

---

**Hasil *In Silico* Senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547 dibandingkan Turunan Zerumbon terhadap *Human Liver Glycogen Phosphorylase* (1L5Q) sebagai Antidiabetes**

**Fitri Kusvilia Azis, Cantika Nukitasari, Fauziyah Ardli Oktavianingrum, Lita Windy Ariyati, Broto Santoso**

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia

Email: [broto.santoso@ums.ac.id](mailto:broto.santoso@ums.ac.id)

Received: November 2016; Revised: November 2016; Accepted: November 2016; Available Online: December 2016

---

### Abstrak

*Human Liver Glycogen Phosphorylase* (HLGP), suatu katalis glikogen yang mengontrol pelepasan glukosa-1-fosfat glikogen dari hati. Enzim ini mempunyai peran sentral dalam luaran glukosa hati sehingga menjadi target obat antidiabetik. Kajian docking dilakukan pada komputer dengan prosesor Intel Pentium, RAM 1 GB dan Windows 7. Ligan yang digunakan adalah senyawa obat (Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547), dataset pembandingan aktif *glycogen phosphorylase outer dimer site* (PYGL-out) dan *decoys* dari [www.dekois.com](http://www.dekois.com) dan turunan zerumbon. Protein dipisahkan dari ligan *nativ* dan semua ligan beserta protein dikonversi menggunakan PyRx. Visualisasi interaksi ligan-protein dihasilkan dengan program *Protein-Ligand Interaction Profiler* (PLIP) dan PyMOL. Senyawa ZER11 memiliki *binding energy* terbaik, yaitu -7.11 kkal/mol (untuk metode LGA dan GA) dan -4.08 kkal/mol untuk metode SA. Nilai *binding energy* tersebut lebih rendah dari pada nilai untuk ligan *native* dan satu dari keempat senyawa obat, terlebih jika dibandingkan dengan *bindingaffinity* dari dataset dan *decoys*. Interaksi ligan-protein pada ketiga metode tersebut ditemukan sangat bervariasi. Hal berbeda terjadi untuk metode Vina, *bindingenergy* ZER11 (-9.9 kkal/mol) lebih baik dibandingkan dengan ligan *native* dan keempat senyawa obat. Senyawa ZER11 memiliki residu interaksi yang sama dengan ligan *native* pada TRP67 dan LYS191 untuk metode Vina.

**Kata kunci:** PDBID-1L5Q, AutoDock, docking molekuler, vina, antidiabetes

### Abstract

Human Liver Glycogen Phosphorylase (HLGP) can catalyze glycogen and control the release of glucose-1-phosphate of glycogen from the liver. This enzyme has a central role in output rule of liver glucose as it can be used as an antidiabetic drug targets. Docking studies were carried out on PC with Intel Pentium, 1 GB RAM, in environment of Windows 7. Ligands used are drug compounds (Z12501572, Z00321025, SCB5631028 and SCB13970547), the active dataset comparator was glycogen phosphorylase outer dimer site (PYGL-out) and decoys from [www.dekois.com](http://www.dekois.com) and zerumbon derivatives. Protein was separated from its native ligand and all ligands including the protein were converted to pdbqt using PyRx. The interaction of protein-ligand was visualized using software of PLIP and PyMOL. Compound of ZER11 had the best binding energy were -7.11 kcal/mol (LGA and GA) and -4.08 kcal/mol (SA). The binding energy value was lower than the ligand native and one of the four drug compounds, especially compared with the binding affinity of dataset and decoys. Vice versa, for Vina method, the value of ligand binding protein for ZER11 (-9.9 kcal/mol) was better than the ligand native and all of the fourth drug compounds. Vina result showed that ZER11 had the same residual interaction as the ligand native, which are TRP67 and LYS191.

