

STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF *Arthrospira platensis* TERHADAP AMPK DAN PTP1B UNTUK TERAPI DIABETES MELLITUS TIPE 2

In Silico Study of Bioactive Compounds from Arthrospira platensis on AMPK and PTP1B for Type 2 Diabetes Mellitus Therapy

Areta Ratih Prameshwari, Jaya Mahar Maligan, S.TP., M.P., Prof. Dr. Ir. Yunianta, DEA

Departemen Ilmu Pangan dan Bioteknologi, Fakultas Teknologi Pertanian,
Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi senyawa bioaktif *Arthrospira platensis* sebagai kandidat terapi diabetes mellitus tipe 2 melalui pendekatan *in silico* terhadap protein AMPK dan PTP1B. Ekstraksi senyawa bioaktif dilakukan dengan metode LC-HRMS, mengidentifikasi 36 senyawa. Prediksi bioavailabilitas, farmakokinetika, dan toksisitas dilakukan untuk menyaring senyawa potensial. Penambatan molekuler dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx 1.1 dan simulasi dinamika molekuler menggunakan perangkat lunak YASARA menunjukkan L-Phenylalanine memiliki stabilitas ikatan yang baik dengan AMPK dan PTP1B. Hasil menunjukkan senyawa bioaktif *A. platensis*, khususnya L-Phenylalanine berpotensi sebagai aktivator AMPK dan inhibitor PTP1B, mendukung pengembangan terapi DMT2. Penelitian lanjutan *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk validasi lebih lanjut.

Kata kunci: AMPK, *Arthrospira platensis*, Dinamika Molekuler, *In Silico*, Diabetes Mellitus Tipe 2, Penambatan Molekuler, PTP1B

ABSTRACT

This study aims to evaluate the potential of bioactive compounds from Arthrospira platensis as candidates for type 2 diabetes mellitus therapy through an in silico approach targeting AMPK and PTP1B proteins. Bioactive compound extraction was performed using the LC-HRMS method, identifying 36 compounds. Predictions of bioavailability, pharmacokinetics, and toxicity were conducted to screen potential compounds. Molecular docking using PyRx 1.1 software and molecular dynamics simulation using YASARA software showed that L-Phenylalanine exhibits good binding stability with AMPK and PTP1B. The results indicate that A. platensis bioactive compounds, especially L-Phenylalanine have potential as AMPK activators and PTP1B inhibitors, supporting the development of DMT2 therapy. Further in vitro and in vivo studies are needed for validation.

Keywords: AMPK, *Arthrospira platensis*, *In Silico*, Molecular Docking, Molecular Dynamics, PTP1B, Type 2 Diabetes Mellitus

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) merupakan gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia akibat resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin oleh sel- β pankreas (Hirano, 2018). Menurut data *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2024, sekitar 589 juta orang di dunia menderita diabetes dengan DMT2 menyumbang sekitar 90% kasus yang diproyeksikan akan terus meningkat. Oleh karena itu, pengembangan terapi yang efektif dan aman untuk DMT2 menjadi prioritas dalam penelitian kesehatan.

Pengobatan DMT2 saat ini meliputi modifikasi gaya hidup, obat oral seperti metformin dan glibenclamide. Namun, penggunaan obat-obatan sintesis sering kali menyebabkan efek samping seperti gangguan gastrointestinal, risiko hipoglikemia, atau toksisitas hati. Hal ini mendorong penelitian untuk mencari alternatif terapi berbasis senyawa bioaktif alami yang memiliki efektivitas tinggi dengan efek samping minimal. Salah satu sumber senyawa bioaktif yang potensial adalah mikroalga *Arthrospira platensis* yang kaya akan pigmen, vitamin, mineral, polifenol, dan asam amino esensial. Senyawa-senyawa ini telah terbukti memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi yang berpotensi untuk pengobatan DMT2 (Citi *et al.*, 2024).

Dalam memaksimalkan pemanfaatan potensi senyawa bioaktif tersebut, penting untuk memahami interaksinya dengan protein target kunci dalam patogenesis DMT2, seperti Adenosine Monophosphate-activated Protein Kinase (AMPK) dan Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B). AMPK berperan sebagai regulator homeostatis energi. Aktivasi AMPK dapat meningkatkan sensitivitas insulin, mengurangi glukoneogenesis di hati dan meningkatkan oksidasi asam lemak, sehingga membantu mengontrol kadar gula darah (Moon, 2024). Sebaliknya, PTP1B bertindak sebagai regulator negatif jalur sinyal insulin dengan mendefosforilasi reseptor insulin, yang

menyebabkan resistensi insulin. Inhibisi PTP1B dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan metabolisme glukosa (Kołodziej-Sobczak *et al.*, 2024). Penelitian sebelumnya oleh Hu *et al.* (2019) menunjukkan bahwa ekstrak *A. platensis* dengan air sebagai pelarut memiliki aktivitas antidiabetes, namun kajian *in silico* terhadap interaksi senyawa-senyawa ini dengan protein AMPK dan PTP1B masih terbatas.

Pendekatan *in silico*, seperti penambatan molekuler dan simulasi dinamika molekuler, memanfaatkan teknologi komputasi untuk mensimulasikan interaksi molekuler antara senyawa dan protein target secara virtual. Penambatan molekuler memungkinkan prediksi afinitas ikatan dan konformasi optimal antara ligan dan reseptor, kemudian simulasi dinamika molekuler menganalisis stabilitas kompleks protein-ligan dalam kondisi fisiologis. Selain itu, *in silico* juga memprediksi bioavailabilitas, farmakokinetika, dan toksisitas senyawa, sehingga mengurangi biaya, waktu, dan penggunaan hewan uji dibandingkan metode eksperimental tradisional seperti *in vitro* dan *in vivo*. Dengan kemampuan ini, pendekatan *in silico* menjadi metode strategis dalam pengembangan obat berbasis senyawa alami dari *A. platensis* untuk DMT2.

Berdasarkan permasalahan tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa bioaktif dari *A. platensis* sebagai kandidat terapi DMT2 melalui pendekatan *in silico*. Penelitian ini akan mengevaluasi bioavailabilitas, farmakokinetika, toksisitas, serta kemampuan senyawa bioaktif untuk berinteraksi dengan protein target AMPK dan PTP1B. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan ilmiah untuk pengembangan terapi DMT2 berbasis senyawa alami dari *A. platensis* yang lebih aman dan efektif.

METODE PENELITIAN

Alat

Perangkat keras yang digunakan pada penelitian ini adalah Laptop Acer Aspire Lite

AL14-51M dengan prosesor Intel® i3-1215U @4.4 GHz (6 cores), RAM 8 GB dengan operasi Windows 11 Home 64 bit. Adapun perangkat lunak yang digunakan untuk analisis *in silico* antara lain BIOVIA Discovery Studio 2024, PyRx 1.1, PyMol, YASARA, serta beberapa webserver seperti PubChem, RSCB PDB, pkCSM, Protox 3.0, PASS Online Way2Drug, DockRMSD Zhang Lab, SCFBio, SAVES 6.0 dan PDBsum. Alat yang digunakan untuk ekstraksi sampel yaitu tabung reaksi, spatula, dan vacuum rotary evaporator. Alat yang digunakan untuk identifikasi menggunakan LC-HRMS meliputi Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC Binary Pump, Thermo Scientific™ Accucore™ Phenyl-Hexyl Column (100 mm x 2,1 mm ID × 2,6 μm), Thermo Scientific™ Q Exactive™ Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ High Resolution Mass Spectrometer dan XCalibur 4.4 software.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sampel *A. platensis*, aquades Hydrobatt, kertas saring Whatman, MS-grade water dengan 0,1% asam format Fisher Scientific, MS-grade metanol dengan 0,1% asam format Fisher Scientific, Nitrogen Ultra-high purity, dan pelarut Pierce ESI Ion Calibration Thermo Scientific. Selain itu, untuk pelaksanaan analisis *in silico*, dikumpulkan kode SMILES dan struktur 3D dari senyawa bioaktif *A. platensis*, kode SMILES dan struktur 3D dari metformin sebagai ligan positif dari AMPK, kode SMILES dan struktur 3D dari lithocholic acid sebagai ligan positif dari PTP1B, dan struktur 3D dari AMPK dan PTP1B.

Metode

Penelitian ini dilaksanakan dengan melakukan ekstraksi senyawa bioaktif *A. platensis*, analisis kualitas protein, pengumpulan bahan, prediksi bioavailabilitas, prediksi farmakokinetika, prediksi toksisitas, preparasi protein target dan ligan, kemudian

penambahan molekuler. Setelah penambahan molekuler berhasil dilakukan, dilakukan analisis pada hasil interaksi antara protein-ligan yang kemudian dilanjutkan untuk simulasi dinamika molekuler.

