

STUDI IN SILICO POTENSI SENYAWA AKTIF EKSTRAK DAUN *ANNONA MURICATA* LINN AGEN HIPOGLIKEMIA MELALUI AKTIVASI PEROXISOME PROLIFERATOR ACTIVATOR RECEPTOR γ (PPAR γ) DAN GLIKOGEN SINTASE

Abdi Firdaus Masdianto, Reza Hakim, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Dari penelitian secara in vivo dan in vitro dibuktikan bahwa *Annona muricata* Linn sebagai agen hipoglikemia namun mekanismenya belum diketahui. Dengan demikian, penelitian ini bertujuan mengetahui bagaimana mekanisme senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn menurunkan glukosa darah melalui aktivasi PPAR γ dan glikogen sintase dilakukan secara in silico.

Metode: Penelitian secara in silico dilakukan pada senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn yang didapatkan dari studi literatur. Kontrol obat yang digunakan adalah pioglitazon dan protein target yang digunakan adalah PPAR γ dan glikogen sintase. Struktur 3D dari senyawa aktif diambil dari Pubchem dan kontrol obat dari uniprot. Homologi menggunakan swiss model <http://swissmodel.expasy.org>. Proses docking menggunakan metode *molecular docking* menggunakan web <http://www.dockingserver.com>. Analisa afinitas senyawa ligan terhadap protein target dengan membandingkan energi bebas, interaksi permukaan, dan residu asam amino dengan kontrol pioglitazon visualisasi menggunakan docking server. Analisa kesesuaian preparat oral dengan pKCSM senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn dan kontrol pioglitazon.

Hasil: Analisa afinitas menunjukkan 4 senyawa yang berikatan kuat dengan PPAR γ yakni *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin* dan *roseoside*. Sedangkan untuk glikogen sintase adalah *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *rutin*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, dan *roseoside*. Hasil fisikokimia diprediksi senyawa aktif *roseoside* mempunyai potensi dikembangkan sebagai kandidat obat yang diberikan secara per oral.

Kesimpulan: senyawa aktif *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin* dan *roseoside* memiliki efek hipoglikemia seperti pioglitazon dan hanya senyawa *roseoside* yang dapat diberikan secara per oral

Kata Kunci : hipoglikemia, *Annona muricata* Linn, in silico, fisikokimia

*Korespondensi:

Dini Sri Damayanti

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

+62-341-578920

dinisridamayanti@unisma.ac.id

ABSTRACT

Introduction: From in vivo and in vitro studies, it is proven that *Annona muricata* Linn is a hypoglycemic agent, but the mechanism is unknown. Thus, this study aims to determine how the mechanism of the active compound in *Annona muricata* Linn leaves lowers blood glucose through the activation of PPAR γ and glycogen synthase which was carried out by in silico method.

Method: This in silico study was conducted on the active compound leaves of *Annona muricata* Linn obtained from literature studies. The control drugs used were pioglitazone and the target proteins used were PPAR γ and glycogen synthase. 3D structures of active compounds extracted from Pubchem and drug control from uniprot. Homology using the swiss model <http://swissmodel.expasy.org>. The docking process uses the molecular docking method using the web <http://www.dockingserver.com>. Analysis of the affinity of ligand compounds to target proteins by comparing free energy, surface interactions, and amino acid residues with pioglitazone control. This is visualized by docking server. Analysis of the suitability of oral preparations with pKCSM of *Annona muricata* Linn leaf active compound and pioglitazone control.

Result: The affinity analysis showed that 4 compounds that bind strongly to PPAR γ are *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin* and *roseoside*. Meanwhile, glycogen synthase are *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *rutin*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, and *roseoside*. The physicochemical results predict that the active compound *roseoside* has the potential to be developed as a drug candidate that can be given orally.

Conclusion: The active compounds *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin* and *roseoside* have the effect of hypoglycemic such as pioglitazone but only *roseoside* compounds can be give oral preparations

Keyword: hypoglycemia, *Annona muricata* Linn, in silico, physicochemistry

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

+62-341-57892

dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes melitus tipe 2 adalah suatu penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemi, resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif¹. Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) diperkirakan angka penderita diabetes melitus di dunia pada tahun 2030 diprediksi 578,4 juta jiwa. Di Indonesia, menurut Badan Riset Statistik Indonesia pada tahun 2003 jumlah penduduk Indonesia yang berusia diatas 20 tahun sekitar 133 juta jiwa dengan prevalensi diabetes sebesar 21,9%. Pada tahun 2018 terjadi peningkatan prevalensi diabetes melitus sebesar 8,5%². Diabetes melitus tipe 2 jika tidak dikelola dengan baik dapat menyebabkan komplikasi. Salah satu komplikasinya adalah penyakit jantung¹. Data tersebut didukung oleh Badan Riset Statistik Indonesia pada tahun 2018 bahwa pasien penyakit jantung di Indonesia berjumlah 2,7 juta, jika dibiarkan semakin lama dapat menyebabkan kematian^{1,3}.

Salah satu obat menurunkan kadar glukosa darah yang diberikan pada pasien diabetes melitus tipe 2 adalah pioglitazon. Pioglitazon memiliki mekanisme sebagai agonis dari Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR γ). PPAR γ mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan cara meningkatkan GLUT4 pengangkut glukosa di sel otot, lemak, dan hati serta mengaktivasi sintesis glikogen di otot. Pioglitazon lebih efektif meningkatkan sensitivitas insulin dibanding dengan metformin^{4,5}, namun, obat ini memiliki efek samping yaitu retensi cairan sehingga meningkatkan resiko gagal jantung kongestif².

WHO mengembangkan pengobatan tradisional dengan memberikan pedoman strategi pengobatan tradisional kepada negara anggota⁶. Di Indonesia banyak bahan alam yang dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional salah satunya yaitu daun *Annona muricata* Linn⁷. Ekstrak daun *Annona muricata* Linn. mempunyai senyawa aktif diantaranya dari *Gallic acid*, *Epicatechine*, *Quercetin 3-O-rutinosid*, *Catechine*, *Kaempferol 3-O-rutinoside*, *Quercetin*, *Kaempferol*, *Annonaine*, *atherosperminine*, *Isolaureline*, *Xylopine*, *Annonamine*, *Reticuline*, *Stepharine*, *Anomurine*, *anomuricine*, *chlorogenic acid*, *coclaurine*, dan *corexime*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, *Annoionoside*, *Vomifoliol*, *Roseoside*, *(+)-Epiloliolide*, *Loliolide*, dan *rutin*⁸. Mengetahui senyawa untuk memanfaatkan tumbuhan sebagai obat – obatan⁹.

Ekstrak methanol dan etanol daun *Annona muricata* Linn. memiliki fungsi untuk menurunkan hiperglikemi^{10,7}. Protein target PPAR γ dan glikogen sintase dipilih karena *active site* dari terapi pioglitazon. Mekanisme kerja senyawa herbal dapat diprediksi menggunakan pendekatan *in silico*. studi *in silico* adalah

suatu metode untuk mengidentifikasi senyawa baru secara komputasi. Kelebihan studi *in silico* adalah butuh waktu sebentar dan murah untuk mengidentifikasi mekanisme ligan dan protein target namun, kekurangannya adalah memiliki kemungkinan prediksi yang tidak akurat. Studi *in silico* terdapat tiga metode yaitu molekular docking, formasi kimia, dan bioinformatika namun, penelitian ini menggunakan metode *molecular docking* dan fisikokimia¹¹. Selama ini studi *in silico* senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. terhadap protein target PPAR γ dan glikogen sintase belum pernah dilakukan. Penjelasan tersebut mendorong peneliti untuk melakukan studi *in silico*, fisikokimia, fisikokinetik, dan toksisitas senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn terhadap protein PPAR γ dan glikogen sintase.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan metode komputasi melakukan penambatan senyawa aktif ekstrak daun *Annona muricata* Linn. yang terdiri dari *Gallic acid*, *Epicatechine*, *Quercetin 3-O-rutinosid*, *Catechine*, *Kaempferol 3-O-rutinoside*, *Quercetin*, *Kaempferol*, *Annonaine*, *atherosperminine*, *Isolaureline*, *Xylopine*, *Annonamine*, *Reticuline*, *Stepharine*, *Anomurine*, *anomuricine*, *chlorogenic acid*, *coclaurine*, *corexime*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, *Annoionoside*, *Vomifoliol*, *Roseoside*, *(+)-Epiloliolide*, *Loliolide*, dan *rutin* terhadap protein target PPAR γ dan glikogen sintase⁸.

