

STUDI *IN SILICO* SENYAWA DALAM TANAMAN CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) SEBAGAI KANDIDAT ANTIDIABETES TERTARGET PADA RESEPTOR PPAR γ

Rizka Salsabila¹, Yohana Vega Simarmata¹, Lambas Manuel Ignasius Simbolon¹,
Leandro Rejeki Sianturi¹, Kevin Gabriel¹, Agus Rusdin², Dhania Novitasari^{3*}

¹ Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

² Program Studi Doktor Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

³ Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia

Email: dhania@unpad.ac.id

Received:30-07-2024

Accepted:07-11-2024

Published:31-12-2024

INTISARI

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh multi-etologi yang dicirikan dengan tingginya kadar gula darah dan disfungsi fungsi insulin yang menyebabkan terganggunya metabolisme karbohidrat. *Peroxisome proliferator-activated receptor- γ* (PPAR γ) merupakan salah satu reseptor inti yang berperan dalam menurunkan kadar gula dalam darah dengan cara meningkatkan sensitivitas insulin dan metabolisme karbohidrat, lemak, serta mengatur homeostasis glukosa. Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) telah diketahui aktivitas farmakologinya untuk menurunkan gula darah berdasarkan uji *in vivo*, namun informasi terkait mekanisme molekulernya masih terbatas. Tujuan dari penelitian ini adalah mengevaluasi secara *in silico* senyawa bioaktif pada tanaman cengkeh yang berpotensi sebagai obat antidiabetes dengan menggunakan metode *Lipinski's rule of five*, prediksi profil *ADMET*, skrining farmakofor, serta penambatan molekuler pada protein target PPAR γ . Dari hasil analisis sepuluh senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman cengkeh yaitu eugenol, asam galat, kuersetin, kaempferol, β -kariofilen, eugenitin, mirisetin, asam katekolat, stigmasterol, dan asam oleanolat; senyawa kaempferol memiliki potensi terbaik sebagai agonis reseptor PPAR γ dengan hasil interaksi diperoleh nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi secara berturut-turut yaitu -4,68 kkal/mol dan 369,30 μ M. Hasil penelitian ini perlu dikonfirmasi melalui serangkaian uji *in vitro* untuk membuktikan potensi dari cengkeh sebagai kandidat antidiabetes tertarget pada PPAR γ .

Kata kunci: Cengkeh, Diabetes melitus, Kaempferol, PPAR γ

ABSTRACT

*Diabetes mellitus is a disease caused by multiple etiologies characterized by high blood sugar levels and accompanied by dysfunction in carbohydrate, lipid, and protein metabolism due to insulin insufficiency. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) is nuclear receptor that plays a role in lowering blood sugar levels by increasing insulin sensitivity through carbohydrate and lipid metabolism, also regulating glucose homeostasis. Clove (*Syzygium aromaticum* L.) has the potential to reduce blood sugar level based on *in vivo* tests, but the molecular mechanism is still unknown. This study aims to evaluate the bioactive compounds in clove that have potential as antidiabetic drugs using *in silico* studies through several analyses: Lipinski's rule of five and ADMET prediction, followed by pharmacophore screening and molecular docking against PPAR γ . Our results from ten bioactive compounds found in clove (eugenol, gallic acid, quercetin, kaempferol, β -caryophyllene,*

eugenitin, myricetin, crategolic acid, stigmasterol, and oleanolic acid), kaempferol exhibited the best potential as a PPAR γ receptor agonist, with binding affinity and inhibition constant values of -4.68 kcal/mol and 369.30 μ M. Still, it is needed to confirm those activities through a series of in vitro tests to prove the potential of cloves as an antidiabetic candidate targeting PPAR γ .

Keywords: Clove, Diabetes melitus, Kaempferol, PPAR γ

*Corresponding author:

Nama : Dhanita Novitasari
Institusi : Universitas Padjadjaran
Alamat institusi : Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21 Jatinangor
E-mail : dhanita@unpad.ac.id

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh multi-etologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah dan disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein akibat adanya insufisiensi fungsi insulin (WHO, 2024). Penyakit ini secara umum dibedakan menjadi 2 tipe: diabetes melitus tipe 1 atau *insulin dependent diabetes mellitus* ditandai oleh ketidakmampuan sel-sel β -pankreas menghasilkan insulin karena kerusakan yang umumnya disebabkan penyakit autoimun atau genetik; dan DM tipe 2 atau *non-insulin dependent diabetes mellitus* yang disebabkan penurunan sensitivitas terhadap insulin karena gaya hidup tidak sehat seperti obesitas (Damayanti, 2015; Care, 2018). Kurangnya sensitivitas terhadap insulin juga dapat menyebabkan beberapa penyakit lainnya seperti hipertensi, tumor, dan masalah pada hati (*non-alcoholic fatty liver disease/NAFLD*) (Zhao dkk., 2023). *International Diabetes Federation* menyebutkan bahwa prevalensi diabetes pada usia antara 20-79 tahun di Indonesia adalah 10,6%, yang artinya 1 dari 9 orang adalah penyandang diabetes (Kemenkes, 2022). Jenis diabetes yang paling banyak terjadi adalah diabetes melitus tipe 2, hingga mencapai 90-95% kasus. Hal ini disebabkan diabetes melitus tipe 2 dipicu oleh gaya hidup dan pola makan sehari-hari (Wijayanti dkk., 2020).

Peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR γ) merupakan salah satu reseptor inti yang berperan dalam menurunkan kadar gula dalam darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin dan metabolisme karbohidrat, lemak, serta mengatur homeostasis glukosa (Irudarayaj dkk., 2016). Reseptor tersebut sudah digunakan sebagai target obat dalam terapi diabetes melitus tipe 2, yaitu golongan *thiazolidinedione* yang akan terikat dengan PPAR γ sebagai agonis sehingga memicu rangsangan insulin oleh reseptor *glucose transporter 4* (GLUT4) dan sintesis glikogen akan meningkat, kemudian menyebabkan peningkatan sinyal dan sensitivitas insulin (Nursanti dkk., 2023). Salah satu obat antidiabetes oral golongan *thiazolidinedione* adalah pioglitazone, yaitu suatu agonis PPAR γ yang bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan lemak, perifer, dan hepar dengan menurunkan glukoneogenesis serta meningkatkan oksidasi dan *uptake* glukosa di otot (Leander dan Tahapary, 2020).

Selain menggunakan terapi obat seperti pioglitazon, terdapat beberapa tanaman obat yang dapat digunakan untuk terapi tambahan dalam penanganan DM, salah satunya adalah cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). Tanaman tersebut memiliki kandungan senyawa yang dapat memberikan efek yang baik bagi kesehatan seperti eugenol, asam galat, kuersetin, kaempferol, β -kariofilen, eugenitin, mirisetin, asam krategolat, stigmasterol, dan asam oleanolat (Batiha dkk., 2020). Aktivitas antidiabetes dari genus *Syzygium* telah dirangkum oleh Zulcafli dkk. (2020), yang menunjukkan bahwa herba-herba tersebut terbukti memiliki efek terkait dengan antidiabetes dengan berbagai mekanisme. Penelitian terdahulu menyebutkan bahwa ekstrak daun cengkeh pada dosis 300 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah (KGD) sebesar 73,06% pada tikus uji (Surbakti dkk., 2022). Studi *in vitro* dari Adefegha dkk. (2012) pada ekstrak polifenol *S. aromaticum* menghambat aktivitas α -glukosidase lebih baik daripada α -amilase, serta menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. Minyak esensial *S. aromaticum* diketahui memiliki efek inhibisi pada α -amilase yang diduga diperantarai oleh adanya senyawa mimetik insulin (Tahir dkk., 2015). Studi dengan hewan uji menunjukkan aktivitas optimum cengkeh dalam bentuk minyak esensial *S. aromaticum* dosis 20

mg/kg BB menurunkan aktivitas aldose reduktase pada tikus Sprague Dawley diabetes yang diinduksi streptozotocin (Irahal dkk., 2022), serta pemberian secara oral untuk ekstrak *S. aromaticum* dengan dosis 0,5 g / 100g diet selama tiga minggu menunjukkan penurunan kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kontrol positif pioglitazone (Kuroda dkk., 2012).

Berdasarkan penjelasan di atas, tanaman cengkeh memiliki potensi untuk dikembangkan lebih lanjut untuk terapi diabetes tipe 2, namun belum ada studi yang mengevaluasi aktivitas herba tersebut pada target PPAR γ . Oleh karena itu, studi komputasi digunakan untuk memprediksi bagaimana senyawa bioaktif dari *S. aromaticum* berinteraksi secara molekuler dengan PPAR γ karena informasi yang didapatkan lebih cepat dengan informasi yang cukup valid. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi senyawa bioaktif yang terdapat dalam senyawa tanaman cengkeh yang memiliki potensi sebagai antidiabetes tertarget PPAR γ . Metode yang dilakukan pada studi ini adalah analisis berbasis komputasi seperti *drug likeness* senyawa berdasarkan *Lipinski rule of five* (RO5) dan profil ADMET, kemudian dilanjutkan pada skrining farmakofor serta *molecular docking* reseptor PPAR γ terhadap 10 senyawa uji yang terdapat pada cengkeh yaitu eugenol, asam galat, kuersetin, kaempferol, β -kariofilen, eugenitin, mirisetin, asam krategolat, stigmasterol, dan asam oleanolat. Secara *in silico*, keempat metode analisis tersebut merupakan metode yang baik dan memberikan data yang cepat dalam menemukan kandidat obat yang mempunyai potensi lebih lanjut untuk dikembangkan sebagai antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Prediksi *Lipinski's Rule of Five*

Lipinski's Rule of Five adalah parameter yang digunakan untuk melihat kemampuan permeabilitas senyawa untuk berdifusi secara pasif. Aturan ini digunakan untuk melihat apakah senyawa aktif dapat diadministrasikan secara oral. Pengamatan parameter *Lipinski's rule of five* dilakukan melalui situs *Mcule* (<https://mcule.com/apps/property-calculator/>) dengan menganalisis struktur 2D senyawa uji yaitu β -kariofilen, asam krategolat, eugenitin, eugenol, asam galat, kaempferol, mirisetin, asam oleanolat, kuersetin, dan stigmasterol. Parameter yang diamati berupa bobot molekul, nilai log P, jumlah ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen akseptor.

Penentuan ADMET

ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas) merupakan parameter yang digunakan untuk melihat profil farmakokinetik senyawa uji. Profil farmakokinetik ini dapat diketahui dengan menganalisis senyawa pada situs PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org>). Fitur prediksi pada situs ini meliputi *drug-likeness prediction*, *ADME prediction*, dan *toxicity prediction*. Struktur senyawa dimasukkan pada fitur situs, maka hasil prediksi ADMET dapat diamati dan analisis berdasarkan parameter absorpsi, distribusi, dan toksisitas.