1. Ekstraksi Senyawa Bioaktif *A. platensis*

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan menggunakan aquades sebagai pelarut. Dilakukan *thawing* pada 1 gram sampel *A. platensis* kemudian ditambahkan pelarut aquades dengan rasio 1:10 b/v, yaitu sebanyak 10 mL. Lalu campuran tersebut diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 jam pada suhu ruang dengan kecepatan 300 rpm. Hasil maserasi tersebut kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diperoleh larutan hasil ekstrak. Hasil ekstrak tersebut lalu dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* dengan kecepatan 300 rpm pada suhu 75. Tujuan dari evaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* adalah untuk menghilangkan pelarut, dalam hal ini adalah aquades, secara efisien tanpa merusak senyawa bioaktif sehingga diperoleh ekstrak yang lebih pekat dan siap untuk dianalisis lanjutan. Ekstrak hasil evaporasi tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan LC-HRMS sehingga teridentifikasi senyawa bioaktif yang terdapat pada *A. platensis*.

2. Prediksi Bioavailabilitas

Prediksi bioavailabilitas dilakukan dengan menginput kode SMILES dari senyawa bioaktif pada laman pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction>). Parameter yang digunakan dalam prediksi bioavailabilitas yaitu berat molekul, nilai LogP (lipofilitas), akseptor hidrogen, dan donor hidrogen.

3. Prediksi Farmakokinetika

Prediksi farmakokinetika dilakukan dengan menginput kode *canonical* SMILES dari senyawa uji pada laman pkCSM

(<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsbm/prediction>) dengan melihat parameter Caco-2 cell dan Human Intestinal Adsorption (HIA%) untuk adsorpsi, VDss untuk distribusi, bukan inhibitor dari CYP3A4 untuk metabolisme, serta Total Clearance untuk ekskresi.

4. Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menginput kode SMILES dari senyawa uji pada laman pkCSM (<https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsbm/prediction>) dengan melihat parameter AMES Toxicity dan Maximum Tolerated Dose (MTD). Prediksi toksisitas juga dilakukan dengan memasukkan kode SMILES senyawa uji pada Protox-III (<https://tox.charite.de/protox3/>) dengan melihat parameter LD50, kelas toksisitas, hepatoksisitas, karsinogenisitas, imunotoksisitas, mutagenisitas, dan sitotoksisitas.

5. Prediksi Aktivitas Biologis

Prediksi aktivitas biologis dilakukan dengan menginput kode SMILES pada PASS online Way2Drug (<https://www.way2drug.com/passonline/predict.php>) kemudian parameter yang dilihat yaitu nilai Pa lebih dari 0,7 untuk aktivitas biologis insulin promoter dan phosphatase inhibitor.

6. Preparasi Protein Target

Struktur 3D dari masing-masing protein diunduh dalam format SDF dari webserver RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Struktur 3D tersebut kemudian diunggah pada BIOVIA Discovery Studio 2024 untuk kemudian dihilangkan ligan asli dan molekul airnya. Jika sudah dihilangkan, maka protein tersebut selanjutnya disimpan dalam format Protein Data Bank Files (.pdb).

7. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler dilakukan menggunakan PyRx. Seluruh ligan, baik ligan uji dan ligan kontrol, serta protein target diunggah pada PyRx. Untuk penambatan molekuler metode *specific-site docking*, dipilih *Autodock* kemudian diatur *grid box* pada makromolekul yang digunakan untuk menunjukkan situs spesifik pengikatan dari protein target. *Grid box* diperoleh melalui validasi penambatan molekuler. Setelah pengaturan *grid box*, lalu *Run* dan diketahui data energi afinitas ikatan dari protein target dengan masing-masing ligan.

8. Simulasi Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak YASARA. Untuk melaksanakan simulasi dinamika molekuler menggunakan perangkat lunak YASARA, diperlukan kompleks protein-ligan hasil penambatan molekuler yang akan dianalisis. Kemudian dibuat folder baru pada Videos dan diberi nama sesuai dengan nama sampel. Lalu 5 parameter yang terdapat pada folder mcr dalam yasara, meliputi *md_analyze*, *md_analyzers*, *md_play*, *md_run*, dan *md_runfast* disalin pada folder baru tersebut. *File .pdb* sampel yang akan dianalisis juga disalin pada folder baru tersebut. Dibuka *md_run* yang ada pada folder, lalu diatur variabel kondisi simulasi meliputi suhu 310 K, durasi simulasi 20.000 ps (20 ns), forcefield AMBER14, Cutoff 8 dan penyimpanan snapshot setiap 25 ps. Kemudian pada *software* YASARA, dipilih menu “Options” dan opsi “Macro & Movie” lalu pilih “Apply macro to...”. Dipilih parameter *md_run.mcr* lalu dipilih opsi “Apply macro to targets” dan dipilih *file* sampel yang akan dianalisis. Setelah simulasi selesai berjalan, analisis parameter-parameter yang diperlukan dilakukan menggunakan parameter YASARA yang berbeda. Analisis RMSD,

SASA dan Rg dilakukan dengan memilih macro md_analyze. Lalu analisis RMSF dilakukan dengan menggunakan parameter md-analyzeres.mcr.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil Ekstraksi Senyawa Bioaktif *A. platensis*

Ekstraksi senyawa bioaktif dari *A. platensis* dilakukan dengan metode maserasi

dan aquades sebagai pelarut. Hasil ekstrak kemudian diidentifikasi dengan LC-HRMS hingga diperoleh 36 senyawa dan tertera pada **Tabel 1** berikut. Kemudian kode CID dan SMILES dari masing-masing senyawa yang diketahui dari Pubchem dikumpulkan untuk dilanjutkan pada tahap selanjutnya yaitu pengumpulan struktur 3D dan prediksi-prediksi sifat obat.

Tabel 1. Daftar Senyawa Bioaktif *A. platensis* Hasil Identifikasi LC-HRMS

No.	Senyawa	CID	SMILES
1.	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	248575	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(C(C(O)N)O)O</chem>
2.	Guanine	135398634	<chem>C1=NC2=C(N1)C(=O)NC(=N2)N</chem>
3.	Hypoxanthine	135398638	<chem>C1=NC2=C(N1)C(=O)NC=N2</chem>
4.	Acetophenone	7410	<chem>CC(=O)C1=CC=CC=C1</chem>
5.	L-Phenylalanine	6140	<chem>C1=CC=C(C=C1)C[C@@H](C(=O)O)N</chem>
6.	Adenine	190	<chem>C1=NC2=NC=NC(=C2N1)N</chem>
7.	L-Isoleucine	6306	<chem>CC[C@H](C)[C@@H](C(=O)O)N</chem>
8.	Uracil	1174	<chem>C1=CNC(=O)NC1=O</chem>
9.	Nylon cyclic dimer	16	<chem>C1CCC(=O)NCCCCC(=O)NCC1</chem>
10.	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)dodecanamide	8430	<chem>CCCCCCCCCCCC(=O)N(CCO)CCO</chem>
11.	L-Glutamic acid	33032	<chem>C(CC(=O)O)[C@@H](C(=O)O)N</chem>
12.	3-Methylsulfolene	70941	<chem>CC1=CCS(=O)(=O)C1</chem>
13.	Phosphoric acid	1004	<chem>OP(=O)(O)O</chem>
14.	8-hydroxy-deoxyguanosine	135440064	<chem>C1[C@@H]([C@H](O[C@H]1N2C3=C(C(=O)NC(=N3)N)NC2=O)CO)O</chem>
15.	D-(+)-Pipicolinic acid	736316	<chem>C1CCNC(C1)C(=O)O</chem>
16.	L-(+)-Arginine	6322	<chem>C(C[C@@H](C(=O)O)N)CN=C(N)N</chem>
17.	Nonivamide	2998	<chem>CCCCCCCCC(=O)NCC1=CC(=C(C=C1)O)OC</chem>
18.	D-(+)-Proline	8988	<chem>C1C[C@@H](NC1)C(=O)O</chem>
19.	Precocene II	12565	<chem>CC1(C=CC2=CC(=C(C=C2O1)OC)OC)C</chem>
20.	Caprolactam	7768	<chem>C1CCC(=O)NCC1</chem>
21.	2-Methylpyrrolidine	13003	<chem>CC1CCCN1</chem>
22.	Bicine	8761	<chem>C(CO)N(CCO)CC(=O)O</chem>
23.	Lauramide	14256	<chem>CCCCCCCCCCCC(=O)N</chem>
24.	Lidocaine	3676	<chem>CCN(CC)CC(=O)NC1=C(C=CC=C1)C</chem>
25.	Hercynine	5459798	<chem>C[N+](C)(C)[C@@H](CC1=CN=C(N1)C(=O)[O-])</chem>
26.	L-gamma-Glutamyl-L-leucine	151023	<chem>CC(C)C[C@@H](C(=O)O)NC(=O)CC[C@@H](C(=O)O)N</chem>