Alat dan Bahan

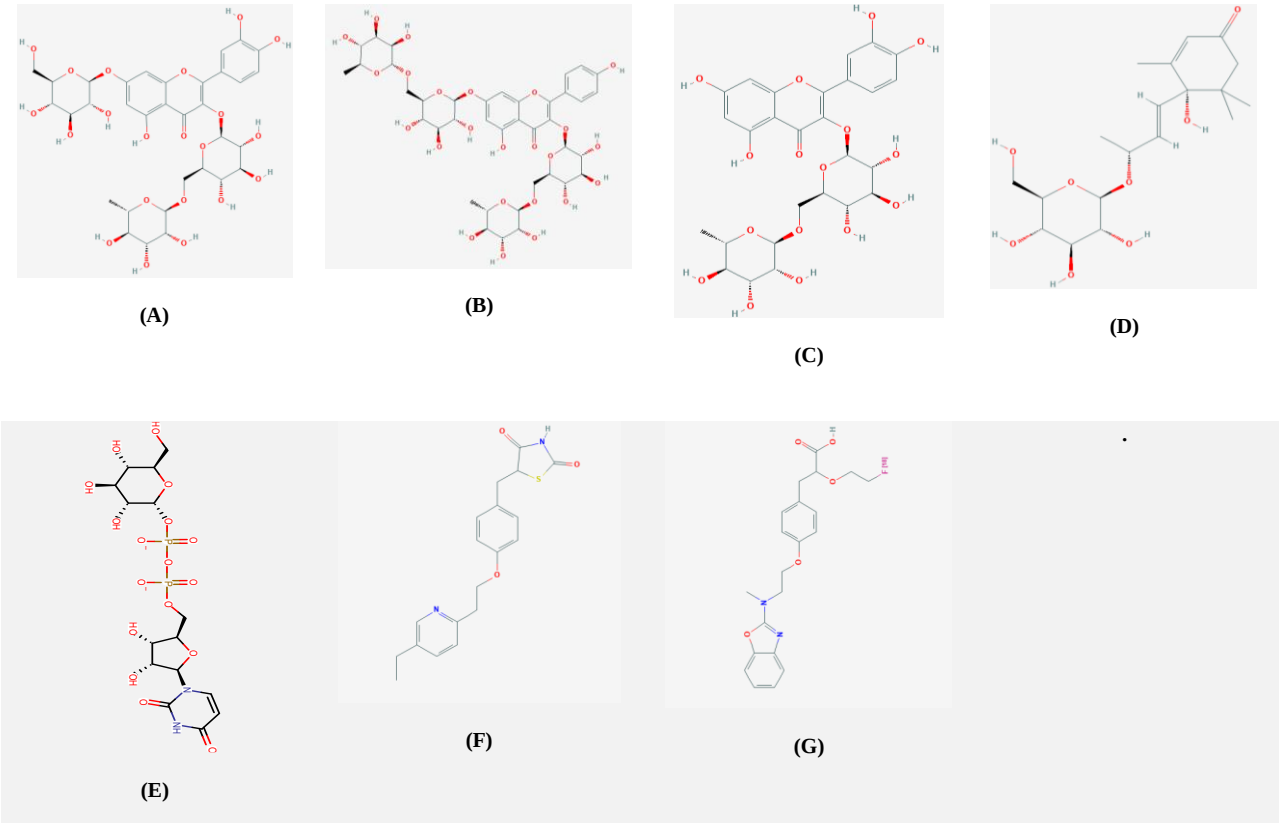
Penelitian ini menggunakan alat berupa perangkat keras komputer dengan spesifikasi Dual Quadcore 2,33 GHZ, RAM 2 GB, koneksi internet dan *web docking* server pada (<http://www.dockingserver.com>) dan *web pKCSM* pada server (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>)^{12,13}.

Bahan yang diperlukan dalam melakukan penambatan molekul yaitu struktur senyawa aktif ekstrak daun *Annona muricata* Linn yang didapatkan dari Pubchem. Struktur obat pioglitazon (CID Pubchem: 4829) yang diunduh melalui website Pubchem (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur tiga dimensi protein target PPAR γ (PDB ID: 12964619) dan glikogen sintase (PDB ID: 102586614) yang diunduh dari website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/search>). Analisa fisikokimia dilakukan pKCSM yang dapat diakses melalui *web* yaitu (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml>)¹⁴.

Teknik Analisis Data

Hasil uji *in silico* diamati dengan parameter energi ikatan bebas, interaksi permukaan dan residu asam amino antara ligan dan protein target dan hasil uji

fisikokimia diamati dengan parameter kelarutan, absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas, dan *lipinski rules*^{12,13}.



Gambar 1. Senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn antara lain (A)*quercetine 3-neohesperidoside*, (B)*kaempferol 3-O-rutinoside*, (C)*rutin*, (D)*roseoside*, (E)*Pioglitazon*, (F)*PPARγ*, dan (G)*Glikogen sintase*

HASIL PENELITIAN

Fisikokimia Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dan *Pioglitazon*

Hasil fisikokimia senyawa zat aktif daun *Annona muricata* Linn. terhadap *pioglitazon* pada Tabel 3. menunjukkan bahwa *pioglitazon* memiliki nilai kelarutan dalam air sebesar -4,309, nilai absorpsi 92,422, nilai distribusi -0,591, metabolisme dari *pioglitazon* mengaktifkan CYP3A4 substrate dan menghambat CYP2C19, nilai ekskresi yang dikeluarkan melalui urin 0,267, tidak toksik, dan dapat memenuhi kriteria *lipinski rule*.

Senyawa yang memiliki kelarutan dalam air dari yang terbaik yaitu *quercetine 3-neohesperidoside* dan *rutin* dengan nilai -2,892 mol/L, *kaempferol 3-O-rutinoside* dengan nilai -2,891 mol/L, dan *roseoside*

dengan nilai -2,613 mol/L. Senyawa yang memiliki absorpsi yang baik yaitu *roseoside* dengan nilai 47,786%. Senyawa yang memiliki nilai distribusi menuju *block brain barrier* dari yang terbaik yaitu *kaempferol 3-O-rutinoside* dengan nilai -2,707 BB, *rutin* dengan nilai -1,899 BB, *quercetine 3-neohesperidoside* dengan nilai -1,733 BB, dan *roseoside* dengan nilai -1,067 BB. Senyawa yang memiliki nilai distribusi untuk mengikat ke protein darah dari yang terbaik yaitu *rutin* dengan nilai 0,187 Fu, *quercetine 3-neohesperidoside* dengan nilai 0,205 Fu, *kaempferol 3-O-rutinoside* dengan nilai 0,241 Fu, dan *roseoside* dengan nilai 0,601 Fu. Senyawa yang diekskresikan melalui urin yaitu *roseoside*. 4 senyawa daun *Annona muricata* Linn. tidak memiliki kriteria *lipinski rule* (*rule of five*). Namun 4 senyawa daun *Annona muricata* Linn. tidak toksik terhadap manusia.