Pemodelan Farmakofor

Model farmakofor dibuat menggunakan *Ligandscout* versi 4.4.5 untuk mendapat senyawa *hit* yang mempunyai gugus farmakofor sehingga dapat memberikan efek farmakologis. Senyawa aktif didapat dengan membuat *database* yang didapat dari (<https://dude.docking.org/targets>) berupa data senyawa aktif dan *decoy* dari PPAR γ (PDB ID: 2GTK). Adapun struktur kimia dari senyawa uji didapat dari *Pubchem* dengan mengunduh struktur dalam bentuk .sdf. Selanjutnya pada aplikasi *Ligandscout*, tipe *active* dan *decoy* diubah dalam mode *training*, sedangkan semua tipe senyawa uji diubah menjadi *test* dan disimpan dalam bentuk .ldb. File *database* aktif dalam bentuk .ldb kemudian dibuka dan diatur 1 tipe *training* untuk setiap *cluster*. Sepuluh model farmakofor yang diperoleh kemudian dipindahkan ke *screening perspective* dan dilakukan validasi untuk dapat membedakan antara senyawa *active* dan senyawa *decoy* melalui skrining terhadap *database* DUDE. Hasil skrining diurutkan berdasarkan nilai *fit score*, kurva *receiver operating characteristic* (ROC), dan nilai *area under the curve* (AUC).

Penambatan Molekuler

Protein target PPAR γ dengan ID 2GTK diunduh terlebih dahulu dari portal <https://www.rcsb.org/> dengan format .pdb. Ligan alami (*indole propionic acids*) dan protein target diproses berupa dehidrogenasi dan dipisahkan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio 2020*. Adapun resolusi reseptor PPAR γ sebesar 2,10 Å. Preparasi ligan uji dilakukan melalui program *AutoDock 4.2.7* dengan melakukan *charges* dengan *compute Gasteiger*, ditambah ikatan hidrogen,

kemudian diatur ikatan hidrogen *merge non-polar*. Lebih lanjut, *working folder* berisi *autogrid4.exe* dan *autodock4.exe* dibuat, serta reseptor dan ligan uji dalam format *pdbqt* hasil preparasi digunakan dalam tahapan validasi *docking*.

Validasi untuk menentukan posisi dan ukuran *grid* dilakukan melalui proses penambatan ulang ligan alami dan reseptor menggunakan *AutoDock 4.2.7*. dengan pengaturan nilai *Genetic Algorithm Lamarckian* sebesar 10 dan jarak 0,375. Ukuran dan posisi *grid box* diatur hingga didapatkan nilai *reference RMSD* yang bernilai $\leq 2 \text{ \AA}$. Pada penelitian ini, digunakan *grid box* ($X = 40, Y = 40, Z = 40$), *grid coordinate* ($X = 4,087, Y = 25,792, Z = 27,647$), dan jarak 0,375. Penambatan molekul ligan uji terhadap reseptor dimulai dengan melakukan pengaturan untuk mendefinisikan ligan dan reseptor dan disimpan sebagai file *gpf*. Selanjutnya, diatur nilai *Genetic Algorithm Lamarckian* sebesar 100. Proses penambatan molekul dilakukan menggunakan *command prompt* (CMD). Hasil dari perintah ini akan menunjukkan energi ikatan dan konstanta inhibisi yang dapat dianalisis dalam program yang sama. Aplikasi *BIOVIA Discovery Studio 2020* digunakan untuk mengamati visualisasi ikatan ligan dengan asam amino pada reseptor secara 2D dan 3D.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Studi berbasis komputasi merupakan salah satu pendekatan yang digunakan dalam pencarian senyawa obat baru yang dilakukan dengan menggunakan beberapa alat komputasi yang dapat memprediksi beberapa hal terkait senyawa uji, seperti interaksi senyawa uji dengan protein targetnya, sifat fisikokimia, hidrofobisitas dan lipofilisitas, kelarutan, serta farmakokinetik nya (Jindal dan Rhani, 2023). Selain itu, penelitian berbasis komputasi juga dapat digunakan untuk memprediksi afinitas pengikatan dan selektivitas kandidat obat terhadap reseptornya (Pokhrel dkk, 2021). Pada studi ini, tanaman yang dievaluasi adalah bagian bunga cengkeh dengan target reseptornya adalah PPAR γ . Dalam pencarian senyawa obat baru, perlu dilakukan evaluasi mengenai kemiripan senyawa uji dengan obat-obatan yang biasanya digunakan terhadap reseptor atau protein target.

Senyawa uji melewati proses pengujian *Lipinski's rule of five* dan prediksi ADMET, kemudian dilakukan penambatan molekuler masing-masing senyawa terhadap reseptor PPAR γ . Terdapat beberapa indikator yang digunakan dalam prediksi Lipinski, yaitu nilai log P, berat molekul, serta ikatan donor dan akseptor hidrogen. Seluruh senyawa uji pada tanaman cengkeh memenuhi kaidah Lipinski (Tabel I), yang artinya senyawa-senyawa tersebut dapat berdifusi secara pasif, dan cukup ideal untuk diformulasikan nantinya dalam sediaan oral.

