

Studi In Silico Senyawa Bioaktif Daun Miana (*Coleus scutellariodes* (L). Benth) sebagai Inhibitor Enzim Asetikolineterase (Ache) pada Alzheimer

In Silico Study of Miana (*Coleus scutellariodes* (L). Benth) Leaf Compounds as Inhibitor Acetylcholinesterase (Ache) Enzyme in Alzheimer's

Veronika Vitadella, Catherine Putri Bulan, Julius Alvin Novensius Sinurat, Madyawati Latief, Yusnaidar, Indra Lasmana Tarigan

Program Studi Kimia, Jurusan MIPA, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Jambi, Indonesia

*Email Korespondensi: indratarigan@unja.ac.id

Abstrak

Penyakit Alzheimer adalah infeksi neurodegenerative, dan terjadi karena menurunnya kombinasi asetilkolin dampak dari penguraian asetilkolin menjadi kolin dan derivasi asam asetat oleh senyawa Asetilkolinesterase (Hurt). Larutan yang diketahui memiliki gerakan penghambatan denyut merupakan obat yang menjanjikan untuk pengobatan infeksi ini. Dalam eksplorasi ini, studi in-silico dilakukan pada campuran yang ditemukan di Miana (*Coleus*) selanjutnya untuk melihat apakah campuran ini dapat digunakan sebagai aplikasi pengobatan dalam pengobatan penyakit Alzheimer dengan menggunakan strategi docking sub-atomik. Dari hasil penyelidikan diketahui bahwa senyawa Pyrazolopyridine adalah pesaing obat terbaik dengan energi ikatan dan keuntungan stabil pengekanan masing-masing - 6,96 kkal/mol dan 7,95 μm , dengan ikatan hidrogen terjadi pada penumpukan korosif amino SER 293.

Kata Kunci: Alzheimer's; In Silico; Miana

Abstract

Alzheimer's contamination is a neurodegenerative sickness brought about by a decline in the blend of acetylcholine because of the breakdown of acetylcholine into choline and the determination of acidic corrosive by the compound Acetylcholinesterase (Hurt). Compounds known to have heartbeat restraining developments are promising medications for the treatment of these contaminations. In this investigation, in-silico studies were done on the blend found in Miana (*Coleus*) further to see whether this combination could be utilized as a remedial application in the treatment of Alzheimer's illness utilizing sub-nuclear docking procedures. From the consequences of the examination, it is realized that the Pyrazolopyridine compound is the best medication contender with a limiting energy and stable

limitation benefit of - 6.96 kcal/mol and 7.95 μm separately, with hydrogen securities happening in the destructive development of amino SER 293.

Keywords: Alzheimer's; In Silico; Miana

Diterima: 26 November 2023

Disetujui: 30 April 2024

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i2.2198>



Copyright (c) 2024, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Vitadella, V., Bulan, C. P., Sinurat, J. A. N., Latief, M., Yusnaidar, Y., Tarigan, I. L., 2024. Studi In Silico Senyawa Bioaktif Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L). Benth) sebagai Inhibitor Enzim Asetikolineterase (Ache) pada Alzheimer. *J. Sains Kes.*, 6(2). 282-291. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i2.2198>

1 Pendahuluan

Menurut World Alzheimer Report 2015, demensia mempengaruhi sekitar 46,78 juta orang secara global pada tahun 2015 dan diproyeksikan meningkat menjadi 131,45 juta pada tahun 2030. Demensia Alzheimer umumnya akan selalu meningkat bertambahnya usia. Prevalensi pada pria usia 65 tahun adalah 0,6% dan pada wanita 0,8% [2]. Prevalensi pada usia 90 tahun adalah 21%. Pada usia 85 tahun, prevalensinya adalah 11% pada pria dan 14% pada wanita [3]. Penyakit Alzheimer adalah infeksi neurodegeneratif terkait usia sebagai pemicu nomor 1 infeksi ini. Penyakit Alzheimer merupakan tipe penyakit otak yang melibatkan kematian sel-sel otak, menyebabkan gangguan pada memori, berpikir, analisis, bahasa, serta aktivitas saraf yang lain [4].

Penyakit Alzheimer merupakan penyakit yang ditandai dengan demensia, atau

menurunnya kemampuan mengingat atau mengenali sesuatu, yang kemudian memburuk dengan meningkatnya kerusakan otak, hingga pasien tidak lagi dapat mengingat atau mengenali sesuatu. Selain itu, pasien Alzheimer sering mengalami kebingungan, gangguan bicara, gelisah, dan bahkan halusinasi [5]. Proses pengembangan obat memerlukan biaya, waktu, dan beberapa tahap uji klinis yang signifikan untuk menentukan mekanisme kerja obat dan protein target. Proses penemuan obat baru melibatkan sintesis beberapa senyawa. Berkat kemajuan di bidang ilmu komputer, komputer kini dapat digunakan untuk mengoptimalkan aktivitas, bentuk, dan reaktivitas senyawa sebelum disintesis secara eksperimental [6].