No.	Senyawa	CID	SMILES
27.	Triethyl phosphate (TEP)	6535	CCOP(=O)(OCC)OCC
28.	L-gamma-Glutamyl-L-valine	7015683	CC(C)[C@@H](C(=O)O)NC(=O)C[C@@H](C(=O)O)N
29.	Cathinone	62258	C[C@@H](C(=O)C1=CC=CC=C1)N
30.	Olomoucine	4592	CN1C=NC2=C(N=C(N=C21)NCCO)NCC3=CC=CC=C3
31.	Dodecylamine	13583	CCCCCCCCCCCCCN
32.	(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	14757419	CCCCCCCCC/C=C/CCCC(C(C(CO)N)O)O
33.	11-Aminoundecanoic acid	17083	C(CCCCCN)CCCCC(=O)O
34.	ALA-GLU	128841	C[C@@H](C(=O)N[C@@H](CCC(=O)O)C(=O)O)N
35.	2'-Deoxyadenosine	13730	C1[C@@H]([C@H](O[C@H]1N2C=NC3=C(N=CN=C32)N)CO)O
36.	Lumazine	10250	C1=CN=C2C(=N1)C(=O)NC(=O)N2

2. Prediksi Bioavailabilitas

Prediksi bioavailabilitas pada penelitian ini menerapkan aturan Lipinski Rule of Five yang dilakukan menggunakan webserver pkCSM. Menurut aturan Lipinski Rule of Five, terdapat beberapa parameter yang digunakan untuk menguji kemampuan bioavailabilitas dari senyawa, yaitu senyawa memiliki berat molekul tidak lebih dari 500 g/mol, nilai lipofilitas (log P) tidak kurang dari 0 namun

tidak lebih dari 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10, dan jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5. Senyawa yang memiliki potensi bioavailabilitas yang baik harus memenuhi seluruh parameter tersebut. Pada Tabel 2 berikut merupakan data hasil analisis bioavailabilitas senyawa bioaktif dari A. platensis.

Tabel 3. Hasil Prediksi Bioavailabilitas

No.	Nama Senyawa	BM	log P	HBA	HBD	Hasil Uji
1.	Metformin (kontrol)	129,167	-1,1474	1	3	Tidak
2.	Lithocholic acid (kontrol)	376,581	5,5071	2	2	Tidak
3.	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	317,514	3,1190	4	4	Lolos
4.	Guanine	151,129	-0,7716	4	3	Tidak
5.	Hypoxanthine	136,114	-0,3538	3	2	Tidak
6.	Acetophenone	120,151	1,8892	1	0	Lolos
7.	L-Phenylalanine	165,192	0,6410	2	2	Lolos
8.	Adenine	135,130	-0,0649	4	2	Tidak
9.	L-Isoleucine	131,175	0,4444	2	2	Lolos
10.	Uracil	112,088	-0,9368	2	2	Tidak
11.	Nylon cyclic dimer	226,320	1,3532	2	2	Lolos
12.	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)dodecanamide	287,444	2,7205	3	2	Lolos
13.	L-Glutamic acid	147,130	-0,7369	3	3	Tidak
14.	3-Methylsulfolene	132,184	0,3611	2	0	Lolos
15.	Phosphoric acid	97,994	-0,9286	1	3	Tidak
16.	8-hydroxy-deoxyguanosine	283,244	-2,3642	8	5	Tidak
17.	D-(+)-Pipicolinic acid	129,159	0,2131	2	2	Lolos
18.	L-(+)-Arginine	174,204	-1,5481	3	4	Tidak

No.	Nama Senyawa	BM	log P	HBA	HBD	Hasil Uji
19.	Nonivamide	293,407	3,7676	3	2	Lolos
20.	D-(+)-Proline	115,132	-0,1770	2	2	Tidak
21.	Precocene II	220,268	2,8880	3	0	Lolos
22.	Caprolactam	113,160	0,6766	1	1	Lolos
23.	2-Methylpyrrolidine	85,150	0,7583	1	1	Lolos
24.	Bicine	163,173	-1,6424	4	3	Tidak
25.	Lauramide	199,338	3,3926	1	1	Lolos
26.	Lidocaine	234,343	2,58374	2	1	Lolos
27.	Hercynine	197,238	-1,2231	3	1	Tidak
28.	L-gamma-Glutamyl-L-leucine	260,290	-0,2060	4	4	Tidak
29.	Triethyl phosphate (TEP)	182,156	2,2040	4	0	Lolos
30.	L-gamma-Glutamyl-L-valine	246,263	-0,5961	4	4	Tidak
31.	Cathinone	149,193	1,2165	2	1	Lolos
32.	Olomoucine	298,350	1,3796	7	3	Lolos
33.	Dodecylamine	185,355	3,8660	1	1	Lolos
34.	(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	315,498	2,8950	4	4	Lolos
35.	11-Aminoundecanoic acid	201,310	2,5406	2	2	Lolos
36.	ALA-GLU	218,209	-1,2322	4	4	Tidak
37.	2'-Deoxyadenosine	251,246	-0,9508	8	3	Tidak
38.	Lumazine	164,124	-0,9936	4	2	Tidak

Keterangan: BM= berat molekul (g/mol); log P= nilai lipofilisitas; HBA= Hydrogen Bond Acceptor; HBD= Hydrogen Bond Donor; **Warna merah** menunjukkan nilai yang tidak memenuhi parameter.

Berat molekul merupakan salah satu parameter pada aturan Lipinski Rule of 5 yang dapat mempengaruhi proses penyerapan senyawa di dalam tubuh. Senyawa dengan berat molekul kecil, yaitu kurang dari 500 g/mol akan lebih mudah melewati membran fosfolipid bilayer pada sel. Penetrasi ini penting agar senyawa kandidat obat dapat mencapai targetnya di dalam tubuh secara efektif. Sebaliknya, senyawa dengan berat molekul lebih besar, yaitu lebih dari 500 g/mol kemungkinan akan kesulitan melewati membran tersebut, sehingga kemampuan terapeutiknya akan berkurang (Ibrahim *et al.*, 2021). Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 3**, seluruh senyawa uji memiliki berat molekul kurang dari 500 g/mol. Oleh sebab itu, semua senyawa uji memiliki potensi bioavailabilitas yang baik ditinjau dari parameter berat molekul.

Nilai lipofilisitas (log P) adalah ukuran kecenderungan suatu senyawa untuk larut dalam fase lemak (lipid) dibandingkan dengan fase air (polar). Nilai tersebut diperoleh dari

koefisien partisi oktanol-air yang menunjukkan rasio antara fase oktanol (lipofilik) dan fase air (hidrofilik) (Aziz *et al.*, 2010). Lipofilisitas suatu senyawa berbanding lurus dengan nilai log P-nya. Semakin tinggi nilai log P dari suatu senyawa maka semakin lipofilik, begitu pula sebaliknya. Senyawa yang sangat lipofilik cenderung sulit larut pada fase air dan dapat terakumulasi dalam membran fosfolipid bilayer pada sel sehingga menghambat proses penetrasi dan mengurangi efisiensi penyerapan. Sebaliknya, senyawa yang kurang lipofilik (hidrofilik) juga mengalami tantangan untuk penetrasi. Senyawa hidrofilik memiliki afinitas terhadap lemak yang rendah sehingga sulit berinteraksi dengan membran fosfolipid bilayer pada sel. Hal tersebut juga mengurangi kemampuan senyawa untuk menembus membran sel dan mengurangi efisiensi penyerapan (Amin *et al.*, 2022). Menurut aturan Lipinski (2004), senyawa dengan lipofilisitas tinggi akan memiliki nilai log P lebih dari 5 dan senyawa dengan lipofilisitas rendah akan memiliki nilai log P kurang dari 0 atau negatif.

Oleh sebab itu, senyawa yang dapat diserap dengan baik oleh tubuh manusia dan memiliki peluang bioavailabilitas yang baik ketika dikonsumsi secara oral harus memiliki nilai log P antara 0-5. Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 3**, seluruh senyawa uji memiliki nilai log P tidak lebih dari 5, sehingga seluruh senyawa uji memiliki potensi bioavailabilitas yang baik.

Jumlah akseptor dan donor ikatan hidrogen adalah parameter lain yang diamati dalam prediksi bioavailabilitas yang berkaitan dengan kapasitas ikatan hidrogen dari suatu senyawa. Semakin banyak donor dan akseptor dari suatu senyawa, maka semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogennya. Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 3**, seluruh senyawa uji memiliki akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10. Akseptor ikatan hidrogen dinyatakan sebagai setiap heteroatom, yakni atom H dan O, yang terikat dengan setidaknya satu hidrogen (Ibrahim *et al.*, 2021). Menurut aturan Lipinski (2004), jumlah heteroatom ini harus kurang dari 10. Selain itu, seluruh senyawa uji pada **Tabel 3** juga memiliki donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5. Donor ikatan hidrogen dinyatakan sebagai setiap heteroatom yang tidak memiliki muatan positif formal, dan berikatan langsung dengan hidrogen sehingga dapat menyumbangkan proton untuk membentuk ikatan hidrogen, seperti atom O dan N (Ibrahim *et al.*, 2021). Aturan Lipinski (2004), menyebutkan bahwa senyawa yang memiliki bioavailabilitas oral yang baik memiliki tidak lebih dari 5 donor ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen sendiri merupakan salah satu ikatan

penting yang harus terbentuk antara protein dan ligan karena berperan dalam menentukan afinitas dan spesifisitas interaksi antara protein dan ligan. Akan tetapi, jika senyawa memiliki terlalu banyak donor dan akseptor ikatan hidrogen, senyawa tersebut akan cenderung lebih hidrofilik, sehingga sulit melewati membran sel yang bersifat hidrofobik (lipid bilayer) (Aziz *et al.*, 2022). Hal tersebut dapat menghambat absorpsi senyawa melalui membran usus dan menurunkan bioavailabilitas oral. Oleh karena itu, ditinjau dari parameter jumlah akseptor dan donor ikatan hidrogen, seluruh senyawa uji memiliki potensi bioavailabilitas yang baik.