Terdapat beberapa indikator yang perlu diperhatikan penentuan profil ADMET seperti %HIA dan Caco-2 sebagai indikator yang digunakan untuk mengetahui besar nilai absorpsi, %PPB dan BBB adalah indikator yang digunakan untuk mengetahui besar nilai distribusi senyawa uji pada tubuh, sementara mutagen dan karsinogen adalah indikator yang digunakan untuk mengetahui sifat toksisitas yang terdapat pada senyawa uji. Penentuan ADMET dilakukan melalui fitur PreADMET diperoleh hasil yang terdapat pada Tabel II. Pada indikator absorpsi, senyawa uji yang memiliki nilai %HIA dan Caco-2 paling baik adalah stigmasterol dengan nilai HIA sebesar 100% dan Caco-2 sebesar 52,34 nm/sec. Untuk indikator distribusi, senyawa uji yang memiliki nilai %PPB dan BBB yang paling tinggi adalah stigmasterol dengan nilai PPB sebesar 100% dan BBB sebesar 19,89. Selanjutnya, pada indikator toksisitas, terdapat tiga senyawa yang bersifat *non-mutagen* dan enam senyawa yang bersifat *non-karsinogen* terhadap mencit. Adapun tiga senyawa yang bersifat *non-mutagen* adalah asam katekolat, stigmasterol, dan asam oleanolat. Kemudian, senyawa yang bersifat *non-karsinogen* terhadap mencit adalah asam galat, kuersetin, kaempferol, *β -caryophyllene*, eugenitin, dan miricetin.

Tabel I. Hasil prediksi *Lipinski* dari senyawa metabolit sekunder *S. aromaticum*

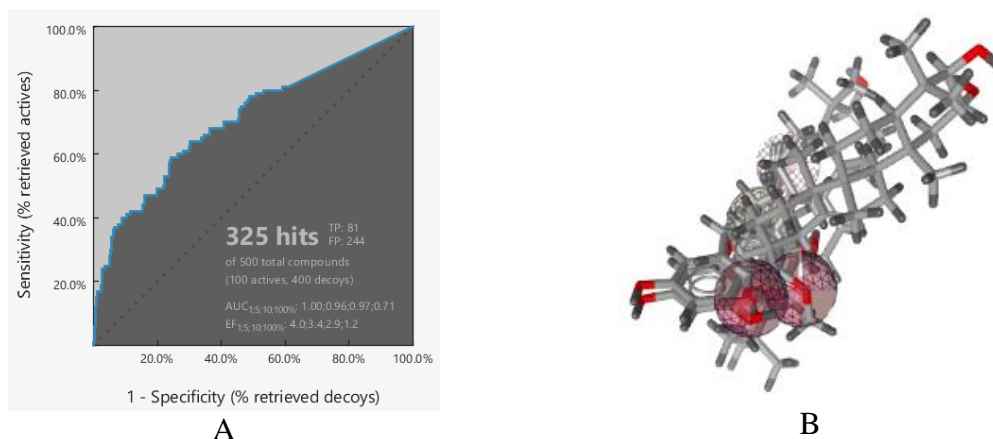
| Nama Senyawa | Berat Molekul (<500 Da) | Log P (<5) | Ikatan Hidrogen | | Keterangan |
|---------------------|-------------------------|------------|-----------------|----------------|------------|
| | | | Donor (<5) | Akseptor (<10) | |
| Eugenol | 164,20 | 2,13 | 1 | 2 | Memenuhi |
| Asam Galat | 170,12 | 0,50 | 4 | 5 | Memenuhi |
| Kuersetin | 302,23 | 1,99 | 5 | 7 | Memenuhi |
| Kaempferol | 286,23 | 2,28 | 4 | 6 | Memenuhi |
| β -kariofilen | 204,35 | 4,40 | 0 | 0 | Memenuhi |
| Eugenitin | 220,22 | 2,12 | 1 | 4 | Memenuhi |
| Mirisetin | 318,23 | 1,69 | 6 | 8 | Memenuhi |
| Asam Krategolat | 472,70 | 6,20 | 3 | 4 | Memenuhi |
| Stigmasterol | 412,69 | 7,80 | 1 | 1 | Memenuhi |
| Asam Oleanolat | 456,69 | 7,23 | 2 | 3 | Memenuhi |

Tabel II. Hasil penentuan ADMET

| Nama Senyawa | Absorpsi | | Distribusi | | Toksisitas | |
|---------------------|----------|-----------------|------------|-------|---------------|-----------------------|
| | HIA (%) | Caco-2 (nm/sec) | PPB (%) | BBB | Mutagen | Karsinogen |
| Eugenol | 96,78 | 46,89 | 100,00 | 2,26 | Mutagen | Mencit: + Tikus: + |
| Asam galat | 53,70 | 13,85 | 65,39 | 0,35 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| Kuersetin | 63,49 | 3,41 | 93,24 | 0,17 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| Kaempferol | 79,44 | 9,58 | 89,61 | 0,29 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| β -kariofilen | 100,00 | 23,63 | 100,00 | 13,32 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| Eugenitin | 94,71 | 19,39 | 80,47 | 0,66 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| Mirisetin | 40,97 | 0,99 | 96,78 | 0,11 | Mutagen | Mencit: - Tikus: + |
| Asam Krategolat | 94,28 | 21,28 | 100,00 | 2,70 | non - mutagen | Mencit: + Tikus: + |
| Stigmasterol | 100,00 | 52,34 | 100,00 | 19,89 | non - mutagen | Mencit: + Tikus: + |
| Asam Oleanolat | 95,99 | 21,89 | 100,00 | 7,88 | non - mutagen | Mencit: + Tikus: + |

Tahapan uji *in silico* selanjutnya adalah pemodelan dan skrining farmakofor yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang berinteraksi dengan protein target untuk pengembangan senyawa kedepannya seperti modifikasi struktur demi meningkatkan aktivitas biologisnya, serta mengetahui senyawa yang berinteraksi serupa dengan ligan alaminya.