Metode komputasi digunakan untuk memprediksi keterikatan molekul kandidat obat ke sasaran protein, memprediksi afinitas serta aktivitas molekul kandidat obat, dan menyelidiki wujud tiga dimensi senyawa yang terikat pada situs aktif suatu protein yaitu docking [7]. Dari hasil analisis LC/MS-MS penelitian sebelumnya terlihat jelas bahwa ekstrak daun miana mengandung senyawa. Senyawa ini diuji di komputer untuk

mengetahui aktivitas biologisnya. In silico adalah metode yang memungkinkan target obat diidentifikasi melalui prediksi komputasi protein target [8]. Hasil screening nilai IC 50 senyawa ekstrak daun miana (*Coleus scutellarioides* (L), Bens) diuji dengan LC-MS. Skrining IC50 menghasilkan 21 senyawa uji dan 5 protein target. Beberapa penelitian sebelumnya juga menemukan bahwa otak yang sehat memiliki enzim AChE dan BuChE dalam jumlah besar, yang berperan kecil dalam mengatur kadar ACh di otak. Namun pada pasien penyakit Alzheimer, aktivitas BuChE meningkat secara perlahan, sedangkan aktivitas AChE tetap sama atau menurun. Oleh karena itu, kedua enzim tersebut menjanjikan target terapi untuk memperbaiki defisit kolinergik, yang dianggap bertanggung jawab atas penurunan fungsi kognitif, fungsi global, dan status perilaku. Salah satu protein targetnya adalah asetilkolinesterase (AChE), yang mungkin berperan dalam mempengaruhi “kaskade amiloid” mulai dari agregasi amiloid β yang tidak larut di otak [9]. Senyawa dengan aktivitas penghambatan AChE disebut sebagai kandidat obat yang menjanjikan untuk pengobatan penyakit ini.

Pada pengamatan ini, kami melakukan studi in silico terhadap senyawa *Coleus scutellarioides* (L) untuk mengetahui apakah senyawa tersebut dapat digunakan sebagai kandidat obat dalam pengobatan penyakit Alzheimer menggunakan cara kerja docking molekuler reseptor AChE.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Beberapa website/situs ataupun aplikasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah: (1). Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) yang digunakan untuk mendapatkan struktur protein reseptor. (2). Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mendapatkan struktur senyawa uji dan senyawa pembanding. (3). Software ChemDraw Ultra 12.0 untuk menggambar struktur senyawa uji dan senyawa pembanding serta Chem3D Pro 12.0 untuk mengecilkan energi dari ligan uji. (4). Website SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk mengetahui prediksi Lipinski's Rule

of Five dari senyawa uji dan senyawa pembanding. (4). Software BIOVIA Discovery Studio 2020 untuk preparasi ligan dan reseptor serta untuk memvisualisasikan hasil docking molekuler. (6). Software AutoDock Tools-1.5.6 untuk memvalidasi docking molekuler. Bahan yang digunakan adalah daun miana, etanol dan 3D senyawa uji yang disimpan dalam format *pdb*. serta struktur reseptor (protein target) Asetilkolinesterase (AChE) yang disimpan dalam bentuk *pdb* pada *webserver* database yang sesuai.

2.2 Prediksi Aturan Lipinski

Prediksi Lipinski dilakukan untuk memvalidasi sifat drug-likeness dari senyawa uji dan senyawa pembanding. Pengamatan ini didapatkan melalui website SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) dengan mencari ligan uji dan senyawa native ligan yang struktur 2D-nya telah dibuat sebelumnya menggunakan ChemDraw. Parameter dalam aturan Lipinski meliputi massa atom relative, nilai log P, ikatan hidrogen donor dan ikatan hidrogen akseptor

2.3 Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan dengan cara membuat struktur 2D senyawa uji (ligan) dengan menggunakan *ChemDraw Ultra* versi 22.0 lalu diubah menjadi struktur 3D pada software *Chem 3D* versi 22.0 disimpan dalam format *pdb*. Ligan uji dilakukan optimasi dengan cara meminimasi energi menggunakan *software PyRx* dengan fitur *open babel*. Lalu disimpan dalam format *pdqt*.

2.4 Preparasi Makromolekul

Preparasi makromolekul dilakukan dengan cara mengunduh reseptor pada *database* <https://www.rcsb.org/> dengan ID reseptor PDB 4EY7 (Acetylcholinesterase). Makromolekul dipisahkan dari pelarut dan *native ligand* atau residu non standar pada software UCSF Chimera. Native ligan dan residu yang tidak dipergunakan dihapus pada fitur *select* lalu klik residu dan pilih *all nonstandard*, kemudian pilih fitur *actions* klik *atom/bonds* lalu klik *delete*. File makromolekul (reseptor) disimpan dalam format *pdb*. Makromolekul kemudian dioptimalkan menggunakan *AutoDockTools* dengan menambahkan ion

hidrogen dan muatan Kollman dan disimpan dalam format file *pdbqt*.