**Keyword:** PDBID-1L5Q, AutoDock, molecular docking, vina, antidiabetic

**DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/jkv.v0i0.4170>

## 1. PENDAHULUAN

Glikogen di dalam lipid memiliki regulasi sintesis glikogen oleh glikogen sintase (GS) dan pemecahan glikogen oleh glikogen fosforilase (GP) (Nagy *et al.*, 2013). Inhibisi dari *Hepatic Glycogen Phosphorylase* atau *Human Liver Glycogen Phosphorylase* (HLGP) merupakan model pengobatan yang potensial untuk diabetes mellitus. Reseptor ini adalah suatu katalis perombakan dari glikogen menjadi glukosa-1-fosfat di hati (Barker *et al.*, 2005).

Freeman *et al.*, (2006) menyatakan bahwa pemberian inhibitor *glycogen phosphorylase* pada tikus kadar glikogen dalam otot lebih besar 1.5 kali lipat daripada yang ada di dalam hati. Fosforilasi hati mengkatalisis dan memainkan peranan penting dalam produksi glukosa. Rathetal. (2000) mendapatkan bahwa pada penderita diabetes, glukogenolisis tetap berperan pada luaran glukosa di hati ketika kadar gula dalam darah tinggi. Hal tersebut semakin membuktikan bahwa penghambatan fosforilasi mempunyai peran yang penting dalam terapi diabetes.

Sisi aktif dalam HLGP sebagai agen antidiabetes yang menjanjikan telah diidentifikasi secara kristalografi. Struktur kristal menunjukkan bahwa detail ikatan inhibitor tersebut mengiring jalannya rancangan kelas senyawa yang baru. Pengembangan senyawa tersebut harus dipercepat untuk dapat digunakan sebagai antidiabetes.

*Molecular docking* merupakan kunci dalam biologi molekular dan metode desain obat yang menggunakan bantuan komputer. *Docking* dapat digunakan untuk melakukan skrining virtual pada database senyawa yang besar, peringkat hasil dan mengusulkan hipotesis struktural bagaimana ligan menghambat target, yang sangat penting dalam optimasi utama (Morris and Lim-Wilby, 2008)

Perangkat lunak PyRx mengandung empat metode *docking* yang sampai sekarang masih digunakan. PyRx dapat mengelola pekerjaan secara mandiri, menggunakan work station tunggal atau kluster. PyRx dapat dijalankan pada Windows, Mac OS X, atau komputer Unix/Linux. PyRx dapat digunakan secara gratis, mudah dan terbuka untuk umum, yang didistribusikan di bawah lisensi Simplified BSD (Jacob *et al.*, 2012).

Senyawa Z12501572, Z00321025,

SCB5631028 dan SCB13970547 merupakan senyawa yang telah dibuktikan aktif sebagai inhibitor HLGP (Dropinski *et al.*, 2010; Rath *et al.*, 2000). Dalam penelitian sebelumnya yang belum dipublikasikan, beberapa turunan senyawa zerumbon berhasil disintesis. Hal ini didasari bahwa zerumbon sebagai senyawa induk yang merupakan senyawa terbanyak dari lempuyang empurit telah terbukti memiliki antidiabetes yang menjanjikan (Santoso *et al.*, 2015; Sakika *et al.*, 2014).

Senyawa uji dapat dilakukandocking secara molekular namun memerlukan senyawa pembanding. Senyawa dataset dan *decoys* diperlukan untuk melihat korelasi hasil *docking* dengan *in vitro* termasuk senyawa-senyawa yang telah dipasarkan. dapat meningkatkan dan mengembangkan skoring dari *molecular docking* yaitu dengan membuat lebih cepatnya pengujian secara eksperimental dan mendapatkan hasil yang baik (Graves *et al.*, 2005).

Senyawa dataset yang merupakan senyawa aktif yang sudah diteliti memiliki aktivitas dan digunakan sebagai kontrol positif. Senyawa *decoys* merupakan senyawa yang tidak memiliki efek antidiabetik dan digunakan sebagai kontrol negatif. Keempat senyawa obat merupakan senyawa yang harus digunakan sebagai senyawa aktif pembanding yang diyakini memiliki aktivitas antidiabetes.

Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan data kajian *in silico* untuk melihat hasil interaksi yang dinyatakan dalam kkal/mol dan ikatan protein-ligan. Molekul terbaik sebagai antidiabetes didapatkan dengan melihat nilai energi *binding* hasil *docking*. *Binding energy* terbaik adalah yang paling kecil, artinya energi yang dibutuhkan untuk berikatan dengan protein target 1L5Q lebih kecil sehingga lebih efektif sebagai antidiabetik. Berdasarkan hal tersebut, dapatkah turunan senyawa zerumbon ini memiliki hasil *in silico* yang lebih baik dibandingkan 4 senyawa obat terpilih. Harapannyaakan diperoleh senyawa turunan zerumbon yang berpotensi sebagai obat andiabetes yang dapat dikembangkan menjadi obat diabetes dimasa yang akan datang.

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan secara komputasi menggunakan Toshiba Satellite C640 (Intel Pentium, 1GB RAM, Windows 7

32bit). Docking ini telah dilakukan menggunakan program Vina dan AutoDock dengan bantuan PyRx 0.9.4, Chimera 1.10, PyMOL 1.7, OpenBabel, PLIP (*Protein Lig and Interaction Profiller*) versi 1.3. Beberapa tahapan yang dilalui adalah koleksi ligan dan protein, preparasi keduanya, *docking*, analisis hasil dan interaksi.

Keseluruhan ligan berjumlah 104 senyawa yang terdiri dari ligan *native* 115Q yang diperoleh dari [www.pdb.org](http://www.pdb.org). memiliki nilai resolusi X-ray pengukuran sebesar 2.25 Å, turunan zerumbon (Santoso *et al.*, 2015) dan *decoys*. Senyawa uji yang digunakan berjumlah 4 senyawa, yaitu Z12501572, Z321025, SCB5631028 dan SCB13970547. Kesemua senyawa telah dipreparasi menggunakan Chimera.

### Aktivitas Docking

Keempat metode *docking* memiliki besaran gridbox yang sama yaitu X= 50, Y= 50, Z= 50. Semua ligan diuji secara *docking* melalui langkah yang dipandu (*wizard*). Hasilnya adalah energi ikatan terendah dengan protein target dan konformasi ligan yang berhasil dilakukan *docking* menggunakan metode VINA, Lamarckian Genetic Algorithm (LGA), Genetic Algorithm (GA) dan Simulated Annealing (SA). Data setelah dilakukan PLIP diperoleh jenis interaksi, residu yang terlibat, dan jarak interaksi.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

*Molecular docking* yang dilakukan berguna untuk memprediksi mekanisme molekuler yang terjadi antara ligan dengan 1L5Q sehingga dapat berperan sebagai agen antidiabetes. Kekuatan ikatan antara ligan dan

protein 1L5Q diprediksi melalui *binding energy* yang diperoleh dari hasil *docking*. *Binding energy* adalah kekuatan interaksi antara dua molekul atau lebih. Semakin besar nilai *binding energy*, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin rendah. Namun sebaliknya, semakin rendah nilai *binding energy* maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin tinggi (Kastritis dan Bonvin, 2012).

