

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Diabetes melitus biasanya ditandai oleh peningkatan kadar glukosa darah (glukosa puasa ≥ 120 mg/dL, atau glukosa prosrandial ≥ 200 mg/dL, atau glukosa acak ≥ 200 mg/dL) serta beberapa gejala seperti poliuria, polidipsia, dan polifagia. Berdasarkan etiologi, diabetes dapat diklasifikasi menjadi diabetes melitus tipe 1 (DM tipe 1), diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2), diabetes melitus gestasional, dan tipe spesifik yang berkaitan dengan penyebab lain. Diabetes tipe 2 merupakan kasus paling umum terjadi yaitu menyumbang 90% dari total kasus secara global (Gunawan, 2016, Melmed *et al*, 2015).

International Diabetes Federation (IDF, 2021) mencatat bahwa prevalensi diabetes global pada tahun 2021 untuk kelompok usia dewasa (20-79 tahun) diperkirakan 10.5 % (536.6 juta orang) dari total keseluruhan populasi di dunia sebanyak 7.9 milyar orang dan akan meningkat menjadi 11,3% (642.7 juta) pada tahun 2030 dari total keseluruhan populasi di dunia sebanyak 8.6 milyar orang dan 12.2% (783.2 juta) pada tahun 2045 dari total populasi 9.5 milyar orang, sementara sebanyak 239.7 juta orang di dunia diperkirakan memiliki diabetes yang tidak terdiagnosa dan Indonesia berada pada peringkat 2 yaitu sebanyak 14.3 juta orang. Pada tahun 2021 Indonesia berada di peringkat 5 pada daftar jumlah penderita diabetes terbanyak untuk kelompok usia dewasa (20-79 tahun) di dunia yaitu sebanyak 19.5 juta orang.

Pencegahan terjadinya kenaikan glukosa darah pada diabetes dilakukan dengan agen farmakologi dan atau dengan nonfarmakologi. Pengobatan dengan agen farmakologi menggunakan sejumlah agen antidiabetes. Agen antidiabetes terdiri dari golongan sulfonilurea, glinid, biguanide, penghambat α -glukosidase dan α -amilase, thiazolidinedione, penghambat DPP4, penghambat SGLT2, agonis reseptor GLP-1 dan insulin untuk diabetes melitus tipe 2 dan insulin untuk diabetes melitus tipe 1 (Dipiro *et al*, 2020) sementara untuk terapi non farmakologi seperti pengendalian nutrisi dan pengendalian berat badan (Melmed *et al*, 2015).

Golongan antidiabetes yaitu penghambat α -glukosidase dan α -amilase memiliki mekanisme kerja mengontrol glukosa darah dengan menurunkan kenaikan gula darah setelah makan melalui perlambatan penyerapan karbohidrat menggunakan mekanisme penghambatan pemecahan karbohidrat oleh enzim α -amilase dan enzim α -glukosidase (Oboh *et al*, 2016). Acarbose adalah salah satu agen penghambat α -glikosidase dan α -amilase, namun obat ini diketahui memiliki efek samping pada saluran cerna seperti malabsorpsi, flatulen dan diare, (Chaudhury *et al*, 2017). Enzim α -amilase di sekresi oleh kelenjar saliva dan pankreas untuk memecah pati menjadi oligosakarida dengan mengkatalisis ikatan hidrogen α -1,4 glikosidik (Takahama *et al.*, 2018). Inhibisi enzim α -amilase kemudian mengurangi laju penyerapan karbohidrat sehingga glukosa darah dapat dikontrol (Adisakwattana *et al.*, 2011, Oboh *et al.*, 2016).

Penggunaan senyawa alami terutama yang berasal dari tumbuhan telah banyak diuji efektifitasnya dan banyak dari antaranya memiliki efek toksisitas yang kecil untuk pengobatan. (Verma *et al.*, 2018). Produk alam dari tumbuhan memiliki potensi yang menjanjikan untuk menghasilkan obat dengan efek samping lebih sedikit, dan hemat biaya (Feng *et al.*, 2013, Salehi *et al.*, 2019). Diketahui bahwa tercatat 800 tanaman alam memiliki potensi

untuk menjadi agen antidiabetes dan 450 diantaranya terbukti secara klinis sebagai agen antidiabetes, sedangkan 109 tanaman diantaranya telah diketahui cara kerjanya.