Tabel 1 Hasil Fisikokimia Kimia Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dan *Pioglitazon*

Senyawa	CID	Rumus kimia	Kelarutan (mol/ml)	Absorpsi (%)	Distribusi BBB dan Unbound	Metabolisme	Ekskresi	Lipinski rule	Toksitas
Annoionol A	101564134	C ₁₃ H ₂₆ O ₃	-1,72	93,405	-0,151 dan 0,509	-	1,233	memenuhi	Tidak

Annoionol B	101564135	C ₁₃ H ₂₄ O ₄	-1,567	47,443	-0,592 dan 0,636	-	1,335	memenuhi	Tidak
Annoionoside	101564136	C ₁₉ H ₃₄ O ₉	-2,211	26,208	-1,204 dan 0,724	-	1,388	Tidak memenuhi	Tidak
Annonamine	5692988 1	C ₁₉ H ₂₂ NO ₂ ⁺	-4,054	97,353	0,694 dan 0,121	CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,06	memenuhi	Ya
Anomuricine	157209	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	-3,077	90,876	-0,332 dan 0,221	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, dan CYP2D6 inhibitor	1,003	Tidak memenuhi	Ya
Anomurine	157218	C ₂₀ H ₂₅ NO ₄	-3,219	92,132	-0,265 dan 0,19	CYP3A4 substrate, CYP1A2 substrate, dan CYP2D6 inhibitor	1	Tidak memenuhi	Ya
Anonaine	160597	C ₁₇ H ₁₅ NO ₂	-3,635	95,172	0,256 dan 0,135	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,106	memenuhi	Ya
Atherosperminine	96918	C ₂₀ H ₂₃ NO ₂	-4,741	96,569	0,594 dan 0,105	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2D6 inhibitor	0,874	memenuhi	Ya
Catechine	91696999	C ₃₀ H ₅₄ O ₆ Si ₅	-7,577	87,457	-0,509 dan 0	CYP3A4 substrate, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, dan CYP3A4 inhibitor	-0,414	Tidak memenuhi	Tidak
Chlorogenic acid	1794427	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	-2,449	36,377	-1,407 dan 0,658	-	0,307	Tidak memenuhi	Tidak
Coclaurine	160487	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃	-3,27	92,875	0,177 dan 0,277	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,075	memenuhi	Ya
Coreximine	7037179	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	-3,072	92,388	0,127 dan 0,382	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,111	Tidak memenuhi	Tidak
Epicatechine	182232	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	-3,117	68,829	-1,054 dan 0,235	-	0,183	Tidak memenuhi	Tidak
Epiloliolide	4451180 8	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	-1,708	95,935	-0,189 dan 0,614	-	1,042	memenuhi	Tidak
Gallic acid	37 0	C ₇ H ₆ O ₅	-2,56	43,374	-1,102 dan 0,617	-	0,518	memenuhi	Tidak
Isolaureline	12311076	C ₁₉ H ₁₉ NO ₃	-3,788	96,679	0,32 dan 0,147	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,044	memenuhi	Ya
Kaempferol 3-O-rutinoside	102180242	C ₃₉ H ₅₀ O ₂₄	-2,891	0	-2,707 dan 0,241	-	-0,418	Tidak memenuhi	Tidak

Kaempferol	5280863	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	-3,04	74,29	-0,939 dan 0,178	CYP1A2 inhibitor	0,477	memenuhi	Tidak
Lolilolide	100332	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	-1,708	95,935	-0,189 dan 0,614	-	1,042	memenuhi	Tidak
Quercetin 3-neohesperidoside	5491657	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-2,892	22,328	-1,733 dan 0,205	-	-0,351	Tidak memenuhi	Tidak
Quercetin	5280343	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-2,925	77,207	-1,098 dan 0,206	CYP1A2 inhibitor	0,407	Tidak memenuhi	Tidak
Reticuline	439653	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	-3,856	91,276	-0,502 dan 0,134	CYP2D6 substrate, CYP3A4 substrate, dan CYP1A2 inhibitor,	1,04	Tidak memenuhi	Tidak
Roseoside	9930064	C ₁₉ H ₃₀ O ₈	-2,613	47,786	-1,067 dan 0,601	-	1,389	memenuhi	Tidak
Rutin	5280805	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	-2,892	23,44	-1,899 dan 0,187	-	-0,369	Tidak memenuhi	Tidak
Stepharine	98455	C ₁₈ H ₁₉ NO ₃	-1,994	95,751	0,228 dan 0,518	CYP3A4 substrate dan CYP2D6 inhibitor	1,094	memenuhi	Ya
Vomifolol	5280462	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	-1,637	94,956	-0,084 dan 0,553	-	1,355	memenuhi	Tidak
Xylopine	160503	C ₁₈ H ₁₇ NO ₃	-2,972	91,985	0,343 dan 0,281	CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, dan CYP2D6 inhibitor	1,073	memenuhi	Ya
Pioglitazon	4829	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O ₃ S	-4,309	92,422	-0,591 dan 0,017	CYP3A4 substrate dan CYP2C19 inhibitor	-0,044	memenuhi	Tidak

Keterangan : angka CID dan rumus kimia didapatkan dari Pubchem. Angka normal kelarutan : -1, absorpsi : >30%, distribusi : , metabolisme : tidak mengaktifasi enzim, ekskresi, lipinski rule's : berat molekul 500; LogP <5; HBA <10; HBD <5; PSA <140Å, dan toksisitas : tidak, didapatkan dari pKCSM

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn dengan PPAR γ

Studi *in silico* interaksi ligan senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn dengan protein target PPAR γ sesuai dengan **gambar 1, 2 dan 3** yang disajikan pada **Tabel 2**. Afinitas energi bebas mulai dari terendah berturut-turut yaitu senyawa *quercetin 3-O-neohesperosidoside* dengan nilai -13,04 kcal/mol, *Kaempferol 3-O-rutinoside* sebesar -11,68 kcal/mol, *rutin* sebesar -9,81 kcal/mol, *roseoside* sebesar -8,46 kcal/mol berada dibawah nilai pioglitazon. Senyawa dengan afinitas Interaksi permukaan dari yang tertinggi berturut-turut yaitu senyawa *quercetin 3-O-neohesperosidoside* sebesar 1333,401 Å, *Kaempferol 3-*

O-rutinoside sebesar 1244,341 Å, *rutin* sebesar 1291,953 Å, *roseoside* sebesar 887,147 Å. Senyawa *rutin* memiliki kesamaan dari residu asam amino terhadap PPAR γ yang terbanyak yaitu sebanyak 9 residu asam amino, diikuti oleh senyawa *roseoside* memiliki kesamaan 7 residu asam amino, *kaempferol 3-O-rutinoside* memiliki kesamaan 6 residu asam amino, dan *quercetin 3-O-neohesperosidoside* memiliki kesamaan 4 residu asam amino, keempatnya berada dibawah nilai kontrol pioglitazon.

Dari hasil tersebut disimpulkan yang memiliki afinitas tertinggi untuk berikatan dengan protein target PPAR γ adalah senyawa *quercetin 3-O-neohesperosidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin*, dan *roseoside*.

Tabel 2. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dan pioglitazon Terhadap PPAR γ

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibanding Pioglitazon	Jumlah persamaan residu asam amino
Annonol A	-6,56	602,577	Hidrogen : SER317 Polar : ARG316, GLU323 Hidrofobik : : LEU358 , MET357, ALA320, ILE354, LEU361	2	13%

<i>Annoionol B</i>	-5,82	624,597	Hidrogen: GLU323 Kation-pi: PHE254 Hidrofobik: LEU256, LEU361, MET357, PRO255, ILE354, ALA320 Lain-lainnya: ILE324	0	0%
<i>Annoionoside</i>	-8,59	887,147	Hidrogen: CYS313 Polar: GLU323 Hidrofobik: LU256, LEU358 , PRO255, LEU361, ILE354, ALA320, MET357 Lain-lainnya: ILE369 , SER317 , ARG316	4	326%
<i>Annonamine</i>	-8,13	748,803	Hydrophobic : LEU361, LEU358 , MET357, ILE354, PRO255, PHE254, ALA320 Lain lain : ARG316, GLU319, GLU323, LEU256	1	6%
<i>Annomuricine</i>	-8,25	827,674	Hidrogen: GLU323 Polar: ARG316 Hidrofobik: LEU361, MET357, PRO255, ALA320, LEU256 Lain-lainnya: TYR250, SER360	0	0%
<i>Anomurine</i>	-7,88	859,086	Hidrogen: GLU323 Polar: ARG316 Hidrofobik: MET357, LEU361, LEU256, ALA320 Lain-lainnya: SER360, TYR250	0	0%
<i>Anonaine</i>	-8,03	672,863	Hidrogen: GLU323 Kation-pi: PHE254 Hidrofobik: MET357, LEU256, LEU361, ILE354, ALA320, LEU358 Lain-lainnya: PRO255	1	6%
<i>Atherosperminine</i>	-7,78	814,017	Hidrogen : GLU323 Kation-pi: PHE254 Hidrofobik: LEU358 , LEU361, ILE354, MET357, LEU256, PRO255 Lain-lainnya: GLU371, ARG316	1	6%
<i>Catechine</i>	-7,02	671,431	Polar: GLU323, ARG316, GLU371, GLU319 Hydrophobic : PHE254, MET357, LEU256, LEU361, ILE354, ALA320 Lain-lainnya: ILE324	0	0%
<i>Chlorogenic Acid</i>	-8,06	1056,9	Hidrogen: CYS313 Polar: ARG316 Hidrofobik: LEU361, LEU358 , ILE369 Lain-lainnya: LEU256, PRO255, PHE254, VAL367 , GLU323, MET392	5	33,3%
<i>Coclaurine</i>	-7,51	725,016	Hidrogen: GLU323 Polar: ARG316, GLU319 Hidrofobik: LEU361, LEU256, MET357, PRO255, ALA320	0	0%
<i>Coreximine</i>	-6,77	1137,909	Polar: GLU323, Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: CYS313 , ILE369 Lain-lainnya: ARG316, GLU319, MET392 , ALA320	4	26%
<i>Epicatechine</i>	-6,42	716,924	Polar: HIS477 , GLN311 , TYR355, SER317 , TYR501 , HIS351 Hidrofobik: PHE310 , PHE391 , LEU481 , ILE354 Lain-lainnya: GLN314 , LEU358	7	46%
<i>Epiloliolide</i>	-6,32	499,644	Polar: GLU323 Hidrofobik: MET357, PHE254, LEU361, ALA320, PRO255 Lain-lainnya: ILE324	0	0%