2.5 Validasi dan Penambatan Molekul

Validasi metode molecular docking dilakukan menggunakan software AutoDock Tools dengan melakukan metode redocking (docking ulang) ligan alami masing-masing makromolekul (reseptor). Acuan yang digunakan yaitu Root Mean Square Deviation (RMSD). Hasil yang diperoleh pada proses ini adalah parameter grid box dan nilai RMSD. Metode docking dikatakan valid jika mempunyai nilai RMSD < 2 Å. Proses molecular docking dilakukan dengan menggunakan software AutoDock Tools. Struktur makromolekul (reseptor) dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu folder. Docking molekuler menggunakan grid box dan parameter minimisasi energi berdasarkan hasil validasi. Pengaturan acuan grid box dikerjakan dengan menggunakan koordinat grid box yang ditentukan berdasarkan koordinat ligan reseptor yang digunakan pada saat proses validasi docking. Kemudian dilakukan docking menggunakan software AutoDock Tools. Data docking yang ditampilkan berupa nilai afinitas yang mengikat (binding affinity) dan interaksi residu asam amino. Hasil docking disimpan dalam format *pdbqt*.

2.6 Visualisasi dan Analisis Hasil Docking

Proses visualisasi dilakukan untuk melihat interaksi yang terjadi pada hasil *docking* antara reseptor dan ligan. Visualisasi hasil *docking* dilakukan dengan menggunakan *software Discovery Studio Visualizer 2021*.

3 Hasil dan Pembahasan

Prediksi ini menggunakan massa atom, nilai log P, dan ikatan hidrogen donor dan akseptor. Hasil uji LC-MS sebelumnya menunjukkan ekstrak Daun Miana mengandung 21 senyawa yang telah diketahui dan dapat diperoleh. Selanjutnya, skrining awal akan dilakukan menggunakan SWISSADME webserver (<http://www.swissadme.ch/>). Untuk melakukan penambatan molekul, atau proses pemilihan ligan, skrining awal harus sesuai dengan kaidah Lipinski.

Aturan Lipinski pada dasarnya menggambarkan sifat senyawa aktif secara oral dan parameter yang digunakan untuk menentukan sifat fisikokimianya (Tabel 1). Tujuan aturan Lipinski adalah untuk mengevaluasi apakah suatu senyawa kimia yang aktif secara farmakologis kemungkinan akan aktif bila diberikan secara oral pada manusia [10]. Jika senyawa atau ligan memenuhi syarat-syarat berikut: berat molekul tidak lebih dari 500 gram/mol, jumlah gugus donor proton yang terikat hidrogen tidak lebih dari 5, jumlah gugus akseptor proton yang terikat hidrogen tidak lebih dari 10, dan nilai koefisien partisi (LogP) tidak lebih dari 5 [11]. Senyawa atau ligan memiliki sifat fisikokimia yang baik. Dengan menggunakan kaidah Lipinski untuk menganalisis karakteristik fisikokimia ligan, kita dapat mengetahui apakah suatu zat hidrofobik atau hidrofilik dan dapat berdifusi secara pasif melalui membran sel. Koefisien kelarutan dalam lemak dan air ditandai dengan nilai log P dalam rentang dari -0,4 hingga 5. Berbagai berat molekul yang memiliki massa lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi melintasi membran sel. Nilai log P menunjukkan derajat hidrofobitas molekul. Hal ini karena molekul yang terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan tersebar lebih luas di dalam tubuh, sehingga menurunkan selektifitas pengikatan dengan enzim target. Selain itu, nilai log P yang terlalu negatif juga merugikan karena molekul tidak dapat menembus membran lipid bilayer. Jumlah ikatan hidrogen yang diberikan dan diterima menunjukkan bahwa kapasitas ikatan hidrogen meningkat seiring dengan jumlah energi yang dibutuhkan untuk berlangsungnya proses penyerapan. Aturan Lipinski secara umum menggambarkan kemampuan substansi tertentu untuk menembus membran sel melalui difusi pasif [12].

Banyaknya acuan Lipinski's Rule of Five yang tidak terpenuhi oleh setiap senyawa dapat digunakan untuk menentukan hasil drug-likeness. Jika satu acuan tidak memenuhi syarat, senyawa tersebut masih dapat ditoleransi dan masih memiliki kemiripan dengan suatu obat. Namun, menurut Prediksi Aturan Lipinski, terdapat 11 senyawa yang memenuhi kriteria

tersebut dan setiap senyawa yang uji menunjukkan ada pelanggaran, sehingga senyawa tersebut tidak dapat dianggap sebagai kandidat obat dalam bentuk sediaan oral (Tabel

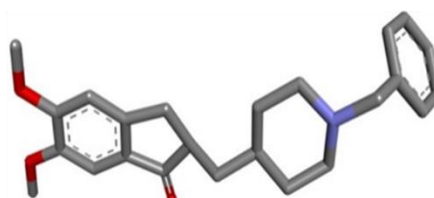
1). Dengan demikian, senyawa tersebut tidak dapat dianggap sebagai kandidat obat dari 21 senyawa yang dapat memenuhi kriteria tersebut.