Pada tahap ini, model farmakofor dari 10 senyawa uji divalidasi untuk menentukan apakah model tersebut mampu membedakan antara senyawa yang aktif dan tidak aktif (*decoy*). Suatu model dianggap baik jika nilai AUC dari kurva ROC lebih dari 0,7 (Hosmer, 2013). Proses validasi dilakukan menggunakan 100 senyawa *active* dan 400 senyawa *decoy*, dan hasil validasi farmakofor menunjukkan 1 model terbaik dengan nilai AUC 0,71 dan 325 *hits* (Gambar 1A). Lebih lanjut, dari 10 senyawa uji yang dianalisis, terdapat 5 senyawa *hits*, dengan *pharmacophore fit score* tertinggi yaitu 43,40 pada senyawa kaempferol (Tabel III). Hasil skrining menunjukkan adanya gugus fungsi yang bertindak sebagai akseptor ikatan hidrogen (lingkar merah), mengindikasikan adanya potensi interaksi molekuler antara senyawa-senyawa uji tersebut pada reseptor PPAR γ (Gambar 1B).



Gambar 1. (A) Model farmakofor terbaik hasil validasi model farmakofor, dan (B) Visualisasi hasil *overlapping* senyawa uji dari skrining farmakofor

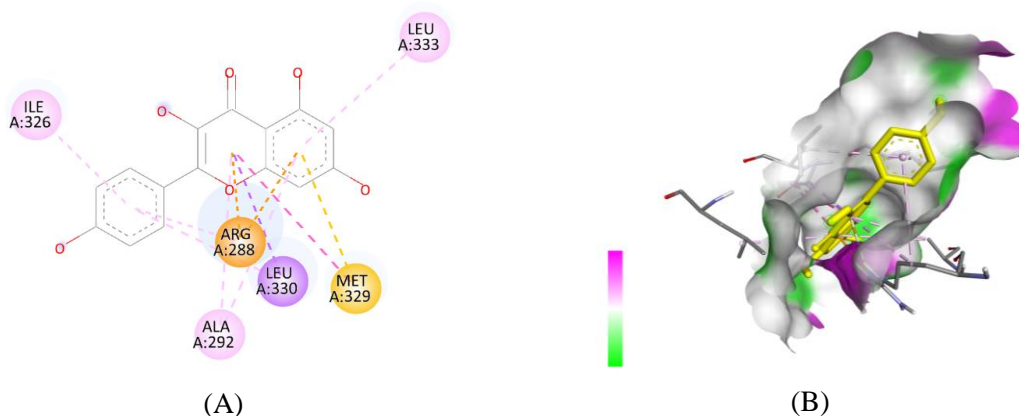
Tabel III. *Pharmacophore-fit score* dari skrining farmakofor senyawa bioaktif *S. aromaticum*

| Nama Senyawa | <i>Pharmacophore-Fit Score</i> |
|-----------------|--------------------------------|
| Kaempferol | 43,40 |
| Kuersetin | 43,33 |
| Asam Oleanolat | 37,20 |
| Asam Krategolat | 36,96 |
| Eugenol | 36,96 |

Proses *redocking* pada analisis simulasi penambatan molekul dilakukan dengan melihat parameter nilai RMSD (*root mean square deviation*), yakni nilai penyimpangan antara konformasi ligan alami dengan pembanding dari konformasi awalnya. Jika nilai RMSD ≤ 2 , maka hasil *redocking* tergolong bagus dan valid. Semakin besar nilai penyimpangan, maka semakin besar pula ketidaksesuaian pada prediksi interaksi ligan dan reseptor (Brooijmans, 2009). Hasil *redocking* antara ligan alami dan PPAR γ menunjukkan skor RMSD sebesar 1,97 Å yang berarti proses penambatan molekuler dikatakan valid dan dapat dilanjutkan untuk interaksi dengan senyawa uji. Analisis lain dilakukan dengan melihat parameter energi ikatan, konstanta inhibisi, dan interaksi dengan residu asam amino. Parameter energi ikatan berfungsi untuk melihat kestabilan kompleks yang terbentuk, sedangkan konstanta inhibisi bertujuan untuk melihat kemampuan inhibisi ligan pada target reseptor. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi, maka semakin kecil konsentrasi ligan yang diperlukan untuk dapat menghambat aktivitas reseptor. Ikatan hidrogen berkontribusi pada afinitas

molekul terhadap protein target, sehingga terbentuk interaksi elektrostatis (donor dan akseptor hidrogen) (Murray, 2003).

