

STUDI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) SEBAGAI ANTIDIABETES MELALUI INHIBISI *PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE*

Tri Setyo Pamungkas¹, Rosario Trijuliamos Manalu^{2*}

¹Program Studi Farmasi, Institut Sains Teknologi Nasional

²Departemen Bioteknologi, Institut Sains dan Teknologi Nasional

*Email: rio@istn.ac.id

Artikel diterima: 27 Januari 2023 ; Disetujui: 11 Maret 2023

DOI: <https://doi.org/10.36387/jiis.v8i1.1277>

ABSTRAK

Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) banyak dibudidayakan di negara-negara tropis, termasuk di Indonesia. Secara empiris, daun asam jawa diketahui memiliki khasiat sebagai antidiabetes. Dalam penelitian ini, metode *in silico* digunakan untuk menguji senyawa aktif yang terdapat dalam daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) sebagai agen antidiabetes melalui analisis skor *docking*. Protein target yang digunakan adalah *Protein Tyrosine Phosphatase* (5JNT) yang terkait dengan resistensi insulin. Glimepiride dan ligan alami 5JNT digunakan sebagai ligan pembanding, sementara senyawa aktif daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) digunakan sebagai ligan uji. Terdapat 12 senyawa aktif yang diuji sifat mirip obat berdasarkan kaidah *Lipinski Rule of Five*, dan 12 senyawa memenuhi kriteria yang kemudian diuji melalui proses *molecular docking* menggunakan perangkat lunak PLANTS. Berdasarkan hasil *docking*, terdapat empat senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes, yaitu linalool anthranilate, hexadecanol, pentadecanol, dan benzyl benzoate, dengan skor *docking* masing-masing adalah -85.889, -84.23032, -83.12325, dan -81.54821. Meskipun skor *docking* senyawa-senyawa tersebut melampaui skor ligan alami 5JNT, namun tidak melampaui skor ligan pembanding glimepiride.

Kata kunci: Diabetes, Asam jawa, Resistensi insulin

ABSTRACT

Tamarind leaves (Tamarindus indica L.) are widely cultivated in tropical countries, including Indonesia. Empirically, tamarind leaves are known to have anti-diabetic properties. In this study, an in-silico method was used to test the active compounds found in tamarind leaves (Tamarindus indica L.) as anti-diabetic agents through docking score analysis. The target protein used was Protein Tyrosine Phosphatase (5JNT) which is related to insulin resistance. Glimepiride and native ligand 5JNT were used as reference ligands, while the active compounds of tamarind leaves (Tamarindus indica L.) were used as the test ligands. There were 12 active compounds tested for drug-like properties based on the Lipinski Rule of Five, and 12 compounds met the criteria which were then tested through molecular docking using the PLANTS software. Based on the docking results, there were four

compounds that had potential as anti-diabetic agents, namely linalool anthranilate, hexadecanol, pentadecanol, and benzyl benzoate, with docking scores of -85.889, -84.23032, -83.12325, and -81.54821 respectively. Although the docking scores of these compounds exceeded the score of the native ligand 5JNT, they did not exceed the score of the reference ligand glimepiride.

Keywords: *Diabetes, Tamarind, Insulin resistance*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah jenis penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah karena kekurangan produksi insulin, resistensi insulin, atau keduanya. (Adikusuma et al., 2016). Komplikasi dari DM dapat menyebabkan gagal ginjal, penyakit jantung dan *stroke* (Pahlevi et al., 2018). Berdasarkan laporan *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2013, Indonesia menempati peringkat ketujuh di dunia dengan jumlah penderita diabetes 8,5 juta orang (Alfian, 2016). WHO melaporkan bahwa Indonesia berada di peringkat keempat negara dengan tingkat kejadian diabetes tertinggi di dunia, setelah India, Cina, dan Amerika Serikat. (Lahamado et al., 2017).

Diabetes dibagi menjadi tipe 1 dan tipe 2, di mana penyakit DM tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin (Isnani et al., 2018). Penderita

diabetes dapat menggunakan pengobatan tradisional sebagai salah satu cara untuk menyembuhkan penyakitnya (Putra et al., 2017).

Ada 30.000 spesies tanaman obat di Indonesia dan sekitar 80.000 tanaman obat di seluruh dunia. (Yasin et al., 2020). Di Indonesia, daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) mudah ditemukan karena tanaman ini banyak dibudidayakan di negara tropis (Suherman et al., 2020). Daun asam jawa memiliki potensi sebagai alternatif pengobatan untuk diabetes mellitus tipe 2 (Lahamado et al., 2017).