Tabel 1 Sifat senyawa berdasarkan aturan Lipinski

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul (Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Pelanggaran RO5	Drug Likeness
				Donor (<5)	Akseptor (< 10)		
1.	Donepezil (Native Ligand)	379.49	4	0	4	0	Memenuhi
2.	C ₈ H ₁₀ ClNO ₂	187.629	1.54	1	2	0	Memenuhi
3.	C ₉ H ₁₆ NO ₃	186.23	0.72	1	4	0	Memenuhi
4.	C ₂₅ H ₃₆ O ₉	480.55	1.56	4	9	0	Memenuhi
5.	C ₁₁ H ₂₀ N ₄ O ₅	288.30	-2.46	5	6	2	Tidak Memenuhi
6.	C ₂₃ H ₂₆ N ₄ O ₄	422.48	2.31	3	5	0	Memenuhi
7.	C ₁₈ H ₄₀ NS	302.58	5.69	0	1	2	Tidak Memenuhi
8.	C ₁₃ H ₂₀ N ₆ O ₅	340.34	-4.99	6	7	2	Tidak Memenuhi
9.	C ₁₆ H ₂₂ N ₆ O ₄	362.38	-4.05	4	5	1	Memenuhi
10.	C ₃₁ H ₄₈ O ₆	516.71	-	6	6	3	Tidak Memenuhi
11.	C ₁₃ H ₂₆ N ₇ O	296.39	-	4	4	2	Tidak Memenuhi
12.	C ₄₇ H ₇₆ O ₁₁	817.0	-	4	11	3	Tidak Memenuhi
13.	C ₄₅ H ₇₆ N ₂ O ₁₅	885.09	-	3	17	3	Tidak Memenuhi
14.	C ₁₁ H ₂₂	154.29	4.82	0	0	0	Memenuhi
15.	C ₁₄ H ₁₃ ClO ₂ S	280.77	4.06	0	2	0	Memenuhi
16.	C ₆ H ₆ N ₂ OS	154.19	-0.85	1	1	1	Memenuhi
17.	C ₁₁ H ₂₀ O ₁₀	312.27	-	7	10	3	Tidak Memenuhi
18.	C ₁₁ H ₁₁ ClN ₂ O ₅	286.67	1.92	1	5	0	Memenuhi
19.	C ₂₂ H ₃₆ O ₃	338.44	4.8	0	3	0	Memenuhi
20.	C ₂₀ H ₂₄ O ₅ S	376.47	2.39	2	5	0	Memenuhi
21.	C ₃₃ H ₅₂ O ₇	560.76	5.24	4	7	2	Tidak Memenuhi
22.	C ₁₄ H ₂₂ N ₆ O ₆	370.36	-5.31	7	8	2	Tidak Memenuhi



(A)



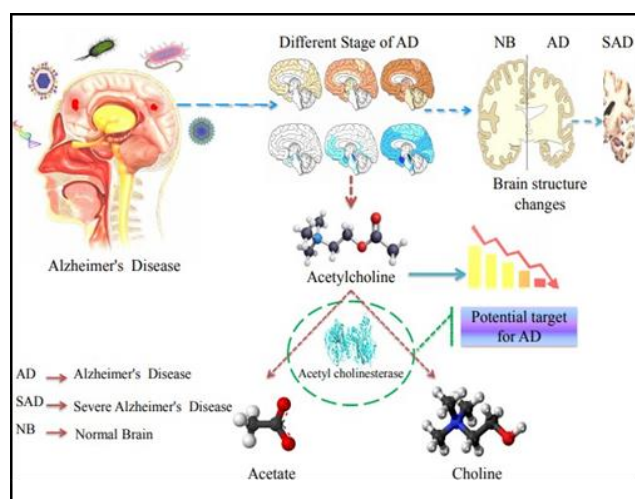
(B)

Gambar 1. Struktur Enzim AChE dan Native Ligan; (A). Struktur Enzim AChE (PDB ID : 4EY7); (B). Struktur Ligan Alami Donepezil dari Enzim AChE (PDB ID : 4EY7)

Senyawa uji yang memenuhi kaidah hukum Lipinski dilakukan optimasi dengan menggunakan software PyRx. Minimalisasi energy ini dilakukan sedemikian rupa sehingga ligan menjadi lebih stabil, mendekati keadaan awal selama proses docking molekuler [13]. Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa minimalisasi energi total dapat memaksimalkan kemampuan menyumbangkan electron suatu senyawa (ligan), sehingga memudahkan

senyawa untuk berikatan dengan prtein target [14]. Selanjutnya dilakukan preparasi pada makromolekul (protein target) dengan menggunakan UCSF Chimera dan AutoDock Tools. Preparasi makromolekul dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan struktur protein target tanpa native ligand (ligan asli) sehingga tersedia ruang (pocket cavity) untuk proses docking senyawa uji, serta diperoleh juga struktur native ligand untuk proses validasi

metode [15]. Preparasi makromolekul dilakukan dengan menghilangkan molekul air (H_2O) dari setiap protein target yang ligan alaminya telah dihilangkan, sehingga meninggalkan asam amino dari protein tersebut. Serta menambahkan ion hidrogen dan perhitungan Kollman. Reseptor Acetylcholinesterase dengan PDB ID 4EY7 mempunyai dua kompleks yang didalamnya terdapat ligan alami (Native Ligand) berupa Donepezil atau 1-Benzyl-4-[(5,6-Dimethoxy-1-Indanon-2-yl) Methyl] Piperidine.