3. Prediksi Farmakokinetika

Prediksi farmakokinetika dilakukan untuk memprediksi bagaimana suatu senyawa bioaktif atau obat berinteraksi di dalam tubuh manusia berdasarkan struktur kimianya yang mencakup proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME). Prediksi farmakokinetika dilakukan menggunakan webserver pkCSM dengan melibatkan beberapa parameter, antara lain Caco-2 cel yang tidak kurang dari 0,10 log Papp, Human Intestinal Absorption (HIA%) yang tidak kurang dari 30%, Volume of Distribution at steady state (VDss) yang tidak kurang dari -0,15 log L/kg, tidak menjadi inhibitor dari protein CYP3A4 dan Total Clearance harus lebih dari 0 log mL/menit/kg berat badan.

Tabel 4. Hasil Prediksi Farmakokinetika

No.	Nama Senyawa	Caco-2 cel	HIA%	VDss	CYP3A4 inhibitor	TC	Hasil Uji
1.	Metformin (kontrol)	-0,339	59,401	-0,232	Tidak	0,100	Tidak
2.	Lithocholic acid (kontrol)	1,265	95,881	-0,907	Tidak	0,580	Tidak
3.	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	0,893	87,941	0,884	Tidak	1,475	Lolos
4.	Guanine	-0,558	64,935	1,666	Tidak	0,781	Tidak
5.	Hypoxanthine	0,000	67,014	1,751	Tidak	0,773	Tidak
6.	Acetophenone	1,361	99,690	-0,040	Tidak	0,245	Lolos
7.	L-Phenylalanine	0,260	71,119	-0,016	Tidak	0,474	Lolos

No.	Nama Senyawa	Caco-2 cel	HIA%	VDss	CYP3A4 inhibitor	TC	Hasil Uji
8.	Adenine	0,014	72,685	1,699	Tidak	0,805	Tidak
9.	L-Isoleucine	0,259	86,503	0,010	Tidak	0,315	Lolos
10.	Uracil	0,081	85,331	-0,409	Tidak	0,776	Tidak
11.	Nylon cyclic dimer	1,238	95,492	0,064	Tidak	1,237	Lolos
12.	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)dodecane amide	1,445	91,020	0,306	Tidak	1,783	Lolos
13.	L-Glutamic acid	-0,363	27,006	-0,635	Tidak	0,023	Tidak
14.	3-Methylsulfolene	1,455	100	-0,086	Tidak	0,731	Lolos
15.	Phosphoric acid	0,106	83,983	-0,598	Tidak	0,176	Tidak
16.	8-hydroxy-deoxyguanosine	-0,351	47,207	1,264	Tidak	0,769	Tidak
17.	D-(+)-Pipicolinic acid	1,136	95,044	0,161	Tidak	0,612	Lolos
18.	L-(+)-Arginine	-0,417	35,044	1,377	Tidak	0,181	Tidak
19.	Nonivamide	1,434	92,127	0,088	Tidak	1,321	Lolos
20.	D-(+)-Proline	1,112	94,948	0,135	Tidak	0,655	Lolos
21.	Precocene II	1,611	98,992	-0,046	Tidak	0,25	Lolos
22.	Caprolactam	1,309	100	0,148	Tidak	0,344	Lolos
23.	2-Methylpyrrolidine	1,347	100	0,503	Tidak	1,111	Lolos
24.	Bicine	0,623	55,890	-1,157	Tidak	0,665	Tidak
25.	Lauramide	1,453	91,773	0,248	Tidak	1,697	Lolos
26.	Lidocaine	1,478	92,216	0,730	Tidak	0,87	Lolos
27.	Hercynine	0,845	90,093	-0,743	Tidak	0,694	Tidak
28.	L-gamma-Glutamyl-L-leucine	-0,499	10,642	-0,476	Tidak	-0,029	Tidak
29.	Triethyl phosphate (TEP)	1,309	96,294	-0,328	Tidak	0,637	Tidak
30.	L-gamma-Glutamyl-L-valine	-0,361	17,160	-0,687	Tidak	-0,257	Tidak
31.	Cathinone	1,235	84,285	0,513	Tidak	0,824	Lolos
32.	Olomoucine	0,399	92,427	1,788	Tidak	0,973	Lolos
33.	Dodecylamine	1,227	94,080	1,139	Tidak	1,325	Lolos
34.	(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	0,911	88,447	0,848	Tidak	1,409	Lolos
35.	11-Aminoundecanoic acid	0,800	92,490	0,343	Tidak	0,88	Lolos
36.	ALA-GLU	-0,415	16,212	-0,725	Tidak	-0,098	Tidak
37.	2'-Deoxyadenosine	-0,300	71,729	1,391	Tidak	0,904	Tidak
38.	Lumazine	-0,392	71,196	-0,754	Tidak	0,743	Tidak

Keterangan: HIA = Human Intestinal Absorption (%); VDss = volume of distribution at steady state; TC = Total Clearance; **Warna merah** menunjukkan nilai yang tidak memenuhi parameter.

Absorpsi menjadi salah satu proses parameter dalam prediksi farmakokinetika karena menilai bagaimana suatu senyawa uji dapat diserap oleh tubuh manusia. Beberapa parameter yang digunakan untuk menguji kemampuan absorpsi dari suatu senyawa antara lain permeabilitas sel Caco-2 dan HIA%. Caco-

2 adalah jenis sel epitel yang berasal dari epitelium intestinal manusia, berperan sebagai model untuk memprediksi tingkat penetrasi senyawa uji melintasi lapisan usus. Permeabilitas Caco-2 dalam pkCSM merupakan salah satu parameter yang memprediksi kemampuan suatu senyawa uji

untuk melewati lapisan epitel usus berdasarkan model sel Caco-2 (Amin *et al.*, 2022). Senyawa dengan permeabilitas tinggi ($> 0,90 \log P_{app}$) akan lebih mudah melewati lapisan epitel usus dan diabsorpsi, sehingga konsentrasi senyawa yang masuk ke darah akan lebih tinggi (Izzatunnafis *et al.*, 2023). Sebaliknya senyawa dengan permeabilitas rendah ($< 0,10 \log P_{app}$) akan sulit melewati lapisan epitel usus yang menyebabkan tingkat absorpsi rendah, sehingga hanya sebagian kecil senyawa yang dapat terserap, sedangkan sebagian besar senyawa akan tetap berada di lumen usus dan dikeluarkan melalui feses. Berdasarkan hasil prediksi farmakokinetika proses absorpsi pada **Tabel 4**, 24 senyawa uji memiliki permeabilitas lebih dari $0,10 \log P_{app}$, yang berarti sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* memiliki profil farmakokinetika yang baik ditinjau dari parameter permeabilitas sel Caco-2 dan dapat diabsorpsi dengan baik oleh sistem pencernaan manusia.

Human Intestinal Absorption (HIA%) dalam pkCSM merupakan parameter untuk memprediksi persentase obat yang diserap oleh saluran pencernaan manusia setelah dikonsumsi secara oral. Parameter HIA% merupakan gabungan dari kelarutan dan permeabilitas sehingga dapat menentukan konsentrasi senyawa yang bisa masuk ke dalam tubuh manusia melalui saluran pencernaan (Yan *et al.*, 2008). Senyawa dengan HIA% tinggi ($> 80\%$) akan lebih mudah diabsorpsi oleh saluran pencernaan, sehingga lebih banyak senyawa yang masuk ke dalam aliran darah yang menyebabkan efek terapeutik. Sebaliknya senyawa dengan HIA% rendah ($< 30\%$) akan sulit diabsorpsi oleh saluran pencernaan dan dikeluarkan bersama feses, sehingga efek terapeutiknya tidak akan optimal (Izzatunnafis *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil prediksi farmakokinetika proses absorpsi pada **Tabel 4**, 32 dari 36 senyawa uji memiliki HIA% lebih dari 30% , yang berarti sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* memiliki profil farmakokinetika yang baik ditinjau dari parameter HIA% dan dapat diabsorpsi dengan baik oleh tubuh.