Salah satu tanaman potensial sebagai agen antidiabetes yang telah diketahui cara kerjanya adalah kayu manis tau cinnamomum (Verma *et al*, 2018). Senyawa dalam Cinnamomi diketahui bertindak sebagai agen antidiabetes dengan mekanisme antara lain menghambat aktifitas α -amilase dan α -glukosidase, menghambat glukoneogenesis, merangsang sensitivitas reseptor insulin, merangsang pelepasan insulin dari pankreas dan lainnya (Chen *et al*, 2019, Arozal *et al*, 2020, Gebreyohannes, Netere and Belachew, 2019).

Adisakwattana (2011) dkk melakukan penelitian secara *in vitro* untuk menyelidiki aktifitas senyawa empat spesies cinnamomum sebagai agen antidiabetes dan sinergitas cinnamomum dengan agen penghambat α -glukosidase dan α -amilase. Hasil menunjukkan spesies *Cinnamomum ceylon*, memiliki daya inhibisi enzim α -amilase besar, dan sinergitas yang baik dengan acarbose sebagai penghambat α -amilase. Studi ini menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak acarbose dan kayu manis menghasilkan penghambatan yang baik, dengan itu mungkin untuk mengurangi dosis acarbose dan peningkatan progresif dalam dosis obat yang optimal, efisiensi biaya yang terkait dengan manajemen penyakit, dan yang paling penting adalah efek samping terapi acarbose berupa nyeri perut, diare dan perut kembung mungkin dapat diatasi dengan mengurangi dosis acarbose yang dikombinasi dengan kayu manis.

Penelitian secara *in vitro* ini telah sampai pada mengetahui aktifitas Cinnamomi sebagai antidiabetes, namun interaksi antara senyawa dengan α -amilase yang berefek pada inhibisi enzim belum diketahui, maka dari itu perlu dilakukan pendekatan yang dapat menjelaskan interaksi keduanya.

Pendekatan komputasi telah diterapkan sebagai alternatif dalam proses penemuan dan pengembangan obat dengan biaya yang lebih murah. Penggunaan alat komputasi dapat mengurangi biaya pengembangan obat hingga 50% (Tan *et al*, 2010). Pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu disebut sebagai pendekatan *in silico* (Geldenhyus *et al*, 2016, Zheng *et al*. 2013).

Salah satu pendekatan *in silico* adalah *molecular docking*. Penambatan molekul adalah prosedur komputasi yang mencoba untuk memprediksi pengikatan makromolekul dengan molekul senyawa (ligan) secara efisien dan memiliki kemampuan memprediksi konformasi optimal antara molekul kecil dan situs pengikatan protein (Liu *et al*, 2018). Tujuannya adalah untuk memprediksi afinitas pengikatan. Karakterisasi dari struktur pengikat memainkan peran besar dalam desain obat-obatan serta memperjelas proses penting biokimia (Alonso *et al*, 2006, Kitchen *et al*, 2004). Studi *in silico* penting dilakukan karena mampu memahami ligan dengan atribut elektrostatis dan stereokimia tertentu untuk mencapai afinitas pengikatan pada target yang baik. Metode pengembangan obat berbasis struktur memungkinkan untuk merancang dan optimasi ligan atau senyawa yang diperlukan untuk modulasi reseptor atau enzim target yang paling efisien. (Blaney *et al*, 2012, Mandal *et al*, 2011). Untuk itu, studi *in silico* penting dilakukan pada senyawa potensial.

Ji Guang Chen (2019) dengan pendekatan *in vitro* dan *in silico* meneliti aktifitas serta interaksi dan afinitas pengikatan senyawa antosianin terkandung dalam *Cinnamomum camphora* sebagai penghambat enzim α -glukosidase. Menggunakan perangkat lunak *molecular docking* diketahui senyawa sianidin yang terkandung dalam Cinnamomi berinteraksi dengan enzim α -glukosidase secara *mix-competitive inhibitor*, yaitu berikatan pada

residu yang berdekatan dengan *active site* dan dengan itu, mengubah afinitas pengikatan antara substrat dan makromolekul dengan cara katalisis sisi aktif. enzim. Kayu manis telah banyak dibuktikan bermanfaat dalam pengobatan diabetes oleh banyak penelitian sebelumnya.