Simulasi penambatan molekuler dengan Autodock menunjukkan skor energi ikatan yang bervariasi. Adanya hasil energi ikatan pada asam katekolat, stigmasterol, dan asam oleanolat yang bernilai positif menandakan bahwa senyawa uji memiliki afinitas yang lemah atau bahkan tidak memiliki afinitas sama sekali terhadap protein target (Setyawati dkk., 2022). Analisis penambatan molekuler menunjukkan bahwa kaempferol memiliki nilai energi ikatan terkecil yaitu $-4,68$ kkal/mol dengan K_i sebesar $369,30$ μ M (Tabel IV). Pada analisis ikatan dengan residu asam amino, kaempferol memiliki interaksi π -alkil dengan residu ALA292, π -kation pada ARG288, π -sigma pada LEU330, dan π -amida terhadap residu ILE326 dan LEU333 (Gambar 2A dan 2B). Interaksi ini cukup identik dengan yang terjadi pada senyawa alami yang merupakan gugus indol dengan interaksi alkil dan π -alkil pada ARG288, ALA292, dan MET329, serta interaksi alkil pada asam amino LEU333. Studi dari Kroker dan Bruning (2015) mengidentifikasi residu asam amino ARG288 yang cukup krusial bagi senyawa agonis parsial untuk menjaga stabilitas β -sheet dari PPAR γ . Lebih lanjut, interaksi hidrofobik lainnya seperti pada LEU333 dan ALA292 juga ditemukan pada senyawa-senyawa yang telah diketahui aksinya sebagai agonis parsial seperti golongan indol dan thiazolidine. Berdasarkan hasil ini, senyawa kaempferol yang terkandung pada *S. aromaticum* berpotensi untuk berikatan secara molekuler dengan PPAR γ sebagai agonis parsial.



Gambar 2. Visualisasi interaksi molekuler secara (A) 2-dimensi dan (B) 3-dimensi dari kaempferol pada protein PPAR γ (PDB ID: 2GTK) berdasarkan simulasi penambatan molekuler

Berdasarkan hasil dari seluruh parameter yang telah dilakukan mulai dari analisis *drug likeness* hingga simulasi penambatan molekuler, kaempferol memberikan hasil paling potensial jika dibandingkan dengan senyawa lain yang terkandung pada *S. aromaticum*. Satu catatan yang perlu diperhatikan adalah terkait hasil prediksi toksisitas dari kaempferol yang bersifat mutagen dan positif karsinogenik, namun studi toksisitas pada model hewan uji ikan zebra dan tikus menunjukkan tidak ada potensi toksik dari pemberian kaempferol pada administrasi oral (Kimoto dkk., 2022; Takanashi dkk., 1983) sehingga kaempferol masih memiliki peluang untuk pengembangan lebih lanjut sebagai agonis PPAR γ . Penelitian Ajish dkk. (2015) menyatakan kaempferol memiliki aktivitas antidiabetes dengan menghambat enzim α -glukosidase. Lebih lanjut, Surbakti dkk. (2022) membuktikan bahwa ekstrak cengkeh dapat memperbaiki struktur sel-sel pulau Langerhans pankreas pada tikus uji yang mengalami perubahan akibat nekrosis pasca induksi aloksan. Efek tersebut diduga diperantarai oleh adanya kandungan senyawa flavonoid yang ada pada ekstrak cengkeh. Penelitian lain juga menyatakan bahwa asam oleanolat yang diisolasi dari *S. aromaticum* dapat memperbaiki level enzim sintesis glikogen hati dan otot pada tikus yang diinduksi streptozotocin (Ngubane dkk., 2011), menurunkan kadar α -glukosidase, α -amilase, *glucose transporter-2* (GLUT2), dan menurunkan ekspresi *sodium-glucose linked transporter-1* (SGLT1) pada usus kecil dari tikus diabetes yang

diinduksi streptozotocin (Khathi dkk., 2013). Studi toksisitas akut dan subkronis ekstrak polifenol cengkeh tidak menunjukkan tanda-tanda toksik pada dosis hingga 1 g/kgBB (Vijayasteltar dkk., 2016). Uji toksisitas akut dan subkronis dari dekokta *S. aromaticum* secara oral menunjukkan nilai *half-lethal dose* (LD50) sebesar 2500 mg/kg, dengan pemberian 700 mg/kgBB dekokta pada tikus selama 90 hari menunjukkan pengaruh signifikan dari profil hematologi dan enzim hepar, sehingga penggunaan jangka panjang dari cengkeh harus diperhatikan agar meminimalkan efek samping yang mungkin muncul (Abgaje dkk., 2009). Secara umum, hasil studi komputasi ini turut menambah informasi saintifik terkait efek dari *S. aromaticum* sebagai kandidat antidiabetes, dan penelitian lanjutan terkait pengaruh kaempferol pada PPAR γ perlu dikonfirmasi melalui serangkaian kajian *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi hasil *in silico* dari studi ini.

Tabel IV. Hasil simulasi penambatan molekuler senyawa bioaktif dari *S. aromaticum* pada protein PPAR γ

| Nama Senyawa | Energi ikatan (kkal/mol) | Ki (μ M) | Interaksi dengan Asam Amino | | |
|------------------------------|--------------------------|---------------|-----------------------------|----------------------|--|
| | | | Ikatan Hidrogen | Ikatan Van der Waals | Ikatan Lainnya |
| <i>Indole Propionic Acid</i> | -1,78 | - | - | - | - Muatan atraktif: ARG288 - Ikatan hidrokarbon: ASP381; THR229 - π -kation: ARG288 - π -sigma: ILE236 - ikatan π - π : TYR327 - alkil: MET364; LYS367; LEU330; MET329; LYS230; ALA292 - π -alkil: LEU330; MET329 |
| Eugenol | -5,10 | 181,17 | - | - | - alkil: MET329; LEU330; ALA292 - π -alkil: ILE326; ILE296; PHE226 |
| Asam galat | -3,52 | 2,65 | ARG288 | - | - π -kation: ARG288 - π -alkil: MET329; ALA292 |
| Kuersetin | -3,15 | 4,94 | ARG288 | - | - Sulfur-X: MET364 - π -sigma: LEU330 - ikatan π - π : TYR327 - π -alkil: ILE326; LEU333; ALA292 |
| Kaempferol | -4,68 | 369,30 | - | - | - π -sigma: LEU330 - π -Sulfur: MET329 - π -amida: ILE326; LEU333 - π -alkil: ALA292 |