Proses selanjutnya yang diprediksi pada pengujian farmakokinetika adalah proses distribusi. Distribusi dalam prediksi farmakokinetika merupakan salah satu parameter yang memprediksi pergerakan senyawa kandidat obat dari aliran darah ke jaringan tubuh target. Proses distribusi adalah parameter penting karena dapat digunakan untuk menentukan efektivitas dan durasi reaksi senyawa di dalam tubuh manusia. Salah satu parameter utama yang digunakan untuk menilai distribusi senyawa adalah VDss. Volume of distribution at steady state (VDss) adalah parameter farmakokinetika berupa volume teoritis yang menggambarkan distribusi senyawa di dalam tubuh pada keadaan tunak (*steady state*). Nilai VDss berfungsi sebagai indikator yang merefleksikan preferensi suatu senyawa untuk berlokasi di plasma darah atau menyebar di jaringan tubuh (Hardjono, 2016). Semakin tinggi nilai VDss maka semakin banyak senyawa yang didistribusikan di jaringan daripada di plasma darah. Ketika suatu senyawa memiliki nilai VDss yang tinggi ($> 0,45 \log L/kg$), senyawa akan tersebar secara luas ke jaringan tubuh seperti hati dan otot. Hal tersebut menyebabkan retensi senyawa di jaringan lebih lama, sehingga efek terapeutiknya terasa lebih lama meskipun kadar senyawa tersebut di dalam darah menurun. Sedangkan senyawa yang memiliki nilai VDss rendah ($< -0,15 \log L/kg$) akan cenderung bertahan di plasma darah sehingga eliminasi senyawa tersebut lebih cepat dan menyebabkan durasi kerja terasa lebih singkat (Izzatunnafis *et al.*, 2023). Berdasarkan hasil prediksi farmakokinetika proses distribusi pada **Tabel 4**, 26 dari 36 senyawa uji memiliki nilai VDss di atas $-0,15 \log L/kg$, yang berarti bahwa senyawa bioaktif *A. platensis* memiliki profil farmakokinetika yang baik ditinjau dari parameter VDss dan lebih banyak didistribusikan ke jaringan tubuh. Hal tersebut sesuai dengan kebutuhan, di mana protein target AMPK dan PTP1B banyak berada di jaringan hati dan otot.

Salah satu proses lain yang diprediksi dalam pengujian profil farmakokinetika suatu

senyawa adalah proses metabolisme. Metabolisme merupakan parameter yang melibatkan serangkaian reaksi kimia yang dikatalisis oleh enzim untuk melakukan proses biotransformasi terhadap senyawa obat menjadi metabolit yang lebih polar dan mudah diekskresikan melalui urin dan empedu. Isoenzim sitokrom P450 (CYP) adalah kelompok enzim yang mengandung heme dan tertanam dalam lapisan lipid bilayer retikulum endoplasma hepatosit. Enzim ini berperan dalam metabolisme banyak obat, steroid, dan karsinogen. Salah satu enzim CYP yang memiliki peran penting dalam metabolisme adalah CYP3A4. CYP3A4 adalah enzim metabolisme obat yang paling banyak diekspresikan pada tubuh manusia dan bertanggung jawab atas metabolisme lebih dari 120 senyawa obat (Bibi, 2008). Penghambatan enzim tersebut dapat menyebabkan peningkatan resiko efek samping karena metabolisme obat menjadi lebih lambat sehingga kadar obat dalam darah akan meningkat dan efek obat akan menjadi lebih kuat dari yang diharapkan. Oleh karena itu, perlu untuk mengevaluasi bahwa senyawa uji bukan inhibitor CYP3A4. Berdasarkan hasil prediksi pada **Tabel 4**, seluruh senyawa uji tidak menjadi inhibitor dari enzim CYP3A4. Dari hasil prediksi tersebut, seluruh senyawa uji menunjukkan potensi metabolisme yang baik dan tidak mengganggu aktivitas enzim CYP3A4.

Proses terakhir yang diamati pada prediksi farmakokinetika adalah proses ekskresi. Ekskresi, yang merupakan tahap terakhir pada prediksi farmakokinetika, adalah parameter terkait proses eliminasi senyawa obat dan metabolitnya dari tubuh. Laju ekskresi senyawa obat merupakan faktor kunci dalam prediksi farmakokinetika karena digunakan untuk menentukan waktu paruh senyawa obat (*half-life*) dan interval pemberian dosis. Total

Clearance (CL) adalah salah satu parameter farmakokinetika yang penting dalam proses ekskresi, yang mengukur laju eliminasi obat dari sirkulasi sistemik. Secara spesifik, CL menggambarkan volume plasma yang sepenuhnya terbebas dari senyawa obat per unit waktu, melalui berbagai jalur ekskresi, termasuk metabolisme hati dan ekskresi ginjal (Hardjono, 2016). Menurut Pires *et al.* (2015), senyawa yang memiliki CL tinggi ($> 0 \log \text{ mL/menit/kg}$ berat tubuh) dapat dieliminasi dan diekskresikan dengan cepat, sehingga waktu paruhnya lebih pendek. Namun, kelemahannya senyawa obat tersebut perlu diberikan lebih sering agar efek terapeutiknya terasa. Sebaliknya, senyawa yang memiliki CL rendah ($< 0 \log \text{ mL/menit/kg}$ berat tubuh) akan bertahan lebih lama di dalam tubuh manusia, sehingga dapat diberikan dalam durasi yang lebih jarang. Namun, berisiko terjadinya akumulasi senyawa obat dan dapat menimbulkan efek samping. Berdasarkan hasil prediksi farmakokinetika proses ekskresi pada **Tabel 4**, 33 dari 36 senyawa memiliki CL di atas $0 \log \text{ mL/menit/kg}$ berat tubuh, yang berarti bahwa hampir seluruh senyawa bioaktif *A. platensis* memiliki profil farmakokinetika yang baik ditinjau dari parameter CL.

4. Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas dilakukan untuk mengetahui kemungkinan senyawa uji dapat menyebabkan efek samping. Pada penelitian ini, prediksi toksisitas dilakukan menggunakan webserver pkCSM dan Protox-III. Pada webserver pkCSM, terdapat beberapa parameter yang digunakan untuk memprediksi toksisitas senyawa. Dalam penelitian ini, digunakan parameter AMES Toxicity dan Maximum Tolerated Dose (MTD) yang dituliskan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil Prediksi Toksisitas Menggunakan Webserver pkCSM

No.	Nama Senyawa	AMES Toxicity	MTD	Hasil Uji
1.	Metformin (kontrol)	Ya	1,112	Tidak
2.	Lithocholic acid (kontrol)	Tidak	0,222	Lolos
3.	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	Tidak	1,190	Lolos
4.	Guanine	Tidak	0,894	Lolos
5.	Hypoxanthine	Tidak	0,853	Lolos
6.	Acetophenone	Tidak	1,704	Lolos
7.	L-Phenylalanine	Tidak	1,302	Lolos
8.	Adenine	Tidak	0,822	Lolos
9.	L-Isoleucine	Tidak	1,189	Lolos
10.	Uracil	Tidak	1,475	Lolos
11.	Nylon cyclic dimer	Tidak	0,744	Lolos
12.	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)dodecanamide	Tidak	1,265	Lolos
13.	L-Glutamic acid	Tidak	0,924	Lolos
14.	3-Methylsulfolene	Tidak	1,240	Lolos
15.	Phosphoric acid	Tidak	1,657	Lolos
16.	8-hydroxy-deoxyguanosine	Tidak	0,661	Lolos
17.	D-(+)-Pipicolinic acid	Tidak	0,971	Lolos
18.	L-(+)-Arginine	Ya	1,036	Tidak
19.	Nonivamide	Tidak	1,471	Tidak
20.	D-(+)-Proline	Tidak	1,033	Lolos
21.	Precocene II	Tidak	1,097	Lolos
22.	Caprolactam	Tidak	1,234	Lolos
23.	2-Methylpyrrolidine	Tidak	0,964	Lolos
24.	Bicine	Tidak	1,600	Lolos
25.	Lauramide	Tidak	0,251	Lolos
26.	Lidocaine	Tidak	0,397	Lolos
27.	Hercynine	Tidak	0,639	Lolos
28.	L-gamma-Glutamyl-L-leucine	Tidak	1,121	Lolos
29.	Triethyl phosphate (TEP)	Tidak	1,139	Lolos
30.	L-gamma-Glutamyl-L-valine	Tidak	0,611	Lolos
31.	Cathinone	Tidak	1,443	Lolos
32.	Olomoucine	Ya	0,486	Tidak
33.	Dodecylamine	Tidak	1,479	Lolos
34.	(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	Tidak	1,180	Lolos
35.	11-Aminoundecanoic acid	Tidak	1,101	Lolos
36.	ALA-GLU	Tidak	0,659	Lolos
37.	2'-Deoxyadenosine	Ya	0,445	Tidak
38.	Lumazine	Tidak	1,172	Lolos

Keterangan: MTD: Max Tolerated Dose (Human) (log (mg/kg/hari)); **Warna merah** menunjukkan nilai yang tidak memenuhi parameter.