Reseptor insulin adalah protein tirosin kinase (Stanford et al., 2017). Sinyal insulin dilawan oleh *protein tyrosine phosphatase* (PTP) yang mengakibatkan defosforilasi dan menonaktifkan reseptor insulin. Penelitian ini dilakukan untuk menguji potensi senyawa yang terkandung dalam daun asam jawa sebagai inhibitor *protein tyrosine*

phosphatase secara *in silico*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *docking protein-ligand*, yang bertujuan untuk memprediksi struktur kompleks dari interaksi antara senyawa dan protein. (Manalu, 2021).

METODE PENELITIAN

Untuk menjalankan penelitian ini, digunakan perangkat keras (*hardware*): Prosesor AMD® Ryzen™ 5 2600x dengan kecepatan 3,6 GHz, RAM sebesar 16 GB, dan harddisk berkapasitas 1 TB, serta perangkat lunak (*software*) sistem operasi Windows 11, perangkat lunak PLANTS® (Korb et al., 2006), YASARA®, marvinSketch® dan PyMOL®.

Dalam menunjang penelitian ini, diperlukan data struktur senyawa-senyawa dari bahan alam senyawa asam jawa (*Tamarindus indica* L.) yang diperoleh dari penelitian Escalona pada tahun 2010 dan suherman pada tahun 2020 (Escalona et al., 2010; Suherman et al., 2020). Dan struktur *Protein Tyrosine Phosphatase* yang diperoleh melalui *Protein Data Bank*, PDB ID: 5JNT dengan resolusi 1.45 Å.

Preparasi Reseptor dan Ligan Alami

Protein target yang memiliki *binding pocket* untuk *docking* dihapus ligannya dari file *protein tyrosine phosphatase*. Kemudian, protein target disimpan dalam format mol2. Koordinat *binding pocket* dapat ditemukan dengan menggunakan koordinat ligan alami sebagai acuan, yang memerlukan file mol2 yang berisi ligan alami. Untuk itu, file 5JNT.YOB dibuka kembali dengan menggunakan YASARA, lalu protein dihapus dan hanya ligan alami yang disimpan dalam format mol2.

Validasi

Validasi merupakan suatu tahap penting dalam penelitian molekuler, termasuk dalam penelitian dengan metode *molecular docking*. Validasi dilakukan untuk menjamin keakuratan dan kepercayaan hasil dari protokol yang digunakan. Validasi dilakukan dengan melakukan *docking* ulang ligan alami ke dalam protein menggunakan PLANTS. Tujuan dari validasi ini adalah untuk menentukan nilai *root mean square deviation* (RMSD). Suatu protokol dinyatakan

valid jika hasil RMSD-nya kurang dari 2Å.

Preparasi Ligan Uji dan Ligan Pemanding

Data ligan yang dibutuhkan diunduh melalui situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format SDF. Setelah itu, file SDF dibuka menggunakan MarvinSketch dan tampilannya diratakan menjadi 2 dimensi. Lalu, dilakukan protonasi pada pH 7,4 dan disimpan dalam 10 konformasi.

Penambatan Molekul Dengan PLANTS

File yang diperlukan, yaitu cmd.exe, mingwm10.dll, plants.exe, dan pc_5jnt.txt, disalin ke dalam folder kerja. Kemudian, program cmd.exe dibuka dan dilakukan penentuan situs ikatan. Hasil penentuan situs ikatan beserta radiusnya disalin ke dalam file pc_5jnt.txt. Setelah mendapatkan koordinat situs ikatan, dilakukan docking antara ligan.mol2 dan protein.mol2.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Validasi

Validasi dilakukan untuk mengetahui kemiripan konformasi antara ligan alami kristalografi dengan ligan alami optimasi *docking* (Saputri et al., 2016). Pada tahap validasi diperoleh nilai RMSD sebesar 1,2680 Å. Dengan demikian protokol penelitian ini valid karena mempunyai nilai RMSD dibawah 2 Å.

Hasil Preparasi Ligan Uji dan Ligan Pemanding

Preparasi ligan dilakukan dengan perangkat lunak MarvinSketch berhasil diubah protonasi menjadi pH 7,4 lalu dibuatnya menjadi 10 konformasi.

Hasil Uji Sifat Mirip Obat Lipinski Rule of Five

Uji sifat mirip obat *Lipinski's rule of five*, aturan yang digunakan yaitu:

- Ligan tidak memiliki lebih dari 5 donor ikatan hidrogen
- Ligan tidak memiliki lebih dari 10 akseptor ikatan hidrogen.
- Berat molekul ligan kurang dari 500

- Ligan memiliki nilai logP 5 atau kurang

- Refraksi molar di antara 40-130

Berdasar hasil yang disajikan Tabel 1 semua ligan uji mempunyai sifat mirip obat.