<i>Gallic Acid</i>	-5,00	489,6	Hidrogen: GLN314 Polar: HIS477 , LYS395, TYR501 Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: PHE391 Lain-lainnya: TYR355, MET392 , CYS313	8	72%
<i>Isolaureline</i>	-7,43	765,353	Hidrogen: GLU323 Polar: SER317 Hidrofobik: MET357, LEU256, LEU361, LEU358 , PRO255, ALA320 Lain-lainnya: ARG316, GLU319	2	13%
<i>Kaempferol 3-O-rutinoside</i>	-11,69	1244,341	Hidrogen: SER317 Polar: HIS477 , TYR355, ARG316 Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: LEU256, PHE391 , CYS313 , LEU358 , ILE354 Lain-lainnya: ILE369 , VAL367 , PHE254, MET392 , LEU361	9	60%
<i>Kaempferol</i>	-6,28	727,958	Hidrogen: GLN311 , SER317 Polar: GLN314 , TYR501 Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: LEU481 Lain-lainnya: ILE484 , MET491, MET392	8	53%
<i>Loliolide</i>	-6,33	508,119	Polar: GLU323 Kation-pi: PHE254 Hidrofobik: MET357, LEU361, LEU256 Lain-lainnya: LEU358 , ILE354, ALA320, PRO255	1	6%
<i>Quercetin 3-O-neohesperidoside</i>	-13,04	1333,401	Hidrogen: SER370 Polar: SER317 , GLU371, ARG 316 Hidrofobik: LEU358 , ILE369 , MET357, LEU361, ILE354, ALA320, CYS313 Lain-lainnya: GLU323	4	26%
<i>Quercetin</i>	-6,71	692,701	Hidrogen: TYR501 Polar: GLN314 , HIS477 , GLN311 , SER317 Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: PHE391 , TYR355, LEU481 , ILE484 Lain-lainnya: LYS395, ILE354, LEU497, MET392	9	60%
<i>Reticuline</i>	-7,39	833,465	Hidrogen: SER317 Polar: ARG316 Hidrofobik: ILE354, PHE254, MET357, ALA320, PRO255, LEU256, ILE324, CYS313 Lain-lainnya: GLU323, GLU371	2	13%
<i>Roseoside</i>	-8,46	887,429	Hidrogen: SER317 , HIS351 Polar: TYR501 Hidrofobik: CYS313 , TYR355, MET392 , LEU358 , ILE354, PHE310 Lain-lainnya: LEU497, GLN314 , ARG316	6	40%
<i>Rutin</i>	-9,81	1291,953	Hidrogen: SER317 , SER370 Polar: ARG316, TYR501 , GLU323 Kation-pi: PHE310 Hidrofobik: ILE369 , LEU358 , HIS477 , PHE391 , MET392 , CYS313 , LEU361 Lain-lainnya: GLN314 , VAL367 , ALA320	11	73%
<i>Stepharine</i>	-7,98	740,571	Hidrogen: GLU371, GLU323 Kation-pi: PHE254 Hidrofobik: MET357, LEU256, ALA320, LEU361, LEU358 , ILE354 Lain-lainnya: PRO255	1	6%

<i>Vomifolol</i>	-6,20	598,188	Polar: ARG316, GLU323 Hidrofobik: PHE254, MET357, ALA320, PRO255, LEU256 Lain-lainnya: LEU361, TYR250, SER360	0	0%
<i>Xylopine</i>	-7,92	762,409	Hidrogen: SER317, GLU323 Hidrofobik: LEU256, LEU361, ILE354, LEU358, PRO255, ALA320	2	13%
<i>Pioglitazone</i>	-7,75	929,362	Polar: GLN314, HIS477, TYR501 Hidrofobik: PHE310, PHE391, CYS313, LEU481, MET392, ILE484, PHE388, LEU358 Lain-lainnya: GLN311, SER317, VAL367, ILE369	15	100%

Keterangan: Nilai normal energi ikatan bebas : ≤ -7 , interaksi permukaan : diatas kontrol, residu asam amino: mendekati kontrol. Teks ditebali merupakan residu asam amino yang memiliki kesamaan dengan obat kontrol.

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn dengan Glikogen Sintase

Studi *in silico* interaksi ligan senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn dengan protein target glikogen sintase sesuai dengan **gambar 1, 2 dan 3** yang disajikan pada **Tabel 3**. Nilai afinitas dari tertinggi dari parameter energi ikatan bebas berturut- turut yaitu senyawa *quercetin 3-O-rutinoside* dengan nilai -7,34 kcal/mol, *rutin* dengan nilai -8,39 kcal/mol. *kaempferol 3-O-rutinoside* dengan nilai -7,34 kcal/mol, dan *roseoside* dengan nilai -6,16 kcal/mol. Nilai interaksi permukaan dari terbesar secara berturut-turut adalah *kaempferol 3-O-rutinoside* sebesar 666.821 Å, *roseoside* sebesar

601,587 , *quercetin 3-neohesperidoside* sebesar 541,219, dan *rutin* sebesar 518,294. Kesamaan ikatan residu asam amino terhadap pioglitazon dari yang terbanyak didapatkan senyawa *roseoside* memiliki kesamaan 7 residu asam amino, *quercetin 3-neohesperidoside*, *rutin*, dan yaitu *kaempferol 3-O-rutinoside* memiliki kesamaan 4 residu asam amino.

Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan energi bebas, interaksi permukaan, dan residu asam amino, senyawa umbi bawang lanang yang memiliki afinitas tertinggi terhadap protein target glikogen sintase seara berurutan adalah *quercetin 3-neohesperidoside*, *rutin*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, dan *roseoside*.