AMES toxicity merupakan salah satu parameter yang digunakan dalam prediksi toksisitas oleh pkCSM. Parameter ini digunakan untuk menilai potensi mutagenik suatu senyawa, yaitu kemampuannya menyebabkan mutasi genetik yang dapat meningkatkan resiko kanker (karsinogenik). AMES toxicity berasal dari uji Ames, yakni uji

laboratorium yang digunakan untuk mendeteksi potensi mutagenisitas suatu senyawa menggunakan strain bakteri mutan *Salmonella typhimurium* yang telah mengalami mutasi pada gen histidin sehingga lebih sensitif terhadap mutasi genetik (Amin *et al.*, 2022). Senyawa diprediksi bersifat mutagenik dan memiliki potensi untuk bersifat karsinogenik

jika prediksi pkCSM memberikan hasil AMES toxicity positif (“Yes”). Begitu pula sebaliknya, senyawa diprediksi tidak mutagenik dan tidak karsinogenik jika prediksi pkCSM memberikan hasil “No” atau AMES toxicity negatif. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas menggunakan pkCSM pada **Tabel 5**, 33 dari 36 senyawa menunjukkan AMES toxicity negatif (“No”). Hal tersebut berarti sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* diprediksi tidak bersifat mutagenik dan aman untuk dikonsumsi jangka panjang.

Max Tolerated Dose (MTD) adalah parameter prediksi toksisitas oleh pkCSM yang menyatakan dosis toleransi maksimum yang direkomendasikan dan memberikan perkiraan ambang dosis toksik dari senyawa kandidat obat, sehingga tidak menyebabkan efek samping pada manusia untuk konsumsi jangka panjang (Stampfer *et al.*, 2019). Hal tersebut sangat penting untuk obat diabetes karena penderita diabetes mengkonsumsi obat diabetes setiap hari. Senyawa yang memiliki MTD tinggi ($>0,477 \log(\text{mg/kg berat badan/hari})$) akan lebih aman karena dapat dikonsumsi dalam dosis tinggi tanpa efek toksik. Sebaliknya, senyawa yang memiliki MTD rendah ($<0,477 \log(\text{mg/kg berat badan/hari})$) hanya dapat digunakan dalam dosis kecil agar tidak menimbulkan efek toksik (Pires *et al.*,

2015). Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh pkCSM pada **Tabel 5**, terdapat 3 senyawa yang memiliki MTD kurang dari $0,477 \log(\text{mg/kg berat badan/hari})$, sehingga penggunaannya harus dibatasi sesuai dengan dosis yang sudah tertera. Sementara itu, 33 senyawa lainnya memiliki MTD lebih dari $0,477 \log(\text{mg/kg berat badan/hari})$, yang berarti sebagian besar senyawa bioaktif dari *A. platensis* diprediksi tidak toksik dan dapat dikonsumsi oleh manusia dalam jangka waktu yang panjang tanpa menimbulkan efek samping.

Prediksi toksisitas juga dilakukan menggunakan webserver Protox-III. Ada banyak parameter yang digunakan dalam prediksi toksisitas menggunakan webserver Protox-III. Pada **Tabel 6** merupakan hasil prediksi kelas toksisitas senyawa bioaktif dengan parameter *Lethal Dose 50%* (LD50) harus melebihi 50 mg/kg dan minimal kelas toksisitas dari senyawa tersebut adalah 3. Pada webserver Protox-III juga dilakukan prediksi toksisitas target organ dengan mempertimbangkan parameter hepatotoksitas, karsinogenitas, imunotoksitas, mutagenisitas, dan sitotoksitas. Jika senyawa uji tidak reaktif terhadap 5 parameter tersebut, maka senyawa uji tersebut lolos prediksi toksisitas.

Tabel 6. Hasil Prediksi Toksisitas Menggunakan Webserver Protox-III

No	Nama Senyawa	LD50	Kelas Toksisitas	Hepatotoksitas	Karsinogenitas	Imunotoksitas	Mutagenisitas	Sitotoksitas	Hasil Uji
1.	Metformin (kontrol)	680	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
2.	Lithocholic acid (kontrol)	1000	4	Aktif	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
3.	2-Amino-1,3,4-octadecanetriol	1190	4	Aktif	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
4.	Guanine	800	3	Aktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
5.	Hypoxanthine	800	3	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
6.	Acetophenone	740	4	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
7.	L-Phenylalanine	2400	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
8.	Adenine	570	4	Aktif	Aktif	Inaktif	Aktif	Inaktif	Tidak

No	Nama Senyawa	LD50	Kelas Toksisitas	Hepatotoksistas	Karsinogenistas	Imunotoksistas	Mutagenistas	Sitotoksistas	Hasil Uji
9.	L-Isoleucine	1190	4	Aktif	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
10.	Uracil	1923	4	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
11.	Nylon cyclic dimer	560	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
12.	N,N-Bis(2-hydroxyethyl)dodeca namide	2700	5	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
13.	L-Glutamic acid	4500	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
14.	3-Methylsulfolene	1600	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
15.	Phosphoric acid	848	3	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
16.	8-hydroxy- deoxyguanosine	467	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
17.	D-(+)-Pipicolinic acid	5000	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
18.	L-(+)-Arginine	7500	6	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
19.	Nonivamide	1250	4	Inaktif	Inaktif	Aktif	Aktif	Inaktif	Tidak
20.	D-(+)-Proline	1000	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
21.	Precocene II	500	4	Inaktif	Aktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
22.	Caprolactam	560	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
23.	2-Methylpyrrolidine	316	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
24.	Bicine	4860	4	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
25.	Lauramide	1000	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
26.	Lidocaine	220	3	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
27.	Hercynine	1493 0	6	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
28.	L-gamma-Glutamyl- L-leucine	5000	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
29.	Triethyl phosphate (TEP)	1165	4	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
30.	L-gamma-Glutamyl- L-valine	5000	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
31.	Cathinone	400	4	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
32.	Olomoucine	1640	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
33.	Dodecylamine	450	4	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
34.	(8E)-2-amino-8- octadecene-1,3,4-triol	3500	5	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
35.	11-Aminoundecanoic acid	9000	6	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
36.	ALA-GLU	6838	6	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Lolos
37.	2'-Deoxyadenosine	5000	5	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak
38.	Lumazine	800	3	Inaktif	Aktif	Inaktif	Inaktif	Inaktif	Tidak

Keterangan: LD50= Lethal Dose 50% (mg/kg); **Warna merah** menunjukkan nilai yang tidak memenuhi parameter.

Lethal dose 50% (LD50) adalah salah satu parameter yang digunakan untuk prediksi toksisitas menggunakan Protox-III dan digunakan untuk mengukur efek toksik yang muncul setelah paparan singkat terhadap suatu senyawa yang diberikan secara oral, dikenal sebagai toksisitas akut. Dalam eksperimen toksikologi, LD50 didefinisikan sebagai dosis senyawa yang menyebabkan kematian separuh (50%) dari populasi hewan uji. Satuan LD50 dinyatakan sebagai jumlah senyawa yang diberikan (mg) per berat badan hewan uji (kg) (Morris-Schaffer dan McCoy, 2021). Sesuai dengan standar dari Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), pada Protox-III, LD50 digunakan untuk mengklasifikasikan toksisitas akut menjadi 6 kelas toksisitas, yaitu kelas 1 apabila $LD50 \leq 50$ mg/kg; kelas 2 apabila $50 < LD50 \leq 300$ mg/kg; kelas 3 apabila $300 < LD50 \leq 1000$ mg/kg; kelas 4 apabila $1000 < LD50 \leq 3000$ mg/kg; kelas 5 apabila $3000 < LD50 \leq 10000$ mg/kg; dan kelas 6 apabila $LD50 > 10000$ mg/kg. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, nilai LD50 terendah adalah 220 mg/kg dan nilai LD50 tertinggi adalah 14.931 mg/kg. senyawa dengan nilai LD50 kurang dari 50 mg/kg dianggap sangat toksik, sedangkan senyawa dengan LD50 di atas 2000 mg/kg dianggap tidak toksik.

Hepatoksisitas merupakan istilah medis yang menggambarkan kondisi kerusakan organ hati yang dipicu oleh paparan senyawa tertentu, baik dalam jangka pendek (akut) maupun jangka panjang (kronis) (Banerjee *et al.*, 2018). Hati adalah organ sentral yang memetabolisme senyawa obat, sehingga sangat rentan terhadap kerusakan akibat dari paparan senyawa hepatoksik. Kerusakan organ hati akibat senyawa hepatoksik dapat berupa gangguan fungsi hati, peradangan, bahkan gagal hati. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, terdapat 5 dari 36 senyawa yang aktif hepatoksik, yang berarti sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* tidak hepatoksik dan aman untuk hati.