Docking Ligan-Reseptor

Tabel 1 menyajikan skor *docking* ligan uji beserta ligan pembanding (bercetak tebal) glimepiride dan ligan natif 5JNT. Linalool anthranilate, hexadecanol, pentadecanol dan benzyl benzoate melampaui ligan natif 5JNT namun tidak melampaui glimepiride.

Tabel 1. Skor docking dan sifat mirip obat

<i>Ligand</i>	<i>Mass</i>	<i>Hydrogen bond donor</i>	<i>Hydrogen bond acceptor</i>	<i>LogP</i>	<i>Mollar reactivity</i>	<i>Skor Docking</i>
Glimepiride	490	3	9	4.15	128.566055	-96.339
Linalool	250	0	3	0.386	64.107	-85.889
anthranilate						
Hexadecanol	208	0	1	1.781	57.8485	-84.230
Pentadecanol	196	0	1	1.626	54.3355	-83.123
Benzyl Benzoate	212	0	2	2.180	52.712	-81.548
Ligan natif 5JNT	195	1	4	-1.472	40.991089	-78.871
Cryptopinone	256	0	0	2.3497	71.412	-76.843
Caryophyllene	204	0	0	4.1341	67.67098	-69.934
Methyl 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzoate	264	0	3	3.4264	74.48548	-69.197
logifolene	204	0	0	3.8225	66.87898	-68.336
Limonene	136	0	0	3.3088	45.91199	-67.377
1-Methyl-4-propylbenzene	134	0	0	2.9475	45.17399	-66.541
2,6-ditertbutyl-4-methylphenol	196	0	1	1.076	51.759	-66.51
Diphenyl ether	170	0	1	3.4788	52.95799	-55.377

Visualisasi Hasil Docking

Linalool anthranilate membentuk 10 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino yaitu cys12, arg18, ser43, ile21, pro20,

cys149, phe26, ala22, val41 dan leu116. Selain itu terdapat 5 interaksi ikatan ligan dengan val11, met91, glu23, leu89 dan cys 90.

Hexadecanol membentuk 11 ikatan hidrofobik dengan residu leu9, ile88, cys12, phe10, arg18, ile 21, phe26, pro20, ser43, ala24 dan val25. Terdapat pula 7 interaksi ikatan ligan dengan residu val11, sys90, leu89, ser19, met91, cys149 dan glu23.

Pentadecanol membentuk 8 interaksi ikatan hidrofobik dengan residu leu9, cys90, ile88, cys12, pro20, ser43, asp42 dan ile21. Dan 9 interaksi ikatan ligan dengan residu asam amino met91, leu89, val11, phe10, glu23, ser19, ala22, phe26 dan cys149.

Benzyl benzoate hanya membentuk 8 interaksi ikatan hidrofobik dengan residu asam amino arg18, ile16, asp129, gly14, leu13, cys17, glu50 dan tyr49.

Glimepiride membentuk 13 interaksi ikatan hidrofob dengan residu ala24, asp42, val41, phe26, ala22, gly117, ile127, cys148, cys145, leu9, arg18, ile88 dan ala44. Dan 9 interaksi ikatan hidrogen dengan residu ser43, pro20, glu23, cys90, leu116, met91, cys12, ser19 dan asn15.

Ligan natif 5JNT membentuk 5 interaksi ikatan hidrofob dengan

residu cys12, tyr131, glu50, tyr49 dan leu13. Dan 5 interaksi ikatan hidrogen dengan residu arg18, cys17, ile16, gly14 dan asp129.

Residu cys12 pada *Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase* (LMPTP) berperan sebagai situs katalitik atau tempat reaksi pada enzim tersebut. LMPTP adalah enzim fosfatase yang mengkatalisis hidrolisis gugus fosfat pada protein dan peptida yang mengandung fosfotirosin. Residu cys12 pada LMPTP memainkan peran penting dalam proses katalisis reaksi enzim, di mana ia berfungsi sebagai nukleofil yang menyerang gugus fosfat pada substrat, membentuk intermediate reaksi dan kemudian melepaskan gugus fosfat dari substrat, menghasilkan produk dan cys12 kembali ke bentuk awal. Residu arg18 pada *Low Molecular Weight Protein Tyrosine Phosphatase* (LMPTP) berperan sebagai penstabil struktur protein. LMPTP adalah enzim fosfatase yang mengkatalisis hidrolisis gugus fosfat pada protein dan peptida yang mengandung fosfotirosin (Stanford et al., 2017).