Tabel 3 Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn dan Pioglitazon Terhadap Glikogen Sintase

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah residu asam amino dibanding Pioglitazon	Jumlah persamaan residu asam amino
<i>Annoionol A</i>	-3,95	492,415	Polar: ASN295 Kation-pi: HIS291 Hidrofobik: ILE583, HIS297, ALA298	4	36%
<i>Annoionol B</i>	-3,29	500,717	Polar: ARG579, HIS297, ARG586, ASN295, ARG582, HIS501, GLN294 Hidrofobik: ILE583, ALA298 Lain-lainnya: LYS301	9	81%
<i>Annoionoside</i>	-5,14	563,469	Hidrogen: LYS301 Polar: ARG579, ASN295, ASP321 Hidrofobik: ILE583, ALA298, HIS297 Lain-lainnya: GLN294, ARG586	7	63%
<i>Annonamine</i>	-4,61	523,771	Polar: ASN295 Hidrofobik: ILE583, HIS297, HIS291, ALA298	4	36%
<i>Anomuricine</i>	-3,83	555,433	Hidrogen: ASN295 Polar: ARG579, ARG586 Hidrofobik: ILE583, HIS297, ALA298 Lain-lainnya: GLN294	6	54%
<i>Anomurine</i>	-3,67	551,965	Hidrogen: LYS301, ASN295 Polar: ARG579 Hidrofobik: HIS297, ILE583, ALA298 Lain-lainnya: GLN294, ARG582, ARG586	8	72%
<i>Anonaine</i>	-4,26	489,597	Hidrogen: ASN295 Hidrofobik: HIS291, ILE583 Lain-lainnya: GLN294, ASN587, ARG586	7	63%

<i>Atherosperminine</i>	-3,70	553,014	Hidrogen: ASN295 Hidrofobik: ILE583, HIS297 Lain-lainnya: ARG579, GLN294, ARG586, LYS301	8	72%
<i>Catechine</i>	-4,98	533,983	Polar: ARG579, HIS297, ASN295, ARG586, LYS301 Hidrofobik: ILE583, ALA298 Lain-lainnya: GLN294	7	63%
<i>Chlorogenic acid</i>	-5,87	568,543	Polar: GLN294, ARG579, ASN295, LYS301, ARG586, ASP321 Kation-pi: HIS297 Hidrofobik: ILE583, ALA298	7	63%
<i>Coclaurine</i>	-4,27	596,753	Hidrogen: ARG586, ASN295 Polar: ASN587, ARG579, LYS301, GLN294 Hidrofobik: HIS291, ALA298, ILE583	9	81%
<i>Coreximine</i>	-4,82	627,16	Polar: HIS297, ASN295, ASN587, LYS301, ARG586 Hidrofobik: HIS291, ILE583, ALA298 Lain-lainnya: GLN294	3	27%
<i>Epicatechine</i>	-4,45	521,508	Polar: ASN295, ASN587, ARG586 Kation-pi: HIS297 Hidrofobik: ILE583, HIS291, ALA298 Lain-lainnya: GLN294	2	18%
<i>Epiloliolide</i>	-3,75	378,67	Polar: GLN294, ARG586, ASN295 Kation-pi: HIS291 Hidrofobik : ILE583 Lain-lainnya : HIS297	2	18%
<i>Gallic acid</i>	-5,47	371,392	Hidrogen: ARG579, LYS301 Polar: ARG582, GLN294, HIS501, ARG586 Hidrofobik: HIS297 Lain-lainnya: ALA298	6	54%
<i>Isolaureline</i>	-4,82	544,034	Hidrogen: ASN295 Polar: ARG586 Hidrofobik: HIS291, ILE583, HIS297, ALA298 Lain-lainnya: GLN294, ASN587	2	18%
<i>Kaempferol 3-O-rutinoside</i>	-7,34	666,821	Polar: ARG580, ARG579, ASN587, ASN295 Hidrofobik: ILE583 Lain-lainnya: GLN294, ILE584	1	9%
<i>Kaempferol</i>	-4,85	534,828	Hidrogen: LYS301, ARG586 Polar: ARG579, GLN294, ASN295, ASP321 Hidrofobik: ALA298 Lain-lainnya: HIS297, ILE583	4	36%
<i>Loliolide</i>	-3,66	374,454	Polar: GLN294, ARG586, ASN295 Kation-pi: HIS291 Hidrofobik: ILE583	1	9%
<i>Quercetin 3-neohesperidoside</i>	-9,27	541,219	Hidrogen: LYS301 Polar: ARG579, ARG582, ARG586 Hidrofobik: HIS297, ALA298 Lain-lainnya: ASP321	5	45%
<i>Quercetin</i>	-5,44	508,702	Hidrogen: LYS301 Polar: ARG579, HIS297, ARG586, GLN294, ASN295, ASP321 Hidrofobik: ALA298	4	36%
<i>Reticuline</i>	-3,94	512,547	Hidrogen: ASN295 Polar: ARG579 Kation-pi: HIS291 Hidrofobik: ILE583, ALA298 Lain-lainnya: GLN294, ASN587	1	9%
<i>Roseoside</i>	-6,16	601,587	Hidrogen: ARG579 Polar: HIS291, LYS301, ASN295 Hidrofobik: ILE583, HIS297, ALA298 Lain-lainnya: GLN294, ARG586	4	36%
<i>Rutin</i>	-8,39	518,294	Polar: GLN294, ASN295, GLN299, ARG586 Hidrofobik: ILE583, ALA298 Lain-lainnya: ARG579	2	18%

<i>Stepharine</i>	-4,20	500,899	Hidrogen: ASN295 Hidrofobik: HIS291, ILE583 Lain-lainnya: GLN294, ASN587	0	0%
<i>Vomifoliot</i>	-3,76	483,716	Polar: ARG579, HIS297, ARG586, ASN295 Hidrofobik: ALA298, ILE583 Lain-lainnya: GLN294, LYS301	4	36%
<i>Xylopine</i>	-4,82	517,398	Hidrogen: ASN295 Polar: GLN294, ARG586, ASN587 Hidrofobik: HIS291, ILE583, HIS297, ALA298	2	18%
<i>Pioglitazone</i>	-6,95	639,19	Hidrogen: ARG582, HIS501 Polar: HIS297, ARG579, LYS301, ASN295 Hidrofobik: ILE583, HIS291 Lain-lainnya: GLN294, ARG586, ASN587	11	100%

Keterangan: Nilai normal energi ikatan bebas : ≤ -7 , interaksi permukaan : diatas kontrol, residu asam amino: mendekati kontrol. Teks ditebali merupakan residu asam amino yang memiliki kesamaan dengan obat kontrol.

PEMBAHASAN

Fisikokimia Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dan Pioglitazon

Berdasarkan dari fisikokimia didapatkan bahwa dari empat senyawa aktif *quarctetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin*, dan *roseoside* tidak memiliki kelarutan yang lebih baik daripada kontrol pioglitazon, namun *roseoside* mempunyai kelarutan lebih baik dibanding senyawa lain. Semakin rendah nilai kelarutan maka senyawa semakin larut dalam air sehingga meningkatkan penyerapan¹⁶. Kelarutan senyawa dalam air menggambarkan bahwa senyawa tersebut larut dalam air pada suhu ruangan. Obat yang lebih larut dalam air dapat diserap dengan baik dibandingkan dengan obat yang tidak larut air¹⁴.

Nilai absorpsi empat senyawa yaitu *quarctetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin*, dan *roseoside* tidak lebih baik dibanding dengan control. Dari empat senyawa hanya senyawa *roseoside* yang dapat diabsorpsi dengan baik dengan nilai 47,786%. Nilai absorpsi di intestinal berfungsi untuk memprediksi senyawa yang diserap oleh tubuh. Absorpsi dikatakan baik ketika memiliki nilai lebih dari 30%¹⁴.

Distribusi *blood brain barrier* dari empat senyawa yaitu *quarctetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin*, dan *roseoside* kurang dari -1 sehingga memiliki kemungkinan untuk tidak dapat menembus *blood brain barrier*. Obat yang memiliki nilai distribus *blood brain barrier* yang lebih dari tiga menggambarkan bahwa dapat menembus *blood brain barrier* memiliki efek samping dan toksisitas di otak. Sedangkan, nilai distribusi *blood brain barrier* kurang dari -1 menggambarkan senyawa tidak dapat menembus *blood brain barrier*¹⁷.

Nilai distribusi *unbound* empat senyawa yaitu *quarctetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin*, dan *roseoside* memiliki nilai yang lebih tinggi dari kontrol pioglitazon sebesar 0,017. Nilai distribusi *unbound* berfungsi untuk memprediksi seberapa besar senyawa berikatan dengan protein plasma darah¹⁸. Nilai distribusi *unbound* semakin besar maka senyawa semakin banyak yang tidak terikat dengan protein plasma darah sehingga dapat menunjukkan fungsi farmakologisnya^{19,20}.

Empat senyawa daun *Annona muricata* Linn. diprediski tidak mengaktifkan maupun menghinibisi golongan enzim CYP450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4). Induksi CYP450 oleh senyawa aktif daun *Annona muricara* Linn dan pioglitazon menyebabkan meningkatnya metabolik yang bersifat reaktif sehingga memungkinkan timbulnya risiko tokisisitas²¹. Enzim CYP450 ini berfungsi untuk detoksifikasi utamanya di hati. Terdapat beberapa senyawa yang mengaktifkan enzim dan menghambat enzim. Diperlukan kurang dari 10 μm untuk menghambat enzim CYP450¹⁴.