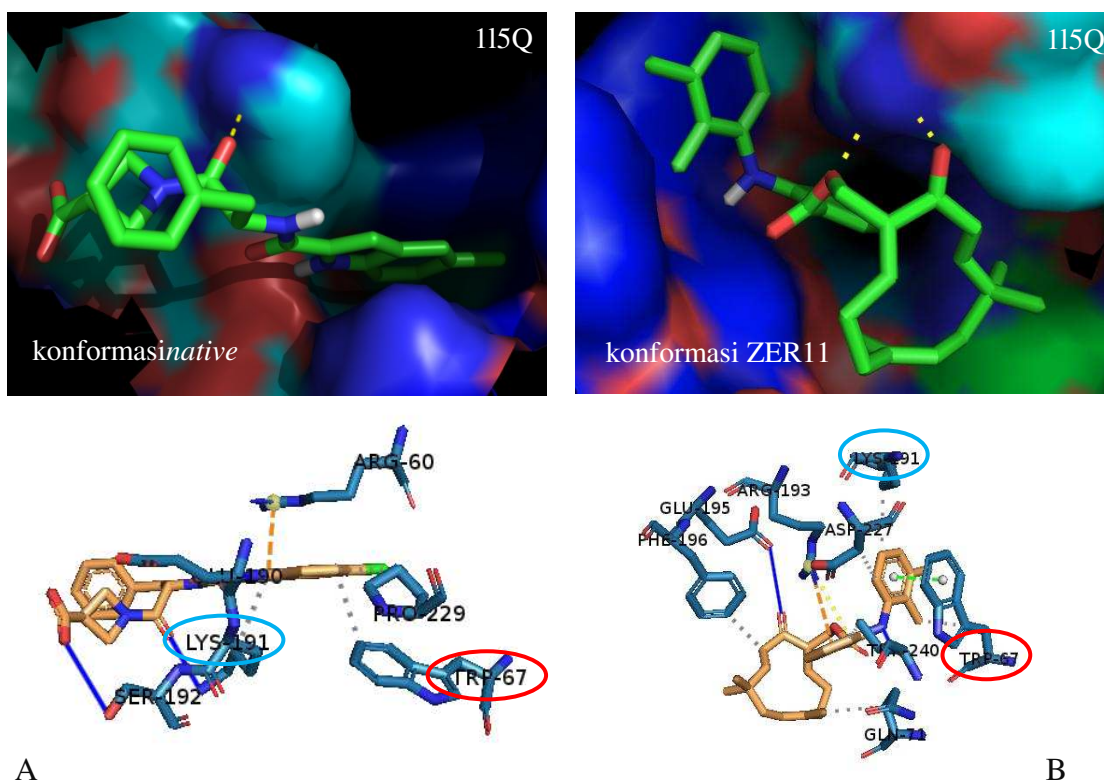
Tabel 1 menunjukkan bahwa besaran nilai *binding energy* yang diperoleh dari *docking* untuk beberapa senyawa terpilih. Secara keseluruhan, metode *docking* yang memiliki kemampuan lebih cepat dan lebih akurat adalah metode Vina. *Binding energy* ligan *native* terendah didapat melalui *docking* metode Vina, sebesar -8.8 kkal/mol. Algoritma Vina yang digunakan untuk mayoritas ligan yang diujikan, memiliki *binding energy* yang lebih rendah dibandingkan ligan *native*. Ketiga senyawa yang diujikan memiliki *binding energy* yang lebih tinggi dibanding ligan *native* kecuali senyawa SCB13970547 (-9.2 kkal/mol) dan senyawa Z00321025 (-8.5 kkal/mol).

Hasil dari metode LGA untuk ligan *native* diperoleh nilai *binding energy* sebesar -7.64 kkal/mol hanya ada satu senyawa uji yang memiliki nilai lebih rendah yaitu Z00321025 -7.69 kkal/mol dan dua ligan dataset yang bernilai lebih rendah. Hasil dari metode GA ditemukan bahwa tidak ada satupun senyawa uji maupun ligan uji yang memiliki nilai *binding energy* lebih rendah dibanding ligan *native* sebesar -7.85 kkal/mol. Metode terakhir yaitu metode SA, memiliki *binding energy* yang terendah sebesar -1.6 kkal/mol sehingga semua senyawa uji dan ligan otomatis memiliki nilai *binding energy* yang lebih rendah dibanding ligan *native*.

**Tabel 1.** *Binding affinity* hasil *docking* kelompok senyawa (terbaik) terhadap protein target

Algoritma AutoDock (AD)	NATIVE	Binding Energy (kkal/mol)									
		Z12501572	SCB5631028	Z00321025	SCB13970547	Konformasi Terbaik					
						Dataset <sup>1</sup>		Novel		Decoys <sup>2</sup>	
						1	2	1	2	1	2
Vina	-8.8	-5.5	-7.5	-8.5	-9.2	-10.3	-10.3	-9.9	-9.8	-11.0	-10.8
AD-LGA	-7.6	-5.0	-6.3	-7.7	-5.8	50256392	50256169	ZER11	ZER123a	17207117	03200467
AD-GA	-7.8	-4.6	-4.6	-7.1	-5.6	50256329	50256329	ZER11	ZER17	2269616	02348652
AD-SA	-1.6	*	-1.6	-5.9	-3.3	5013565	50243677	ZER11	ZER11	22696163	26503135
						50243445	50256329	ZER	ZER	15823015	28854870