Lanjutan Tabel IV...

| Nama Senyawa | Energi ikatan (kkal/mol) | Ki (μ M) | Interaksi dengan Asam Amino | | Ikatan Lainnya |
|---------------------|--------------------------|---------------|-----------------------------|----------------------|---|
| | | | Ikatan Hidrogen | Ikatan Van der Waals | |
| β -kariofilen | -6,64 | 13,47 | - | - | - alkil: LEU333; LEU228; ILE326 - π -alkil: MET329; ALA292; PHE226 |
| Eugenitin | -5,49 | 94,54 | - | - | - π -kation: ARG288 - π -sigma: ALA292; LEU330 - π -Sulfur: MET329 - alkil: ILE296 - π -alkil: ILE326 |
| Mirisetin | -0,20 | 715,67 | ARG288 | - | - π -kation: GLU295 - π -sigma: ILE326 - π -amida: MET329 - π -alkil: LEU333 ALA292 LEU330 |
| Asam kratogolat | +138,66 | - | ASP381; LEU228 | - | - <i>Unfavorable Bump</i> : SER332; LEU383; LYS230; MET329; ARG288; ILE326; ALA292 - alkil: LEU330 - π -alkil: LEU384; TYR222; TYR327 |
| Stigmasterol | +2,95 | - | - | - | - alkil: HIS323; LEU228; HIS449; LEU330 - π -alkil: MET329; ALA292 - <i>Unfavorable Bump</i> : LEU338; ARG288; SER289 ILE326; TYR327 |
| Asam Oleanolat | +84,91 | - | - | - | - alkil: ALA292; TYR222; PHE226 - π -alkil: TYR327 - <i>Unfavorable Bump</i> : LEU333; LEU330; SER289; ILE326; ARG288; MET329 |

KESIMPULAN

Temuan studi *in silico* tanaman cengkeh terhadap PPAR γ menunjukkan bahwa senyawa kaempferol memiliki potensi terbaik sebagai agonis protein PPAR γ berdasarkan hasil skrining gugus farmakofor dengan *pharmacophore-fit score* tertinggi, serta interaksi diperoleh nilai ikatan energi dan konstanta inhibisi secara berturut-turut yaitu -4,68 kkal/mol dan 369,30 μ M.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran untuk fasilitas dan sarana yang digunakan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbaje, E.O., Adeneye, A.A. and Daramola, A.O., (2009) 'Biochemical and toxicological studies of aqueous extract of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) in rodents'. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(3).
- Adefegha, S.A. and Oboh, G. (2012) 'In vitro inhibition activity of polyphenol-rich extracts from *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Clove) buds against carbohydrate hydrolyzing enzymes linked to type 2 diabetes and Fe²⁺-induced lipid peroxidation in rat pancreas'. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(10), pp.774-781.
- Ajish, K.R., Antu, K.A., Riya, M.P., Preetharani, M.R., Raghu, K.G., Dhanya, B.P., and Radhakrishnan, K.V, (2015) 'Studies on α -glucosidase, aldose reductase and glycation inhibitory properties of sesquiterpenes and flavonoids of *Zingiber zerumbet* Smith', *Natural Product Research*, 29(10), pp. 947–952. doi: 10.1080/14786419.2014.956741.
- Alrashdi, Y.B.A., dan Hossain, M.A, (2023) 'Review on Phytochemicals and Pharmacological Activities of *Syzygium aromaticum*', *Infection Epidemiology and Microbiology*, 9(1), 87-97.
- Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezech, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I., & Aja, P. M., (2023) 'Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management', *Scientific reports*, 13(1), 13398.
- Batiha, G. E., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K., (2020) '*Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional Uses, Bioactive Chemical Constituents, Pharmacological and Toxicological Activities', *Biomolecules*, 10(2), 1-16.
- Brooijmans, N, (2009) '*Structural Bioinformatics; Chapter: Docking Methods, Ligand Design, And Validating Data Sets in The Structural Genomics Era*', John Wiley & Sons, Inc, New Jersey.
- Care, D., (2018) 'Medical Care in Diabetes 2018', *Diabetes Care*, 41, p.S73.
- Castro-Alvarez, A., Costa, A. M., & Vilarrasa, J. (2017) 'The Performance of Several Docking Programs at Reproducing Protein-Macrolide-Like Crystal Structures', *Molecules*, 22(1), 136.
- Damayanti, S., (2015) '*Diabetes Melitus dan Penatalaksanaan Keperawatan*', Nuha Medika, Yogyakarta.
- Feinberg, E.N., Joshi, E., Pande, V.S., Cheng, A.C (2020) 'Improvement in ADMET Prediction with Multitask Deep Featurization', *J. Med. Chem*, 63(16), 8835-8848.
- Hosmer, D.W., Lemeshow, S., and Sturdivant, R.X. (2013) '*Applied Logistic Regression, 3rd Edition*'. John Wiley & Sons, USA.
- Irahal, I. N., Guenaou, I., Lahlou, F. A., Hmimid, F., & Bourhim, N. (2022) '*Syzygium aromaticum* bud (clove) essential oil is a novel and safe aldose reductase inhibitor: in silico, in vitro, and in vivo evidence'. *Hormones*, 21(2), 229–240. <https://doi.org/10.1007/s42000-021-00347-6>
- Irudayaraj, S.S., Stalin, A., Sunil, C., Duraipandiyan, V., Al-Dhabi, N.A., dan Ignacimuthu, S. (2016) 'Antioxidant, antilipidemic, and antidiabetic effects of ficusin with their effects on GLUT4 translocation and PPAR γ expression in type 2 diabetic rats', *Chemistry Biology Interaction*, 256, 85-93.
- Jindal, D., & Rani, V (2023) 'In Silico Studies of Phytoconstituents from *Piper longum* and *Ocimum sanctum* as ACE2 and TMRSS2 Inhibitors: Strategies to Combat COVID-19'. *Applied biochemistry and biotechnology*, 195(4), 2618–2635.
- Kemenkes (2022) 'Diabetes Melitus Adalah Masalah Kita', diperoleh melalui situs internet: https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/1131/diabetes-melitus-adalah-masalah-kita. [Diakses 3 Juni 2024].
- Khathi, A., Serumula, M.R., Myburg, R.B., Van Heerden, F.R. and Musabayane, C.T. (2013) 'Effects of *Syzygium aromaticum*-derived triterpenes on postprandial blood glucose in streptozotocin-induced diabetic rats following carbohydrate challenge'. *PLoS one*, 8(11), p.e81632.
- Kuroda, M., Mimaki, Y., Ohtomo, T., Yamada, J., Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H. and Kawada, T., (2012) 'Hypoglycemic effects of clove (*Syzygium aromaticum* flower buds) on genetically diabetic KK-A y mice and identification of the active ingredients'. *Journal of natural medicines*, 66, pp.394-399.
- Leander, D.J., dan Tahapary, D.L. (2020) 'The Selection of Oral Antidiabetic Drugs in Type 2 Diabetes Mellitus Patients with High Risk for Cardiovascular Events', *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 7(4), 240-248.
- Murray, R. K., (2003) '*Harpers Biochemistry*', Prentice Hall International INC, USA.