Tabel 2. Jenis ikatan ligan-residu asam amino (situs katalitik bercetak tebal)

	Ikatan hidrogen	Ikatan hidrofob	Ikatan ligan
Glimepiride	ser43, pro20, glu23, cys90, leu116, met91, cys12 , ser19, asn15	ala24, asp42, val41, phe26, ala22, gly117, ile127, cys148, cys145, leu9, arg18 , ile88, ala44	
Linalool anthranilate		cys12 , arg18 , ser43, ile21, pro20, cys149, phe26, ala22, val41, leu116.	val11, met9, glu23, leu89, cys 90
Hexadecanol		leu9, ile88, cys12 , phe10, arg18 , ile21, phe26, pro20, ser43, ala24, val25	val11, sys9, leu89, ser19, met91, cys149, glu23
Pentadecanol		leu9, cys90, ile88, cys12 , pro20, ser43, asp42, ile21	met91, leu89, val11, phe10, glu23, ser19, ala22, phe26, cys149
Benzyl Benzoate		arg18 , ile16, asp129 , gly14, leu13, cys17, glu50, tyr49	
Ligan alami 5JNT	arg18 , cys17, ile16, gly14, asp129	cys12 , tyr131, glu 50, tyr49, leu13	

Uji Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

Obat yang masuk dalam tubuh kita melalui berbagai cara pemberian, yang meliputi absorpsi (A), distribusi (D), metabolisme (M), dan ekskresi (E) dan toksisitas (T). Kelima kriteria ini mempengaruhi tingkat kinetika

paparan obat ke jaringan. Serta pengikatan untuk sampai ditempat kerja dan menimbulkan efek yang diinginkan. Webservice yang digunakan pada uji ADMET adalah <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsmprediction> (Nursanti, 2019).

Tabel 3. Tabel uji sifat farmakokinetik dan toksisitas

Parameter	Linalool anthranilate	Hexadecanol	Pentadecanol	Benzyl Benzoate
Absorpsi				
<i>Water solubility</i>	-4.041	-6.889	-6.499	-3.267
<i>Caco2 permeability</i>	1.473	1.464	1.465	1.857
<i>Intestinal absorption</i>	90.999	89.803	90.147	95.935
<i>Skin Permeability</i>	-2.702	-2.461	-2.271	-1.967
<i>Pgp substrate</i>	No	No	No	No
<i>Pgp I inhibitor</i>	No	No	No	No
<i>Pgp II inhibitor</i>	No	No	No	No
Distribusi				
<i>VDss (human)</i>	0.317	0.476	0.467	0.061
<i>Fraction unbound</i>	0.09	0.108	0.14	0.049

Parameter	Linalool anthranilate	Hexadecanol	Pentadecanol	Benzyl Benzoate
<i>BBB permeability</i>	0.102	0.798	0.779	0.264
<i>CNS permeability</i>	-1.973	-1.737	-1.792	-1.377
Metabolisme				
<i>CYP2D6 substrate</i>	No	No	No	No
<i>CYP3A4 substrate</i>	Yes	Yes	Yes	Yes
<i>CYP1A2 inhibitor</i>	No	Yes	Yes	Yes
<i>CYP2C19 inhibitor</i>	Yes	No	No	Yes
<i>CYP2C9 inhibitor</i>	No	No	No	No
<i>CYP2D6 inhibitor</i>	No	No	No	No
<i>CYP3A4 inhibitor</i>	No	No	No	No
Ekskresi				
<i>Total Clearance</i>	0.708	1.872	1.836	0.685
<i>Renal OCT2 substrate</i>	No	No	No	No
Toksitas				
<i>AMES toxicity</i>	No	No	No	No
<i>Max. tolerated dose</i>	0.997	0.029	0.09	1.182
<i>hERG I inhibitor</i>	No	No	No	No
<i>hERG II inhibitor</i>	No	No	No	No
<i>Oral Rat Acute Toxicity</i>	2.381	1.574	1.563	1.921
<i>LOAEL</i>	2.181	1.139	1.173	2.255
<i>Hepatotoxicity</i>	No	No	No	No
<i>Skin Sensitisation</i>	No	Yes	Yes	Yes
<i>T.Pyriformis toxicity</i>	1.499	2.056	2.243	1.371
<i>Minnow toxicity</i>	-0.159	-0.929	-0.688	0.427

Berdasarkan Tabel 3 keempat senyawa larut dalam air, memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi, diserap oleh usus dengan baik, tidak ada yang menjadi substrat maupun inhibitor Pgp. Pentadecanol dan hexadecanol mempunyai nilai VD_{ss} yang tinggi. keempat senyawa di atas tidak ada yang menjadi substrat CYP2D6 tetapi keempat senyawa tersebut juga diprediksi dapat menjadi substrat CYP3A4 dan dimetabolisme di hati. Linalool anthranilate dan benzyl benzoate dapat menjadi inhibitor CYP2C19. Meskipun dalam

prediksi toksisitas *T. Pyriformis* semua senyawa uji dianggap toksik, namun dalam prediksi hepatotoksitas, tidak ada senyawa uji yang bersifat hepatotoksik.