Gambar 2. Mekanisme Simulasi Protein Target

Asetilkolinesterase (AChE) adalah enzim yang mengkatalisis pemecahan asetilkolin (ACh) menjadi asetat dan kolin (Gambar 1). Ini juga merupakan target potensial dari sebagian besar obat yang digunakan secara klinis untuk mengobati penyakit Alzheimer. Degenerasi neuron kolinergik dan hilangnya transmisi saraf merupakan penyebab utama penurunan kognitif pada pasien Alzheimer. Menurut hipotesis kolinergik, penyebab utama penyakit Alzheimer adalah berkurangnya sintesis AChE. Oleh karena itu, ini merupakan strategi terapi potensial untuk meningkatkan kadar kolinergik dengan menghambat aktivitas biologis asetilkolinesterase (AChE). Selain itu, inhibitor AChE meningkatkan fungsi neurologis, yang merupakan salah satu tujuan utama pengobatan penyakit Alzheimer. Ulasan ini menjelaskan patogenesis, gambaran klinis, status saat ini, struktur kristal, dan arah pengembangan masa

depan obat baru yang mengurangi toksisitas dan memberikan lebih banyak manfaat terapeutik dalam pengobatan penyakit Alzheimer. Penambatan dan validasi molekul dilakukan dengan AutoDock. Validasi dilakukan dengan membentuk gate box yang akan memberikan ruang bagi ligan asli untuk membentuk konformasi setelah berikatan dengan protein target. Daerah gerbang merupakan tempat ligan berinteraksi dengan residu asam amino pada protein target. Grid didefinisikan untuk menemukan koordinat di wilayah situs pengikatan protein. Hasil yang diperoleh pada proses ini adalah parameter grid box dan nilai RMSD. Metode docking dikatakan valid jika mempunyai nilai RMSD < 2 . Nilai RMSD yang diperoleh saat validasi adalah $1,07 \text{ \AA}$. Selanjutnya dilakukan docking molekul pada senyawa uji menggunakan posisi grid dari proses validasi.

Pada tulisan ini, kotak grid yang digunakan memiliki nilai sebagai berikut: Kotak grid ($x = 40$; $y = 24$; $z = 34$), koordinat grid ($x = -13.988$; $y = -43.906$; $z = 27.109$) dengan jarak 1 \AA . Setelah diperoleh nilai yang akurat untuk ukuran dan posisi kotak grid, maka dilakukan prosedur docking molekuler pada molekul senyawa uji (ligan uji) dan Donepezil sebagai ligan pembanding. Donepezil adalah obat yang ditujukan untuk mengatasi gejala demensia pada pasien penyakit Alzheimer. Parameter yang diamati dari hasil docking molekuler ini adalah jumlah ikatan hidrogen, nilai energi bebas pengikatan (ΔG), dan nilai konstanta penghambatan (K_i). Parameter ini mempengaruhi afinitas atau kemampuan pengikatan ligan terhadap reseptor. Semakin besar jumlah ikatan hidrogen antara ligan uji dengan ligan alami, hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang menjadi ligan uji mempunyai kemampuan dalam menghambat aktivitas protein target atau reseptor dengan cara menggusur posisi ligan alam dengan ligan uji. Nilai ΔG yang rendah atau negatif menunjukkan kemungkinan terbentuknya pengikatan antara ligan dan makromolekul. Nilai K_i menunjukkan konsentrasi yang diperlukan untuk menghasilkan setengah dari nilai daya hambat maksimum. Nilai K_i yang kecil menyebabkan afinitas ligan terhadap makromolekul semakin kuat.

Tabel 2. Energi Bebas, Konstanta Inhibisi, Ikatan hidrogen, dan Residu Asam Amino