Karsinogenisitas adalah potensi suatu senyawa untuk memicu atau meningkatkan

kemungkinan perkembangan kanker pada setelah paparan berulang dalam jangka waktu tertentu. Hal ini terjadi karena senyawa tersebut dapat merusak materi genetik, yaitu DNA, menyebabkan mutasi genetik, atau mengganggu siklus sel, sehingga sel-sel tumbuh secara abnormal dan membentuk tumor (Amin *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, terdapat 11 dari 36 senyawa yang aktif karsinogenik, sedangkan senyawa lainnya non-karsinogenik. Hal tersebut berarti bahwa sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* tidak berpotensi menyebabkan kanker setelah penggunaan jangka panjang.

Imunotoksitas adalah salah satu parameter toksisitas yang mengacu pada efek merugikan dan berbahaya akibat dari paparan suatu senyawa terhadap sistem kekebalan tubuh (Banerjee *et al.*, 2018). Hal tersebut dapat mengakibatkan imunosupresi atau penurunan fungsi kekebalan tubuh, hipersensitivitas seperti reaksi alergi berlebihan dan autoimunitas (Pappalardo *et al.*, 2022). Obat diabetes yang bersifat imunotoksik dapat memperparah komplikasi akibat diabetes, seperti pemulihan luka yang lambat dan berujung pada infeksi kronis. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, terdapat 4 dari 36 senyawa yang diklasifikasikan sebagai senyawa imunotoksik, sehingga dapat disimpulkan bahwa sebagian besar senyawa bioaktif *A. platensis* non-imunotoksik dan relatif aman terhadap sistem imun.

Mutagenisitas adalah potensi suatu senyawa untuk menyebabkan mutasi genetik yang tidak normal dalam sel hidup, seperti perubahan DNA yang disebut sebagai mutagen. Mutasi genetik yang terjadi dapat memicu rusaknya sel dan menyebabkan berbagai macam penyakit, termasuk kanker (Banerjee *et al.*, 2018). Dalam Protox-III, prediksi mutagenisitas yang dilakukan lebih lengkap karena tidak hanya mempertimbangkan hasil Ames test, namun juga struktur kimia senyawa, hubungan Struktur-Aktivitas, serta uji genotoksitas lainnya. Berdasarkan hasil

prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, terdapat hanya 2 dari 36 senyawa yang bersifat mutagenik, yang berarti hampir seluruh senyawa bioaktif *A. platensis* bersifat non-mutagenik sehingga tidak berpotensi untuk menyebabkan mutasi genetik dan kanker.

Parameter terakhir yang diperhatikan pada prediksi toksisitas adalah sitotoksitas. Sitotoksitas merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi sifat toksik senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan bahkan kematian sel. Kerusakan sel ini kemudian dapat berkembang menjadi sel tumor (Banerjee *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil prediksi toksisitas oleh Protox-III pada **Tabel 6**, tidak ada senyawa yang bersifat sitotoksik. Hal tersebut berarti bahwa senyawa bioaktif dari *A. platensis* bersifat non-sitotoksik dan aman untuk sel-sel tubuh terutama sel yang berperan dalam diabetes, seperti sel- β pada pankreas dan sel hati.

5. Prediksi Aktivitas Biologis

Dari 9 senyawa bioaktif yang lolos prediksi bioavailabilitas, farmakokinetika, dan

toksisitas, dilakukan prediksi aktivitas biologis untuk mengetahui apakah senyawa bioaktif memiliki kemungkinan aktivitas terkait DMT2, yaitu insulin promotor dan phosphatase inhibitor. Prediksi aktivitas biologis tertera pada **Tabel 6** berikut. Dari data pada tabel tersebut, senyawa lauramide dan lidocaine memiliki nilai Pa kurang dari 0,5 yang menandakan bahwa kedua senyawa kemungkinan tidak memiliki aktivitas terkait, sedangkan 7 senyawa lain, yaitu L-Phenylalanine, Nylon cyclic dimer, 3-Methylsulfolene, D-(+)-Pipicolinic acid, Caprolactam, 2-Methylpyrrolidine, dan (8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol dilanjutkan pada simulasi selanjutnya yaitu penambatan molekuler. Senyawa dengan nilai Pa tinggi pada parameter insulin promotor akan ditambatkan pada protein AMPK sedangkan senyawa dengan nilai Pa tinggi pada parameter phosphatase inhibitor akan ditambatkan pada protein PTP1B.

Tabel 6. Hasil Prediksi Aktivitas Biologis

Senyawa	Probability to be active (Pa)		Probability to be inactive (Pi)	
	Insulin promotor	Phosphatase inhibitor	Insulin promotor	Phosphatase inhibitor
L-Phenylalanine	0,777	0,700	0,004	0,013
Nylon cyclic dimer	0,521	-	0,025	-
3-Methylsulfolene	0,485	0,628	0,033	0,034
D-(+)-Pipicolinic acid	0,615	0,505	0,013	0,105
Caprolactam	0,521	-	0,025	-
2-Methylpyrrolidine	0,616	-	0,013	-
Lauramide	0,420	-	0,054	-
Lidocaine	0,310	-	0,128	-
(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	0,311	0,576	0,126	0,060

Keterangan: Warna merah menunjukkan nilai yang tidak memenuhi parameter.

6. Validasi Penambatan Molekuler

Validasi penambatan molekuler dilakukan dengan menambatkan ulang ligan alami pada protein target menggunakan perangkat lunak PyRx 1.1. Validasi ini bertujuan untuk mengetahui situs pengikatan dari protein target, sehingga dapat menjadi acuan dalam

penambatan molekuler dan penentuan *grid box* penambatan yang akan digunakan. *Grid box* penambatan berada pada area yang berikatan dengan *native ligand* dari protein tersebut. *Native ligand* merupakan senyawa yang terikat pada struktur protein berdasarkan data dari Protein Data Bank. Pada penelitian ini, protein

target AMPK (PDB ID: 4CFF) memiliki *native ligand* A-769662 yang dilabeli sebagai aktivator dari protein tersebut. Kemudian protein target PTP1B (PDB ID: 1Q1M) memiliki *native ligand* 5-{2-fluoro-5-[3-(3-hydroxy-2-methoxycarbonyl-phenoxy)-propenyl]-phenyl}-isoxazole-3-carboxylic acid yang dilabeli sebagai inhibitor dari protein tersebut. Oleh sebab itu, kedua *native ligand* tersebut dapat memvalidasi ukuran *grid box*

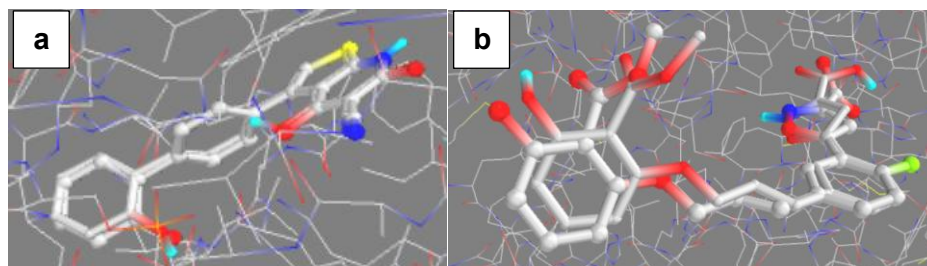
yang digunakan untuk penambatan molekuler ligan uji sehingga kemungkinan aktivitas yang terjadi setelah dilakukan penambatan ligan uji pada protein target sama dengan aktivitas yang terjadi ketika protein berinteraksi dengan *native ligand*. **Tabel 4.9** berikut merupakan data koordinat pusat dan dimensi dari *grid box* setelah dilakukan validasi.

Tabel 8. *Grid box* Hasil Validasi Penambatan Molekuler

Protein Target	Ukuran Grid Box (Å)			Koordinat Pusat Grid			RMSD (Å)
	X	Y	Z	X	Y	Z	
AMPK	15	15	15	-24,759	-10,527	207,672	0,350
PTP1B	20	20	20	29,789	29,236	20,135	0,925

Berdasarkan penambatan ulang yang telah dilakukan, diperoleh data *grid box* dari masing-masing protein dengan RMSD kurang dari 2 Å seperti yang tertera pada **Tabel 4.9**. Root Mean Square Deviation (RMSD) pada penambatan molekuler merupakan parameter yang digunakan untuk menilai akurasi dari posisi ligan yang diprediksi. Nilai RMSD yang kurang dari 2 Å, yang berarti nilai RMSD kecil, menandakan tingkat akurasi dari posisi ligan yang tinggi (Bell dan Zhang, 2019). Oleh sebab itu, *grid box* hasil penambatan ulang pada **Tabel 4.9** dinilai telah akurat dan valid karena

nilai RMSD yang lebih kecil dari 2 Å. Validitas dari *grid box* juga didukung dengan hasil penambatan ulang pada **Gambar 4.5** yang menunjukkan *overlay* dari posisi *native ligand* asli dan *native ligand* hasil penambatan ulang. Kedua ligan tersebut memiliki posisi yang hampir sama dan saling tumpang tindih. Hal ini menandakan bahwa *grid box* yang digunakan sudah sesuai dan akurat sehingga *native ligand* hasil penambatan ulang dapat berinteraksi dengan protein dan memiliki posisi yang hampir sama dengan *native ligand* asli.