Selain itu, nilai ekskresi *total clearance* empat senyawa daun *Annona muricata* Linn yaitu *quercetine 3-neohesperidoside* sebesar -0,351, *rutin* sebesar -0,369, *kaempferol 3-O-rutinoside* sebesar -0,418 dan *roseoside* sebesar 1,389. Nilai ekskresi *total clearance* memprediksi kliren senyawa dalam plasma dikeluarkan oleh hepar, bilier, dan ginjal. Hal ini bertujuan untuk memprediksi dosis obat yang diberikan kepada pasien²¹. *Total clearance* memiliki satuan yaitu mililiter per menit per kilogram (ml/menit/kg)¹⁴. Sedangkan empat senyawa daun *Annona muricata* Linn. diprediksi hanya senyawa *roseoside* yang dapat eksresikan oleh hepar, bilier, dan ginjal.

Lipinski rule adalah lima parameter saat ditemukan senyawa baru untuk dianalisis menjadi obat di laboratorium medis. Lima parameter tersebut yaitu berat massa molekul kurang dari 500, LogP kurang dari lima, donor hidrogen kurang dari lima, hidrogen acceptor kurang dari 10 dan luas permukaan kurang dari 140 Å²². Berdasarkan hasil fisikokimia didapatkan hanya senyawa *roseoside* yang memenuhi kriteria *lipinski rule of five*. sehingga senyawa *roseoside* diprediksi dapat sebagai obat oral.

Senyawa *roseoside* adalah salah satu golongan dari senyawa terpenoid yang dapat ditarik oleh pelarut heksana⁸. Senyawa terpenoid memiliki potensi menurunkan hiperglikemia melalui mekanisme penghambatan AGEs²³.

Pioglitazon Mengaktivasi PPAR γ

Pioglitazon adalah salah satu pilihan obat menurunkan hiperglikemia dari golongan tiazolidindion. Pioglitazon diberikan secara oral kepada pasien dewasa penderita hiperglikemia²⁴. Pioglitazon memiliki mekanisme mengaktifkan PPAR γ . PPAR γ mengubah transkripsi gen GLUT 4 yang berada di otot agar sensitif terhadap insulin. Sehingga, pemanfaatan dan penyimpanan glukosa di otot lebih maksimal. Mekanisme ini menyebabkan penurunan hiperglikemia dan mengurangi resistensi insulin^{25,26}.

Berdasarkan hasil penambatan antara pioglitazon dengan PPAR γ didapatkan nilai energi ikatan bebas sebesar -7,57 kcal/mol, interaksi permukaan sebesar 929,362 Å, dan memiliki residu asam amino sebanyak 15 diantaranya ikatan polar pada GLN314, HIS477, dan TYR501, ikatan hidrofobik pada PHE310, PHE391, CYS313, LEU481, MET392, ILE484, PHE388, LEU358, dan ikatan lain – lainnya pada GLN311, SER317, VAL367. Dapat disimpulkan bahwa pioglitazon memiliki afinitas yang baik terhadap protein PPAR γ . Penelitian ini didukung oleh hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa pioglitazon yang merupakan salah satu golongan dari tiazolidindion yang mengaktifkan PPAR γ ²⁷.

Pioglitazon Mengaktivasi Glikogen Sintase

Pioglitazon juga berperan meningkatkan glikogenesis melalui aktivasi enzim glikogen sintase yang berperan mengubah glukosa menjadi glikogen. Mekanisme ini menyebabkan peningkatan penggunaan

dan transport glukosa ke dalam sel otot sehingga menurunkan hiperglikemia²⁸.

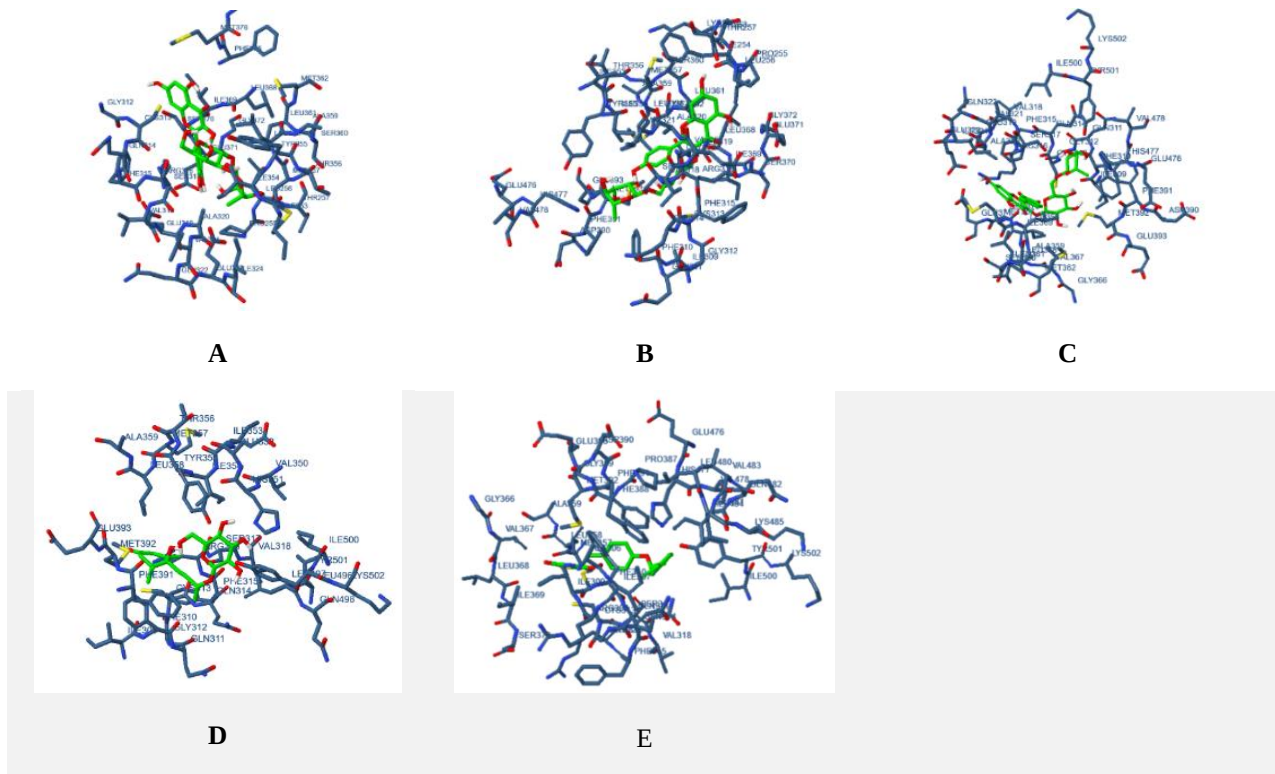
Berdasarkan hasil penambatan antara pioglitazon dengan glikogen sintase didapatkan hasil energi ikatan bebas sebesar -6,95 kcal/mol, interaksi permukaan sebesar 639,19 Å, memiliki residu asam amino sebanyak 11 antara lain ARG582, HIS501, HIS297, ARG579, LYS301, ASN295, ILE583, HIS291, GLN294, ARG586, ASN587. Ikatan hidrogen sebanyak 2 pada posisi ikatan dengan ARG582 dan HIS501. Dapat disimpulkan bahwa pioglitazon memiliki afinitas yang baik terhadap enzim glikogen sintase. Hal ini didukung dari penelitian yang menyebutkan bahwa pioglitazon dapat mengaktivasi glikogen sintase sehingga meningkatkan sensitivitas insulin²⁹.

Afinitas Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dalam Mengaktivasi PPAR γ

Berdasarkan hasil penambatan sesuai pada **tabel 2**, menunjukkan bahwa dari 26 senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. Teridentifikasi empat senyawa yang memiliki afinitas lebih tinggi berdasarkan energi ikatan bebas dibanding dengan pioglitazon sebagai kontrol terhadap PPAR γ . empat senyawa tersebut adalah *quercetin 3-O-neohesperidosid*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin* dan *roseoside* sesuai dengan **gambar 4**.