<sup>1</sup>kode ID senyawa BDB, <sup>2</sup>kode ID senyawa ZINC, \*pengukuran tidak berhasil diselesaikan



**Gambar 1.** Visualisasi interaksi ligan yang terdapat dalam *binding site pocket* protein dengan menggunakan PyMOL (atas) dan PLIP (bawah), (A) ligand *native* dan (B) ZER11. Residu yang diikat sama pada keduanya yaitu LYS191 dan TRP67.

Visualisasi hasil menggunakan PLIP untuk seluruh ligan uji dan ligan pembanding memperlihatkan kesamaan residu yang mampu diikat oleh ligan (uji dan pembanding). Hasil yang diperoleh untuk metode Vina menunjukkan bahwa senyawa Z12501572 tidak ada residu yang menyamai ligan *native* baik pada *Hydrophobic Interaction* (HI) dan *Hydrogen Bond* (HB), namun pada metode LGA memiliki tingkat kesamaan sebesar 50% pada HI dan juga HB. Pada metode GA, tingkat kesamaan 40% pada HI namun tidak ditemukan adanya kesamaan pada HB. Selanjutnya, senyawa SCB5631028 tidak memiliki kesamaan residu sama sekali pada metode Vina, namun ada kesamaan sebesar 50% pada HI dan HB di metode LGA, 80 HI dan 100% HB di metode GA, dan 100% pada masing-masing HI maupun HB di SA. Senyawa Z321025 hanya memiliki 33.33% kesamaan HI pada metode VINA, 100 % HI dan 75% HB di LGA, masing-masing 100% pada GA dan 100% pada HI di metode SA. Senyawa SCB13970547 memiliki 33.33% kesamaan residu HI namun tidak ada kesamaan HB dalam metode VINA, 50%

kesamaan HI dan 25% kesamaan HB pada LGA, juga 60% kesamaan HI dan 50% kesamaan HB pada GA. Tidak ditemukan kesamaan sama sekali pada metode SA. Untuk ligan dataset, 33.33% kesamaan ditemukan pada HI dan tidak ada kesamaan pada HB di VINA, tidak ada kesamaan HI namun ada kesamaan 75% HB dalam metode LGA, kesamaan 60% pada HI dan 100% pada HB dalam GA, dan juga 100% kesamaan yang ditemukan hanya pada HB dalam SA. Adanya kesamaan residu ligan novel hanya ditemukan pada metode VINA sebesar 66.66% HI dan 25% HB dalam LGA. Selanjutnya ligan decoys, hanya memiliki tingkat kesamaan residu sebesar 50% untuk masing-masing HI dan HB pada LGA juga 40% HI dan 50% HB pada GA.

Setelah dibandingkan dengan ligan *native* dapat terlihat bahwa mayoritas ligan tidak selalu berinteraksi dengan residu yang sama. Pengembangan senyawa derivatif baru dibutuhkan untuk memperoleh senyawa dengan aktivitas yang lebih baik sehingga dapat mengikat residu yang lebih banyak. Selain senyawa SCB13970547 dan Z00321025



yang memiliki *binding energy* lebih rendah daripada ligan *native* pada metode Vina, terdapat pula ZER11 dengan binding energy -9.9 kkal/mol. Bahkan ZER11 memiliki energi yang lebih rendah dibanding ligan *native* (-8.8 kkal/mol). Pada gambar 1 terdapat persamaan residu yang terlibat pada ZER11 dan ligan *native* yaitu TRP67 dan LYS191 pada HI. Ketika suatu senyawa atau ligan memiliki aktivitas interaksi residu yang sama dengan ligan *native* maka akan memiliki nilai binding energy yang semakin rendah pula sehingga semakin terikat kuat dengan protein target, dalam hal ini yaitu I15Q.