Senyawa Uji	Energi bebas pengikatan (kkal-mol ⁻¹)	Konstanta Inhibisi (µM)	Ikatan hidrogen	Jarak ikatan hidrogen (Å)	Residu asam amino
C₈H₁₀ClNO₂	-4.64	399.02	SER 125 TRP 86 TRP 86 ASN 87	2.30684 2.35045 3.66108 3.05519	TYR 337 , TYR 124, ASN 87, HIS 447, ASP 74, SER 125, TYR 341 , TRP 86 , GLY 120, GLY 121, GLY 126, LEU 130
C₉H₁₆NO₃	-5.61	77.77	VAL 340 GLU 292	2.59401 3.31099	SER 347, PHE 346, GLY 345, TYR 77, PRO 344, VAL 340, LEU 76, ALA 343, GLY 342, TYR 341, GLU 292, GLN 291, SER 293, TRP 286, LEU 289
C₂₃H₂₆N₄O₄	-6.96	7.95	GLY 342 PHE 346 PHE 346 LEU 339 ALA 343 SER 293	2.84978 2.78737 1.88326 2.94639 2.15723 1.80293	GLU 292, ARG 296, VAL 294, SER 293, LEU 289, PHE 295, PHE 297, LEU 76, TYR 77, TYR 341 , TRP 286 , VAL 340, GLY 342, PHE 346, SER 347, ALA 343, LEU 339
C₁₈H₄₀NS	-4.48	522.95			GLY 448, GLU 202, SER 125, GLY 122, GLY 121, HIS 447, TYR 124, PHE 297, TRP 286, SER 203, GLY 120, TYR 133, TRP 86 , TYR 337, TYR 341, ARG 296, VAL 294, PHE 295, PHE 338
C₁₆H₂₂N₆O₄	-5.08	190.23	SER 293 TRP 286 TRP 286 HIS 287 GLU 292	2.44405 2.44006 2.59581 2.55841 3.27076	GLN 250, PRO 290, GLN 291, GLU 292, SER 293, HIS 287, LEU 289, TRP 286
C₁₁H₂₂	-4.02	1.13			GLY 448, TYR 341 , GLY 121, TYR 337 , SER 203, GLY 122, PHE 338 , TYR 124, ALA 204, HIS 447 , PHE 297 , PHE 295
C₁₄H₁₃ClO₂S	-6.86	9.31			
C₆H₆N₂OS	-4.15	915.04	GLU 202 TYR 124 HIS 447	2.15419 2.43059 3.09766	HIS 447 , TYR 124, TYR 337 , TRP 86 , GLY 448, ILE 451, GLU 202, SER 125, GLY 121, SER 203, GLY 120
C₁₁H₁₁ClN₂O₅	-5.72	63.87	PHE 295 ARG 296	1.93059 2.80464	LEU 289, VAL 294, SER 293, PHE 295, ARG 296, PHE 338, TRP 286 , TYR 341, PHE 294, TYR 124
C₂₂H₃₆O₃	-7.90	1.62			TYR 341 , PHE 295, TYR 72, PHE 338 , SER 293, TYR 124, PHE 297, TRP 286 , GLY 342, GLU 292, LEU 289
C₂₀H₂₄O₅S	-6.52	16.72	PHE 295	2.72093	PHE 295, ARG 296, SER 293, LEU 289 , GLN 291, PHE 338, GLU 292, PHE 297, TYR 341, VAL 294 , TRP 286 , TYR 124, HIS 287
Native Ligand	-6.89	8.83	SER 293 PHE 295 VAL 282	3.7826 2.7113 3.7535	HIS 287, SER 293, TYR 341, TRP 286 , ASN 283, TYR 72, ARG 296, VAL 282, PHE 297, PHE 338, PHE 295, TYR 124

Note: Ikatan hidrofobik pada residu asam amino diberi tulisan "bold"

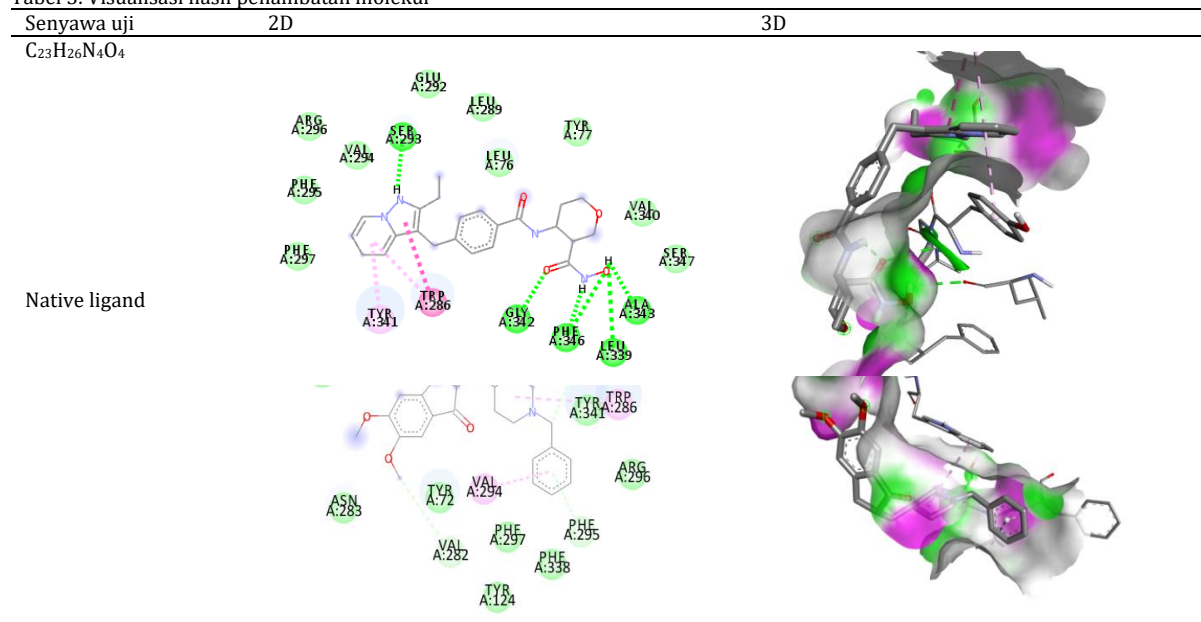
Proses inspeksi diselesaikan dengan mengekstraksi data dari produk akhir atau counter. Komputer mendeteksi bahwa atom dengan muatan terendah menunjukkan interaksi dan stabilitas yang lebih baik. Semakin rendah efisiensi aktivitas docking, semakin stabil protein-ligan dan oleh karena itu semakin menguntungkan domain tersebut [16]. Hasil docking dapat dilihat menggunakan program Discovery Studio Visualizer 2021. Tujuan visualisasi yaitu untuk melihat interaksi yang terjadi antara ligan dan residu asam amino pada reseptor. Prosedur screening dilakukan untuk