- Ngubane, P.S., Masola, B. and Musabayane, C.T. (2011) 'The effects of *Syzygium aromaticum*-derived oleanolic acid on glycogenic enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats'. *Renal Failure*, 33(4), pp.434-439.
- Nursanti, O., Liandra, D., Hadisoebroto, G., dan Deswati, D.A. (2022) 'Molekuler Docking terhadap Reseptor Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma (PPAR γ) sebagai Antidiabetes', *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(1), 315-324.
- Pokhrel, S., Bouback, T. A., Samad, A., Nur, S. M., Alam, R., Abdullah-Al-Mamun, M., Nain, Z., Imon, R. R., Talukder, M. E. K., Tareq, M. M. I., Hossen, M. S., Karpiński, T. M., Ahammad, F., Qadri, I., & Rahman, M. S. (2021) 'Spike protein recognizer receptor ACE2 targeted identification of potential natural antiviral drug candidates against SARS-CoV-2', *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 1114–1125.
- Setyawati, N. K. A. A., Martadi, I. W., dan Yustiantara, P. S. (2022) 'Molecular Docking Senyawa α -mangostin sebagai Antiinflamasi secara in Silico', *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*, 4(2), 41-49.
- Surbakti, C., Ginting, P.A.B., Abadi, H., dan Duha, Y (2022) 'Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Tikus Putih Jantan dan Gambaran Histologi Pankreas', *Jurnal Farmasi Indonesia*, 19(1), 161-168.
- Tahir, H.U., Sarfraz, R.A., Ashraf, A., dan Adil, S (2015) 'Chemical Composition and Antidiabetic Activity of Essential Oils Obtained from Two Spices (*Syzygium aromaticum* and *Cuminum cyminum*)', *International Journal of Food Properties*, 19 (10), 2156–2164.
- Vijayasteltar, L., Nair, G.G., Maliakel, B., Kuttan, R. and Krishnakumar, I.M. (2016) 'Safety assessment of a standardized polyphenolic extract of clove buds: Subchronic toxicity and mutagenicity studies'. *Toxicology reports*, 3, pp.439-449.
- WHO, (2024) Diabetes, diperoleh melalui situs internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. [Diakses 3 Juni 2024].
- Wijayanti, S.P.M., Nurbaiti, T.T., dan Maqfiroch, A.F.A. (2020) 'Analisis Faktor Risiko Kejadian Diabetes Mellitus Tipe II di Wilayah Pedesaan', *Jurnal Promosi Kesehatan Indonesia*, 15(1), 16.
- Wulandari, R.P., Gabriel, K., Nurdin, H.A., Pakhrul, D.H.F., Harits, S.S., Prameswari, N., Pribadi, A.P.A., dan Aulifa, D.L. (2023) 'In Silico Study of Secondary Metabolite Compounds in Parsley (*Petroselinum crispum*) as a Drug Therapy for Blood Cancer (Myeloproliferative Neoplasm (MPN)) targeting JAK-2', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 12(2).
- Zhao, X., A. X., Yang, C., Sun, W., Ji, F., Lian, F. (2023) 'The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease', *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1-14.
- Zulcafli, A. S., Lim, C., Ling, A. P., Chye, S., & Koh, R. (2020) 'Antidiabetic Potential of *Syzygium* sp.: An Overview'. *The Yale journal of biology and medicine*, 93(2), 307–325.