Senyawa *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin* dan *roseoside* adalah 4 senyawa terbaik dari 26 senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. yang memiliki nilai energi bebas terendah dan dibawah pioglitazon dibandingkan dengan senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. yang lain. Nilai energi ikatan bebas yang diperoleh dari keempat senyawa yaitu dibawah -7 kcal/mol sehingga senyawa tersebut memiliki afinitas yang baik dan menunjukkan keempat senyawa tersebut mudah berikatan dengan reseptor PPAR γ ³⁰.

Hasil nilai interaksi permukaan senyawa *quercetin 3-O-neohesperidoside* memiliki nilai tertinggi dibandingkan senyawa *kaempfero 3-O-retinoside*, *rutin*, *roseoside* dan diatas kontrol pioglitazon. Interaksi permukaan mempengaruhi ikatan antara ligan dengan protein target. Nilai interaksi permukaan semakin tinggi membuat peluang yang besar untuk ligan atau senyawa aktif berinteraksi dengan protein target. Selain itu energi ikatan bebas semakin rendah yang didapatkan berbanding terbalik dengan nilai interaksi permukaan yang semakin tinggi³¹.



Gambar 2. Struktur ligan secara berturut - turut berikatan dengan PPAR γ yaitu (A) *quercetin 3-O-neohesperidosid*, (B) *kaempfero 3-O-retinoside*, (C) *rutin*, (D) *roseoside*, dan (E) *Pioglitazon*

Hasil dari penambatan empat senyawa aktif *Annona muricata* Linn. hanya senyawa *rutin* memiliki kesamaan residu asam amino terhadap *active site* dari pioglitazon sebesar 60%. Residu asam amino rutin memiliki presentase lebih dari 50%, hal ini menunjukkan bahwa posisi *active site* asam amino yang sama memungkinkan memiliki fungsi biologis yang sama¹². Semakin rendah nilai energi bebas yang didapatkan akan berbanding terbalik dengan semakin banyak persamaan jumlah residu amino maka afinitas akan semakin besar³¹.

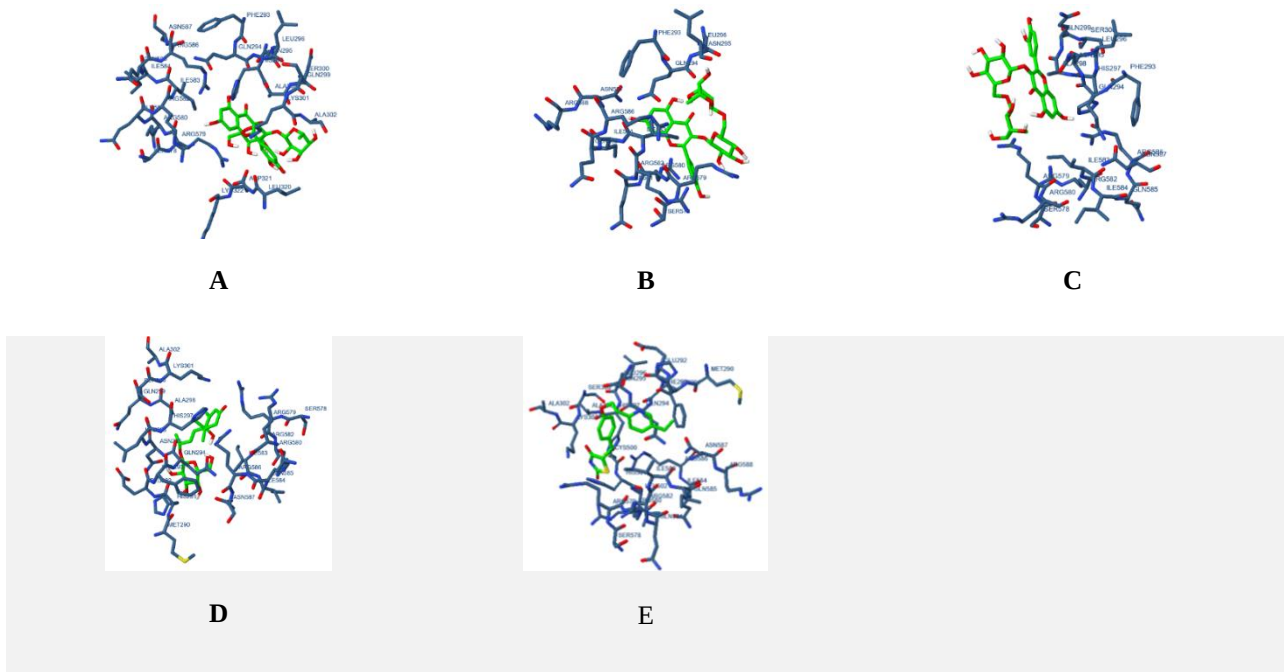
Berdasarkan hasil **tabel 2** diatas dapat disimpulkan bahwa urutan senyawa yang memiliki afinitas terbaik terhadap PPAR γ yaitu *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempfero 3-O-rutinoside*, *rutin* dan *roseoside*.

Afinitas Senyawa Aktif Daun *Annona muricata* Linn. dalam Mengaktivasi Glikogen Sintase

Berdasarkan hasil *molecular docking* pada **tabel 3** didapatkan dari 26 senyawa aktif *Annona muricata* Linn. yang diidentifikasi terdapat 4 senyawa yang memiliki afinitas tinggi berdasarkan energi ikatan bebas dibanding dengan glikogen sintase dibandingkan dengan pioglitazon sebagai kontrol. empat senyawa tersebut dari yang tertinggi berdasarkan afinitasnya adalah *quercetin 3-neohesperidoside*, *rutin*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, dan *roseoside* sesuai pada **gambar 5**.

Hasil dari penambatan empat senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. yang memiliki nilai energi ikatan bebas terendah dan dibawah kontrol pioglitazon yaitu *quercetin 3-neohesperidoside*, *rutin*, dan *kaempferol 3-O-rutinoside* sedangkan *roseoside* energi ikatan bebas diatas kontrol. Tiga dari empat senyawa tersebut memiliki nilai energi ikatan bebas dibawah -7 kcal/mol sehingga senyawa tersebut memiliki afinitas yang baik dan menunjukkan empat senyawa tersebut dengan mudah berikatan dengan reseptor PPAR γ ³¹. Energi ikatan bebas menggambarkan stabilitas dan spontanitas ligan dan protein target saling berikatan. Semakin rendah nilai energi ikatan bebas maka ikatan semakin spontan, stabil dan memiliki nilai afinitas yang tinggi. Nilai energi ikatan bebas yang rendah, ligan mampu berikatan dengan protein target dengan kuat dan memiliki potensi aktifitas biologis³¹.

Hasil nilai interaksi permukaan didapatkan senyawa *kaempferol 3-O-rutinoside* yang memiliki nilai interaksi permukaan tertinggi dibandingkan senyawa *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *rutin*, *roseoside* dan lebih dari kontrol. Sedangkan *quercetin 3-neohesperidoside* dan *rutin* memiliki nilai interaksi permukaan dibawah kontrol. Interaksi permukaan yang tinggi memiliki peluang antara senyawa aktif dan protein target untuk saling berinteraksi. Semakin besar peluang dapat menggambarkan ikatan yang kuat dan memiliki aktifitas biologis yang kuat¹².



Gambar 3. Struktur ligan secara berturut - turut berikatan dengan glikogen sintase yaitu (A)*quercetin 3-O-neohesperidoside*, (B)*kaempferol 3-O-rutinoside*, (C)*rutin*, (D)*roseoside*, dan (E)*Pioglitazon*

Senyawa *roseoside* memiliki kesamaan residu asam amino sebesar 63,% dengan kontrol dibanding dengan empat senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. Sedangkan *quercetin 3-neohesperidoside*, *rutin* dan *kaempferol 3-O-rutinoside* hanya memiliki kesamaan residu asam amino sebesar 36,4% dengan kontrol. Pada ikatan residu asam amino terdapat suatu ikatan senyawa hidrofobik yang menunjukkan bahwa suatu interaksi senyawa yang tidak larut dalam air³⁰. Residu asam amino yang dihasilkan antara ligan dan reseptor dibandingkan dengan kontrol menunjukkan bahwa ligan mampu menghambat aktifitas protein target dan berpotensi memiliki fungsi yang sama dengan kontrol³³.