Penelitian sebelumnya secara *in vitro* dan *in vivo* telah mengetahui aktifitas senyawa cinnamomi sebagai agen antidiabetes, namun menggunakan dua pendekatan ini belum mampu melihat interaksi dan afinitasnya dari senyawa potensial terhadap target yang telah diidentifikasi. Maka dari itu, peneliti mencoba untuk melakukan penelitian dengan salah satu pendekatan *in silico* yaitu *molecular docking* untuk mengetahui afinitas dari senyawa potensial dalam kayu manis dengan cara menghambat enzim α -amilase, enzim pemecah karbohidrat yang disintesis oleh pankreas.

Target yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur tiga dimensi (3D) target α -amilase yang berasal dari pankreas manusia dengan ligan ori acarbose, dimana strukturnya telah diketahui dan tersedia pada *database* struktur protein RSCB *Protein Data Bank*. Maka dipilih target α -amilase yang berasal dari pankreas manusia yang memiliki ikatan dengan acarbose dan ion nitrit yang diperoleh melalui *X-Ray Diffraction*, memiliki ID PDB 2QV4 (William *et al.*, 2008). Menggunakan *software molecular docking autodock* peneliti melakukan penambatan molekul antara bentuk tiga dimensi (3D) 14 jenis senyawa dalam kayu manis terhadap enzim α -amilase. Adapun senyawa-senyawa potensial tersebut diketahui terkandung di dalam *Cinnamomi Cortex*.

Analisis hasil penambatan berupa afinitas ikatan (ΔG), konstanta inhibisi (k_i), dan informasi atom-atom antara ligan dan target yang berinteraksi dengan ikatan hidrogen. Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan

reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin kecil pula energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan tersebut.

Maka dapat disimpulkan bahwa ikatan ligan dan target tersebut semakin baik karena hanya membutuhkan energi dengan jumlah kecil untuk membentuk ikatan (Hardjono *et al.*, 2012). Konstanta inhibisi menunjukkan seberapa besaran konstanta yang diperlukan untuk dapat menghambat enzim. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi, maka semakin kecil pula nilai yang diperlukan untuk menghambat enzim, maka dapat dikatakan ikatan tersebut memiliki afinitas yang baik. Langkah selanjutnya adalah melakukan visualisasi untuk menampilkan posisi atom-atom yang berinteraksi antara ligan dan target dan jarak ikatan hidrogen masing-masing ikatan.

Persiapan penambatan dimulai dari mempersiapkan berkas struktur tiga dimensi target. Target diperoleh dari bank data *Protein Data Bank* (PDB) melalui situs <https://www.rcsb.org/>. Ligan atau senyawa dalam bentuk 3D diakses melalui repositori pubchem. Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah proantosianidin A, (+)-katekin, (-)-katekin, (+)-epikatekin, eugenol, linalool, asam sinamat, kumarin, eugenil asetat, transinomaldehid, beta kariofilen, sinamil alkohol, benzil benzoat dan sinamil asetat. Langkah penambatan dimulai dari preparasi dan optimasi ligan dan target, menentukan parameter autogrid dan terakhir baru dilakukan penambatan menggunakan perangkat *autodock*. Hasil penambatan dianalisis menggunakan perangkat lunak *autodock* dan divisualisasi menggunakan perangkat lunak *Visual Molecular Docking* (VMD) dan *discovery tudio visualizer*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Berapa nilai afinitas ikatan (ΔG) yang diperlukan untuk membentuk ikatan antara senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* terhadap α -amilase (2QV4)?

2. Berapa nilai konstanta inhibisi dari senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* terhadap α -amilase (2QV4)?
3. Bagaimana interaksi ikatan antara senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* pada α -amilase (2QV4)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan nilai afinitas ikatan (ΔG) yang diperlukan untuk membentuk ikatan antara senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* terhadap α -amilase (2QV4)
2. Menentukan nilai konstanta inhibisi dari senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* terhadap reseptor α -amilase (2QV4)
3. Menentukan interaksi interaksi ikatan antara terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* dengan α -amilase (2QV4)

1.4 Manfaat Penelitian

Mengetahui afinitas dari interaksi antara senyawa potensial dalam *Cinnamomi Cortex* sebagai agen antidiabetes melalui ikatan pada sisi aktif enzim α -amilase ID PDB 2QV4 (William *et al.*, 2008) dengan penambatan molekul antara 14 jenis ligan senyawa terkandung dalam *Cinnamomi Cortex* pada target kompleks α -amilase, melalui parameter afinitas ikatan (ΔG), kostanta inhibisi (K_i), dan interaksi dengan ikatan hidrogen dan hidrofobik antara ligan dan target.