#### 4. SIMPULAN

Hasil skrining metode LGA, GA dan SA mayoritas senyawa memiliki *binding energy* yang lebih tinggi dibanding ligan *native*. Namun pada metode Vina, senyawa ZER11 dengan *binding energy* sebesar -9.9 kkal/mol hasilnya di atas nilai dari ligan *native* (-8.8 kkal/mol) dan keempat senyawa obat yang dipilih (Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547). Interaksi tersebut juga melibatkan dua residu yang sama yaitu TRP67 dan LYS191, sehingga dapat disimpulkan bahwa ZER11 diprediksi memiliki aktivitas sebagai antidiabetes melalui jalur fosforilase glikogen.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Baker DJ, Timmons JA, Greenhaff PL. 2005. Glycogen phosphorylase inhibition in type 2 diabetes therapy a systematic evaluation of metabolic and functional effect in rat skeletal muscle. *American Diabetes Association*. 54(8): 2453-2450.
- Dropinski JF, Meinke PT, Shi GQ, Zhang Y. 2010. Antidiabetic Oxazolidinediones and Thiazolidine-diones, *United States Patent*, No. US 7,807,692 B2. Oct. 5, 2010.
- Ekstrom JL, Thomas AP, Maynard DC, Walter CS, Jeff C, Dennis ED, Dennis JH, Judith LT, Michael G, Robert JF, Yasmina SND, David GM, Virginia LR. 2002. Structure-activity analysis of the purine binding site of human liver glycogen phosphorylase. *Chemistry & Biology*. 9(8): 915-924.
- Freeman S, Bartlett JB, Convey S, Hardern I, Teague JL, Loxham SJ, Allen JM, Poucher SM, Charles AD. 2006. Sensitivity of glycogen phosphorylase isoforms to indole site inhibitors is markedly dependent on the activation state of the enzyme, *British J. Pharmacology*. 149(6): 775-785.
- Graves AP, Brenk Ruth, Shoichet BK. 2005. Decoys for Docking. *J. Medicinal Chemistry*. 48(11): 3714-3728.
- Jacob RB, Tim A, Owen MM. 2012. Accessible high-throughput virtual screening molecular docking software for students and educators. *PLoS Computational Biology*. 8(1): 1-5.
- Kastritis PL, Bonvin AMJJ. 2012. On the binding affinity of macromolecular interactions: daring to ask why proteins interact. *Journal of the Royal Society*. 10(20120835): 1-27.
- Morris GM, Lim-Wilby M. 2008. Molecular docking. *Methods Mol Biol*. 443: 365-382.
- Norgan AP, Coffman PK, Kocher Jean-Pierre A, Katzmann DJ, Sosa CP. 2011. Multilevel parallelization of autodock 4.2. *J. Cheminformatics*. 3(12).
- Rath VL, Ammirati M, Danley DE, Ekstrom JL, Gibbs EM, Hynes TR, Mathiowetz AM, McPherson RK, Olson TV, Treadway JL, Hoover DJ. 2000. Human liver glycogen phosphorylase inhibitors bind at a new allosteric site. *Chemistry & Biology*. 7(9): 677-682.
- Sakika KA, Hanwar D, Suhendi A, Ika Trisharyanti IDK, Santoso B. 2014. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Emprit (*Zingiber Amaranthifolius* Bl) pada Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. *Prosiding Seminar Nasional "Perkembangan Terbaru Pemanfaatan Herbal Sebagai Agen Preventif Pada Terapi Kanker"*. Universitas Wahid Hasyim, Semarang, ISBN: 978-602-19556-1-1.
- Santoso B, Hanwar D, Suhendi A. 2015. Prediksi 3D-Molekular Aktivitas Turunan Senyawa Polihidroksi Zerumbon terhadap Glikogen Sintase Kinase-3 Beta (GSK-3 $\beta$ ) Menggunakan DOCK6, *Prosiding Seminar Nasional URECOL 2 Semarang*.