Berdasarkan hasil pada **tabel 3.** dapat disimpulkan urutan senyawa aktif daun *Annona muricata* Linn. dari afinitas terbaik terhadap enzim glikogen sintase yaitu *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, dan *rutin*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *molecular docking* didapatkan bahwa empat senyawa aktif daun *annona muricata* Linn yaitu *quercetin 3-O-neohesperidoside*, *kaempferol 3-O-rutinoside*, *rutin*, dan *roseoside* memiliki potensi sebagai agen hipoglikemi dan berdasarkan hasil fisikokimia hanya senyawa *roseoside* diprediksi dapat diberikan dalam bentuk oral.

SARAN

Peneliti menyarankan hal – hal berikut untuk menunjang penelitian selanjutnya guna pengembangan dan kemajuan ilmu pengetahuan.

1. Perlu melakukan penelitian lanjutan secara in vitro mengenai ekstrak daun *Annona muricata* Linn. pada tikus diet tinggi glukosa terhadap aktivasi PPAR γ dan glikogen sintase untuk membuktikan apakah efek fisiologinya sesuai dengan harapan yaitu ekstrak daun *Annona muricata* Linn. mengaktifkan PPAR γ dan glikogen sintase.
2. Perlu melakukan penelitian mengenai senyawa *roseoside* sebagai obat oral antidiabetes.
3. Perlu melakukan penelitian lanjutan senyawa – senyawa aktif yang memiliki potensi sebagai obat antidiabetes

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Olokoba, A. B., Obateru, O. A., Olokoba, L. B. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman medical journal*, 2012. 27(4), 269–273.

2. Soelistijo, S. A., Lindarto, D., Decroli, E., Permana, H., Sucipto, K. W., Kusnadi, Y., *et al.* Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 dewasa di Indonesia 2019. **Perkumpulan Endokrinologi Indonesia**, 2019, pp. 1–117.
3. Firdaus, I. Pedoman pengelolaan penyakit kardiovaskuler. **Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskuler Indonesia**. 2019
4. Blanning, T. C. W. Review Article. **German History**, 2003, 18(4), pp. 487–494.
5. Pavo I, Jermendy G, Varkonyi TT, Kerenyi Z, Gyimesi A, Shoustov S, *et al.* Effect of pioglitazone compared with metformin on glycemic control and indicators of insulin sensitivity in recently diagnosed patients with type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metabolism**. 2003. 88(4):1637–45.
6. World Health Organization (WHO). WHO Traditional Medicine Strategy. **World Health Organisation Geneva**. 2013. pp. 1–74.
7. Iyos, R. N., Astuti, P. D. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. **Majority**. 2013. 6(2):144–8.
8. Damayanti, D. S., Nurdiana., Kusuma, H. M. S. C., Soeadmadji, D. W. The Potency Of Soursop Leaf Water Extract On Activating GLP-1R, Inhibiting DPP4 And FOXO1 Protein Based On In Silico Analysis. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, 2019. 11(6), 72–79.
9. Badaring DR, Sari SPM, Nurhabiba S, Wulan W, Lembang SAR. Uji Ekstrak Daun Maja (*Aegle marmelos* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. **Indones J Fundam Sci**. 2020. pp. 6(1):16.
10. Coria-Téllez., Efigenia, G. M., Elhadi, M.Y., Eva, N. O. A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. **Arabian Journal of Chemistry**, 2018. 11(5), pp. 662–691.
11. Suharna. Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim *Tirosinase*. **Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar**. 2012. pp. 6–7
12. Mubarika, S. A. Z., Damayanti, D. S. and Dewi, A. R. Studi In Silico : Potensi Anthelmintik Senyawa Aktif Bawang putih (*Allium sativum* L.) dalam Menghambat Protein Target Acetylcholinesterase , Beta tubulin dan Aktivasi Voltage dependent L type Calcium Channel In Silico Study : Anthelmintic Potential of. 2020. pp. 83–93
13. Firmasyah, R.R. Efek Antihipertensi Dekokta Daun Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) Melalui Penghambatan tACE (Studi In Silico). Malang : **Fakultas Kedokteran UNISMA**. 2015.
14. Pires, D. E. V, Blundell, T. L. and Ascher, D. B. pkCSM : predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures (Theory- How to Enterpret pkCSM Result). **pkCSM**. 2015. p. 5.
15. National Center for Biotechnology Information. 2021. PubChem Compound 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>.
16. Ali, A., Hoeflich, K. P., Woodgett, J. R. Glycogen synthase kinase-3: properties, functions, and regulation. **Chemical Reviews**. 2001. 101 (8): 2527–40.
17. Fatmala, U. T., Apriyanto, D. R. and Nurbaiti, N. Efektivitas Kombinasi Ekstrak Daun *Annona muricata* L. Dan *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar. **Tunas Medika Jurnal Kedokteran & Kesehatan**. 2018. 4(2), pp. 60–66.
18. Nisha, C. M., Kumar, A., Nair, P, Gupta, N., Silakari, C., Tripathi, T., Kumar, A. Acylguanidine 7a as a Potential Inhibitor of insulin Secretase. **Department of Biotechnology, National Institute of Technology, Raipur, Chhattisgarh 492010, India**. 2016.
19. Oekar, N.K., Nuraeni, W., Isabela, E., Wongso, H., Daruwati, I., Hanafia, A. Karakteristik Fisiko-Kimia dan Bioafinitas Tc-Glukosa-6-Fosfat Terhadap Jaringan Tumor Dalam Hewan Model. **J Sains dan Teknologi Nuklir Indonesia**. 2013. 15(1):19–34.
20. Gitawati, R. Interaksi Obat dan Beberapa Implikasinya. **Litbang Kesehatan**. 2008. pp. 175–184
21. Horde GW, Gupta V. Drug Clearance. Medical College of Georgia. **Augusta University**. 2021.
22. Nazaruk, J. and Borzym-Kluczyk, M. The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications, **Phytochemistry Reviews**, 2015. 14(4), pp. 675–690
23. Gillies, P. S. and Dunn, C. J. Pioglitazon. **Drugs**. 2000. 60(2), pp. 333–343.
24. International Diabetes Federation. **IDF Diabetes Atlas Ninth edition 2019, International Diabetes Federation**. 2019.
25. Kota, B. P., Huang, T. H. W. and Roufogalis, B. D. An overview on biological mechanisms of PPARs. **Pharmacological Research**. 2005. 51(2), pp. 85–94.
26. Ogawa, W., Matozaki, T. And Kasuga, M. Role of Binding Proteins to IRS-1 in Insulin Signalling. **Departement of Internal Medicine. Kobe University School of Medicine Kobe, Japan**. 1998.
27. Glinborg, D., Højlund, K., Andersen, N.R., Hansen, B.F., Nielsen, H.B., Wojtaszewski, J.F.P. Impaired insulin activation and dephosphorylation of glycogen synthase in skeletal muscle of women with polycystic ovary syndrome is reversed by pioglitazone treatment. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**. 2008. 93(9), pp. 3618–3626.

28. Faridah, F., Mumpuni, E. and Yunanto, Y. I. In-silico Analysis of Chemical Compounds in Green Tea Working on Activators PPAR- γ as Antiobesity. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2019. 17(2), p. 251.
29. Purnomo, R. Y., Hakim, R. and Damayanti, D. S. Potensi Antimalaria Senyawa Azadiractin, Gedunin, dan Nimbolide dalam Mengikat PfATP6 dan Menghambat Lactate Dehydrogenase: Studi In Silico. *Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang*. 2015
30. Arrasyid, M. A. A., Damayanti, D. S. and Lestari, R. D. Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Penghambatan Asetilkolinesterase , β -Tubulin dan Aktivasi Kanal Kalsium sebagai Antelmintik In Silico Study on Compound Activities of Emprit Ginger Rhizomes. *East Java*. 2020. pp. 147–158.
31. Shafhan Arfi, A., Dian Lestari, R. and Sri Damayanti, D. Studi In Silico Senyawa Aktif Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Penghambatan Acetylcholinesterase, Microtubulin (Beta Tubulin), dan Aktivasi Calcium Channel Sebagai Terapi Antelmintik', *Universitas Islam Malang*. 2020. pp. 36–47.