mengetahui interaksi yang terjadi pada efek docking antara reseptor dan ligan. Perhitungan struktur pengikatan (fungsi sinyal) yang terbentuk dalam makromolekul pada kondisi yang sama disebut gaya pengikatan. Energi ikatan bernilai positif jika negatif. Energi bebas juga sama dengan waktu terikat. Semakin negatif ΔG suatu senyawa, semakin kuat interaksinya dengan reseptor. Secara umum, jika nilainya $\leq 100 \mu M$, inhibitor dapat dianggap sebagai inhibitor kuat; jika $\geq 100 \mu M$, inhibitor dapat dianggap sebagai inhibitor lemah [17]. Penurunan nilai intensitas menunjukkan

interaksi yang stabil antara protein dan ligan [18]. Sedangkan penghambatan langsung mengacu pada kemampuan suatu senyawa untuk menghambat aktivitas reseptornya. Semakin rendah nilai normal resistensi, semakin besar efek penghambatannya [19]. Nilai pengikatan yang rendah menunjukkan bahwa kompleks protein yang terbentuk stabil. Berdasarkan hal tersebut, dipilih sifat-sifat unit uji yang mempunyai ikatan dan interaksi paling rendah dengan residu asam amino pada tempat pengikatan [20]. Dari hasil uji molekuler docking pada Tabel 2, hasil pelabelan terbaik adalah senyawa pirazolopiridin ($C_{23}H_{26}N_4O_4$), dengan kinerja -6,96, resistansi konstan $7,95\mu M$, dan 6 ikatan hidrogen pada GLY342. Ikatan hidrogen digunakan sebagai penanda

yang menunjukkan adanya interaksi kimia antara obat dan pembawa. Ikatan hidrogen penting untuk menjaga stabilitas protein, sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk dalam percobaan sel mewakili interaksi antara senyawa dan reseptor. Pada saat yang sama, interaksi hidrofobik dapat meningkatkan stabilitas protein dengan mengubah bentuk bagian hidrofobik asam amino, dan dapat mengidentifikasi residu asam amino yang berkontribusi terhadap retensi protein [16]. Karena alasan seluler, energi ikat dan stabilitas zat uji lebih rendah dibandingkan dengan ikatan alami atau ikatan organik, yaitu senyawa uji 10, tetapi tidak memiliki ikatan hidrogen dan tidak dapat dibandingkan dengan ikatan.

Tabel 3. Visualisasi hasil penambatan molekul



4 Kesimpulan

Sebanyak 21 senyawa daun Miana diuji penambatan molekul terhadap Acetylcholinesterase (AChE) untuk mengetahui aktifitas biologis sebagai obat penderita Alzheimer. Dari hasil yang diperoleh senyawa Pyrazolopyridine dengan rumus kimia $C_{23}H_{26}N_4O_4$ memiliki nilai scoring terbaik dengan nilai energi energi ikatan bebas sebesar -6.96 serta memiliki nilai konstanta inhibisi sebesar $7.95\mu M$, yang mengikat enam ikatan

hidrogen pada GLY 342, PHE 346, PHE 346, LEU 339, ALA 343 dan SER 293. Dan ikatan hydrogen pada ligan uji yang sama dengan ligan alami yaitu SER 293

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada *NPBC laboratory research group* atas support laboratorium, Software, dan instrumen komputer, juga kepada

Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi atas bantuan pendanaan penelitian Tahun 2021.

5.2 Penyandang Dana

Hibah PNPB Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi, Skema Penelitian Dasar Pemula, Tahun 2021,

5.3 Kontribusi Penulis

Kontribusi Penulis: Konsep Penelitian, I.L.T., M.L.; YY; Metodologi, V.V., I.L.T., C.P.B., J.A.N.S.; software, I.L.T., V.V., C.P.B.; validasi, I.L.T dan M.L.; Analisis, I.L.T.; investigasi, V.V., C.P.B., J.A.N.S.; Resources, I.L.T.; Kurasi data V.V., C.P.B., J.A.N.S.; Manuskrip I.L.T., V.V., C.P.B., J.A.N.S.; Review dan Editing, I.L.T., M.L., Visualisasi, C.P.B.; Funding; I.L.T., M.L.