KESIMPULAN

Terdapat empat senyawa aktif asam jawa yang berpotensi sebagai antidiabetes yaitu linalool anthranilate, hexadecanol pentadecanol dan benzil benzoate. Mempunyai ikatan diantara residu katalitik cys12, arg18 dan asp129.

Mempunyai skor *docking* yang lebih baik dari ligan natif 5JNT.

DAFTAR PUSTAKA

- Adikusuma, W., Perwitasari, D. A., Supadmi, W., & Al., E. (2016). Pengukuran Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Yang Mendapat Antidiabetik Oral Di Rumah Sakit Pku Muhammadiyah Bantul Yogyakarta. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(1), 1–8.
- Alfian, R. (2016). Hubungan Antara Pengetahuan Dengan Kepatuhan Tentang Penggunaan Insulin Pada Pasien Diabetes Mellitus Di Poliklinik Penyakit Dalam Rsud. Dr. H. Moch. Ansari Saleh Banjarmasin. *Jurnal Ilmmiah Ibnu Sina*, 1(1), 9–18.
- Escalona-Arranz, J., Péres-Roses, R., Urdaneta-Laffita, I., Camacho-Pozo, M., Rodríguez-Amado, J., & Licea-Jiménez, I. (2010). Antimicrobial activity of extracts from *Tamarindus indica* L. leaves. *Pharmacognosy Magazine*, 6(23), 242–247.
- Isnani, N., & Mulyani, M. (2018). Studi Farmakovigilans Obat Antidiabetes Pada Pasien Rawat Jalan Diabetes Melitus Tipe Ii Di Rsud Dr. H. Moch. Ansari Saleh Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan*, 3(Vol 3, No 2 (2018)), 285–293.
- Korb, O., Stützle, T., & Exner, T. E. (2006). PLANTS: Application of ant colony optimization to structure-based drug design. *Lecture Notes in Computer Science (Including Subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, 4150 LNCS, 247–258.
- Lahamado, O. T., Sabang, S. M., & Mustapa, K. (2017). Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus Indica* L.) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Akademika Kimia*, 6(1), 1.
- Manalu, R. T. (2021). Molecular docking senyawa aktif buah dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap main protease pada SARS-CoV-2. *Forte Jurnal*, 1(2), 9–16.
- Maulana Perdana Putra, A., Pratiwi Sari, R., & Alfian, R. (2017). Uji Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Etanol Semut Jepang (*Tenebrio Sp.*) Pada Tikus Putih Galur Sprague Dawley yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 68–73.
- Nursanti O. (2019). Validasi Penambatan Molekul Untuk Mendapatkan Ligan Aktif Pada Reseptor Cyclooxygenase 2. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional*.
- Pahlevi, M. R., Rahem, A., Metasartika, V., Alfian, R. (2018). Pengaruh Brief Counseling Terhadap Kadar Gula darah Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 di RSUD Dr.H.Moch.Ansari Saleh Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(2), 224–233.

- Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santoso, B. (2016). Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta*, 4(1), 16.
- Stanford, S. M., Aleshin, A. E., Zhang, V., Ardecky, R. J., Hedrick, M. P., Zou, J., Ganji, S. R., Bliss, M. R., Yamamoto, F., Bobkov, A. A., Kiselar, J., Liu, Y., Cadwell, G. W., Khare, S., Yu, J., Barquilla, A., Chung, T. D. Y., Mustelin, T., Schenk, S., ... Bottini, N. (2017). Diabetes reversal by inhibition of the low-molecular-weight tyrosine phosphatase. *Nature Chemical Biology*, 13(6), 624–632.
- Suherman, M., Prasetiawati, R., & Ramdani, D. (2020). Skrining Virtual Senyawa Aktif Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Terhadap Selektif Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 125.
- Yasin, S. A., Azzahra, A., Ramadhan, N. E., & Mylanda, V. (2020). Studi Penambatan Molekuler dan Prediksi ADMET Senyawa Bioaktif Beberapa Jamu Indonesia terhadap SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro). *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)*, 7(2), 24–41.