nilai Lipinski RO5 terdapat dua nilai yang tidak memenuhi Lipinski RO5 karena jumlah ikatan donor lebih dari 5 dan jumlah ikatan hidrogen lebih dari 10. Dengan begitu senyawa tersebut akan susah diabsorpsi. Kemudian, nilai HIA pada senyawa rutin sebesar 2.861176% yang memiliki arti absorpsi dalam usus rendah. Berdasarkan hal tersebut, rutin tidak direkomendasikan untuk menjadi sediaan oral. Jika tetap ingin dibuat sediaan farmasi, dapat dibuat dalam sediaan non oral.

Daftar Referensi

Agustina, D. W., Wahyuningsih, M. D., Widyarti, S., dan Rifa'i, M. 2021. Molecular docking study to reveal Morinda citrifolia fruits as a novel EGFR inhibitor for anticancer therapy. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* (743): 012082.

- Al-Ishaq, R. K., Abotaleb, M., Kubatka, P., Kajo, K., dan Büsselberg, D. 2019. Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels. *Biomolecules*, 9(9): 430.
- Bahtiar, K. R., Susanti, S., dan Mardianingrum, R. 2021. Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa dalam Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb) Secara *In Silico*. *Journal of Pharmacopolium*, 4(1) : 36-43
- Fiona., Pebralia, J., Restianingsih, T., Sirait, F. Y., dan Regina I. 2024. Analisis Molekular *Docking in Silico* Terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada Daun Tanaman Herbal Eukaliptus Lemon (*Corymbia citriodora*). *Newton-Maxwell Journal of Physics*, 5(1) : 19-27
- Fontes, R. F., Andrade, J. K. S., Rajan, M., Narain, N. 2023. Chemical characterization of different parts of noni (*Morinda citrifolia*) fruit and its freeze-dried pulp powder with emphasis on its bioactive compounds and antioxidant activities. *Food Sci. Technol, Campinas*, 43: 1-8.
- Guyton, A. and Hall, J. 2012. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran 11th ed.* Jakarta: EGC.
- Jambocus, N. G. S., Ismail, A., Khatib, A., Mahomoodally, F., Saari, N., Mumtaz, M. W., & Hamid, A. A. (2017). *Morinda citrifolia* L. leaf extract prevent weight gain in Sprague-Dawley rats fed a high fat diet. *Food & nutrition research*, 61(1), 1338919.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2024. Penyakit Diabetes Melitus. Tersedia online <https://p2ptm.kemkes.go.id/informasi-p2ptm/penyakit-diabetes-melitus> . [Diakses pada 4 Juni 2024]
- Leonita, E. dan Mulyani, A. 2015. Penggunaan Obat Tradisional oleh Penderita Diabetes Mellitus dan Faktor-faktor yang Berhubungan di Wilayah Kerja Puskesmas Rejosari Pekanbaru Tahun 2015. *Jurnal Kesehatan Komunitas*, 3(1): 47-52.
- Lestari, T. 2015. Studi Interaksi Senyawa Turunan 1,3-Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 7(3): 163-169
- Mukhriani., Raud, A., dan Purnamasari, I. 2023. Antihyperglycemic Effect of Noni Fruit Flesh (*Morinda citrifolia* L.) Fractions in Male White Mice. *ad-Dawaa'J.Pharm.Sci*, 1(2) : 85-93
- Nahm, F. S. 2022. Receiver operating characteristic curve: overview and practical use for clinicians. *Korean journal of anesthesiology*, 75(1), 25–36.
- Nerurkar, P V., Hwang, P. W., dan Saksa E. 2015. Anti-Diabetic Potential of Noni : The Yin and the Yang. *Molecules*, 20(10)
- Nursanti, O., Liandra, D., Hadisoebroto, G., dan Deswati, D. A. 2023. Molecular Docking on Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR-γ) Receptors as Antidiabetic. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(1) : 315-324
- Pinzi, L., dan Rastelli, G. 2019. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International journal of molecular sciences*, 20(18): 4331.
- Purwaningrum, A. 2018. *Efektivitas Mengkudu (Morinda citrifolia) sebagai terapi Alternatif Pengobatan Diabetes Melitus Ditinjau dari Ilmu Kedokteran Islam*. Jakarta : FK Yarsi.
- Rangaraju, A. and Rao, A. V. 2013. A Review On Molecular Docking – Novel Tool in Drug Design and Analysis. *Journal of Harmonized Research in Pharmacy*, 2 (4): 215-221.
- Tiurma, J. R. dan Sahrizal. 2021. Obesitas Sentral dengan Kejadian Hiperglikemia pada Pegawai Satuan Kerja Perangkat Daerah. *HIGEIA*, 5(3): 354-364