5.4 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan dalam penulisan artikel ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Nussbaum ES. Diagnosis and management of carotid stenosis: a review. *Minn Med.* 2000;83(1):45-49. doi:10.1001/jama.2019.4782.Diagnosis
- [2] Jalbert JJ, Daiello LA, Lapane KL. Dementia of the Alzheimer type. *Epidemiol Rev.* 2008;30(1):15-34. doi:10.1093/epirev/mxn008
- [3] Budiman HM, Berawi KN, Bustomi EC, et al. Mekanisme Rokok dalam Meningkatkan Risiko Penyakit Alzheimer Smoking Mechanism in Increasing Risk of Alzheimer ' s Disease. *J Kedokt.* 2018;7(3):234-240.
- [4] Moya-Alvarado G, Gershoni-Emek N, Perlson E, Bronfman FC. Neurodegeneration and Alzheimer's disease (AD). What can proteomics tell us about the Alzheimer's brain? *Mol Cell Proteomics.* 2016;15(2):409-425. doi:10.1074/mcp.R115.053330
- [5] Az-Zahra F, Afidika J, Diamantha SDA, et al. Indonesian Journal of Biological Pharmacy In Silico Study of Betel Leaves Compound (Piper betle L.) as Acetylcholinesterase (AChE) Enzyme Inhibitor in Alzheimer Disease. *Indones J Biol Pharm.* 2022;2(2):44-58.
- [6] A. Srinivas Reddy, S. Priyadarshini Pati, P. Praveen Kumar, H.N. Pradeep, G. Narahari Sastry. Virtual Screening in Drug Discovery - A Computational Perspective. *Curr Protein Pept Sci.* 2007;8(4):329-351. doi:10.2174/138920307781369427
- [7] Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies.* Vol 20.; 2015. doi:10.3390/molecules200713384
- [8] Brogi S, Ramalho TC, Kuca K, Medina-Franco JL, Valko M. Editorial: In silico Methods for Drug Design and Discovery. *Front Chem.* 2020;8(August):1-5. doi:10.3389/fchem.2020.00612
- [9] Jamal QMS, Khan MI, Alharbi AH, Ahmad V, Yadav BS. Identification of Natural Compounds of the Apple as Inhibitors against Cholinesterase for the Treatment of Alzheimer's Disease: An In Silico Molecular Docking Simulation and ADMET Study. *Nutrients.* 2023;15(7). doi:10.3390/nu15071579
- [10] Singh S, Gupta AK, Verma A. Molecular properties and bioactivity score of the aloe vera antioxidant compounds - in order to lead finding. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2013;4(2):876-881.
- [11] Zubair MS, Maulana S, Mukaddas A. Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Dari Genus *Nigella* Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim Protease HIV-1. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy).* 2020;6(1):132-140. doi:10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14982
- [12] Syahputra G, Ambarsari L, T S. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *J Biofisika.* 2014;10(1):55-67.
- [13] Hanif AU, Lukis PA, Fadlan A. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekuler Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy.* 2020;8(2):33-40. doi:10.18860/al.v8i2.10481
- [14] Dewi N, Ginarsih N. Molecular Docking Ellagic Acid Sebagai Agen Anti-photoaging Secara In Silico. *Acta Holistica Pharm.* 2021;3(1):22-30.
- [15] Manandhar S, Sankhe R, Priya K, Hari G, Kumar H, Mehta BCH. Molecular dynamics and structure - based virtual screening and identification of natural compounds as Wnt signaling modulators : possible therapeutics for Alzheimer ' s disease. *Mol Divers.* 2022;26(5):2793-2811. doi:10.1007/s11030-022-10395-8
- [16] Akbar, N.A., Amin, S., & Wulandari WT. Studi In Silico Senyawa Yang Terkandung Dalam Tanaman Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruitz & Pav) Sebagai Kandidat Anti Sars Cov-2. *Ejurnal Univ Bth.* 2022;2:378-391.
- [17] Putri RG, Safithri M, Husnawati H, Kurniasih R. Penambatan Molekuler Senyawa Aktif Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada Butirilcholinesterase sebagai Kandidat Antialzheimer. *ALCHEMY J Penelit Kim.*

- 2023;19(1):68.
doi:10.20961/alchemy.19.1.59676.68-85
- [18] Manna A, Laksitorini MD, Hudyanti D, Siahaan P. Molecular Docking of Interaction between E-Cadherin Protein and Conformational Structure of Cyclic Peptide ADTC3 (Ac-CADTPC-NH₂) Simulated on 20 ns. *J Kim Sains dan Apl.* 2017;20(1):30-36. doi:10.14710/jksa.20.1.30-36
- [19] Umamaheswari M, Madeswaran A, Asokkumar K. Virtual screening analysis and in-vitro xanthine oxidase inhibitory activity of some commercially available flavonoids. *Iran J Pharm Res.* 2013;12(3):317-323.
- [20] Susanti NMP, Laksmiani NPL, Noviyanti NKM, Arianti KM, Duantara IK. Molecular Docking Terpinen-4-Ol Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara in Silico. *J Kim.* Published online 2019:221. doi:10.24843/jchem.2019.v13.i02.p16