Gambar 1. *Overlay Native Ligand* a. AMPK b. PTP1B

7. Analisis Hasil Penambatan Molekuler AMPK

Analisis dilakukan terhadap hasil penambatan molekuler antara protein AMPK dan ligan uji dengan ukuran dan koordinat pusat

grid box hasil validasi penambatan pada **Tabel 8**. Hasil penambatan molekuler ligan uji dengan AMPK terdapat pada **Tabel 9** berikut.

Tabel 9. Hasil Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif *A. platensis* dengan AMPK

Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)
Metformin (kontrol)	-4,5
L-Phenylalanine	-5,8
Nylon cyclic dimer	-3,4
D-(+)-Pipicolinic acid	-5,0
Caprolactam	-4,6
2-Methylpyrrolidine	-3,8

Keterangan: Warna biru menunjukkan senyawa yang akan dianalisis lanjutan.

Pada **Tabel 9**, tertera energi ikatan antara protein AMPK dengan masing-masing ligan. Terdapat 6 ligan uji yang memiliki energi ikatan lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol positif, yaitu metformin yang memiliki energi ikatan dengan AMPK sebesar -4,5 kkal/mol. Ligan uji dengan energi ikatan lebih rendah dibandingkan dengan metformin antara lain, L-Phenylalanine (-5,8 kkal/mol), D-(+)-Pipicolinic acid (-5,0 kkal/mol), dan Caprolactam (-4,6 kkal/mol). Dari ketiga ligan uji tersebut, diambil 1 ligan uji dengan energi ikatan paling rendah, yaitu L-Phenylalanine untuk dilanjutkan pada analisis dan visualisasi hasil penambatan.

Visualisasi baik 2D dan 3D dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui jenis ikatan yang terbentuk antara protein target dan ligan. Ligan akan berinteraksi dengan residu asam amino di situs pengikatan protein dan membentuk ikatan seperti ikatan hidrogen dan ikatan elektrostatik. Ikatan hidrogen merupakan interaksi spesifik yang terbentuk antara atom donor hidrogen dengan atom akseptor elektronegatif pada konformasi protein-ligan. Ikatan hidrogen berperan dalam meningkatkan

stabilitas kompleks protein-ligan dan meningkatkan kekuatan ikatan karena merupakan salah satu kontributor utama dalam perhitungan afinitas ikatan (Madushanka *et al.*, 2023). Dalam visualisasi hasil penambatan molekuler menggunakan Biovia Discovery Studio 2024, ikatan hidrogen dibedakan menjadi 2, yaitu ikatan hidrogen konvensional dan ikatan karbon hidrogen. Ikatan hidrogen konvensional terjadi antara atom donor H dan atom akseptor elektronegatif yang keduanya berasal dari atom O, N atau F (Horowitz dan Trievel, 2012). Ikatan ini lebih kuat dan lebih stabil dibandingkan dengan ikatan karbon hidrogen. Ikatan karbon hidrogen, termasuk sebagai ikatan hidrogen nonkonvensional, merupakan bentuk ikatan lebih lemah dari ikatan hidrogen yang terjadi antara atom donor H yang berasal dari C dan atom akseptor elektronegatif yang berasal dari O atau N. Atom hidrogen yang berasal dari C memiliki muatan yang kurang positif dibandingkan dengan hidrogen yang berasal dari O atau N, menyebabkan ikatan hidrogen yang terbentuk lebih lemah (Derewenda, 2023).

Tabel 10. Interaksi Hasil Penambatan Molekuler AMPK

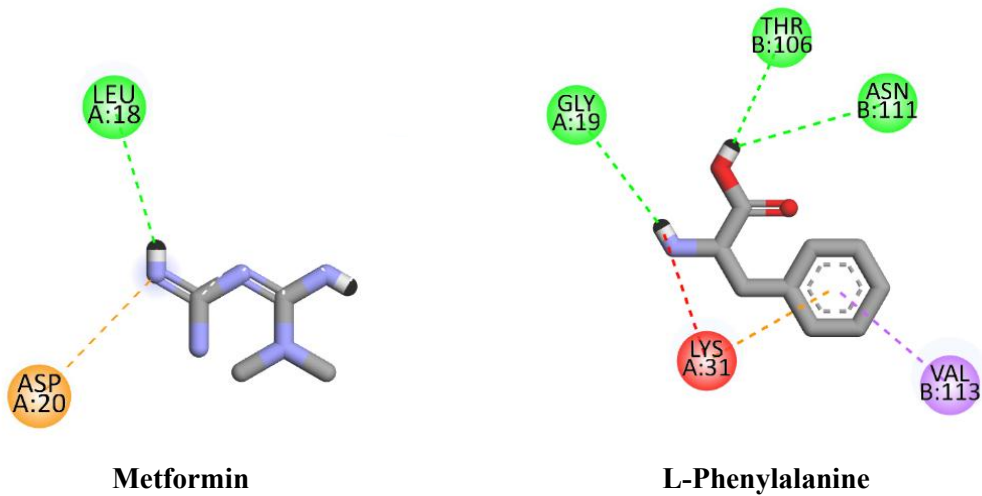
Senyawa	Energi Ikatan	Ikatan Hidrogen		Non-Hidrogen
		Asam Amino	Jarak (Å)	
Metformin	-4,5	Leu18	2,90	Asp20
L-Phenylalanine	-5,8	Gly19; Thr106; Asn111	2,89; 2,34; 2,88	Lys31; Val113

Berdasarkan hasil pada **Tabel 10** tersebut, asam amino dari protein AMPK yang berinteraksi hidrogen dengan ligan kontrol metformin tidak memiliki kesamaan dengan

asam amino dari protein AMPK yang berinteraksi hidrogen dengan ligan uji L-Phenylalanine. Interaksi hidrogen yang terbentuk antara protein AMPK dengan L-

Phenylalanine lebih banyak, yaitu 3 ikatan pada residu asam amino Gly19, Thr106, dan Asn111,

dibandingkan dengan metformin yang hanya 1 interaksi yaitu pada residu asam amino Leu18.



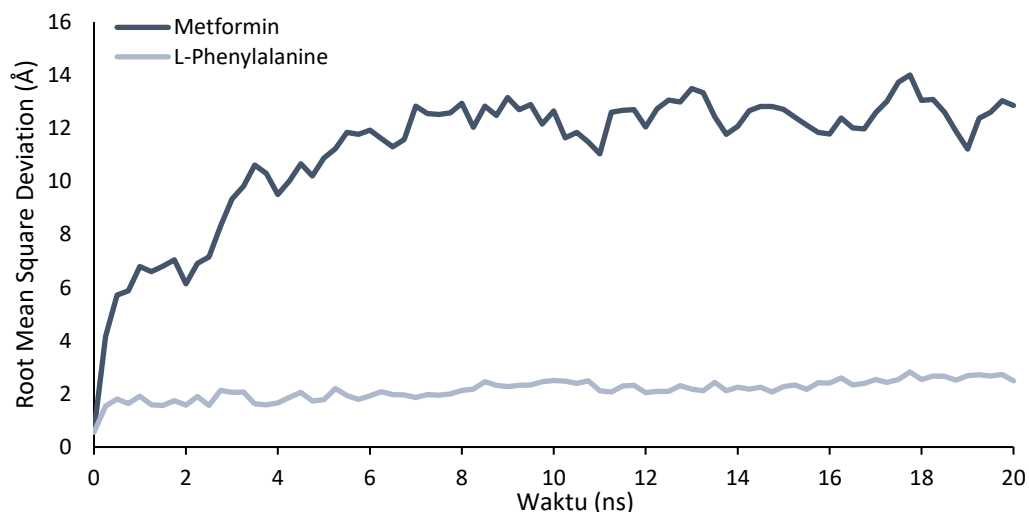
Gambar 2. Visualisasi 2D Interaksi AMPK dengan ligan

8. Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler AMPK

Simulasi dinamika molekuler merupakan suatu metode simulasi model pergerakan atom dan molekul dalam suatu sistem untuk mengevaluasi perilaku dinamis molekul dengan mengikuti prinsip fisika menggunakan teknik komputasi (Filipe dan Loura, 2022). Terdapat beberapa parameter yang digunakan dalam simulasi dinamika molekuler, antara lain RMSD, RMSF, SASA dan Rg.

Root Mean Square Deviation (RMSD) merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur perubahan rata-rata posisi atom dalam molekul selama simulasi. Selain itu, RMSD juga memberikan gambaran tentang perubahan konformasi yang terjadi selama simulasi. Dengan kata lain, RMSD merupakan parameter yang mengindikasikan stabilitas

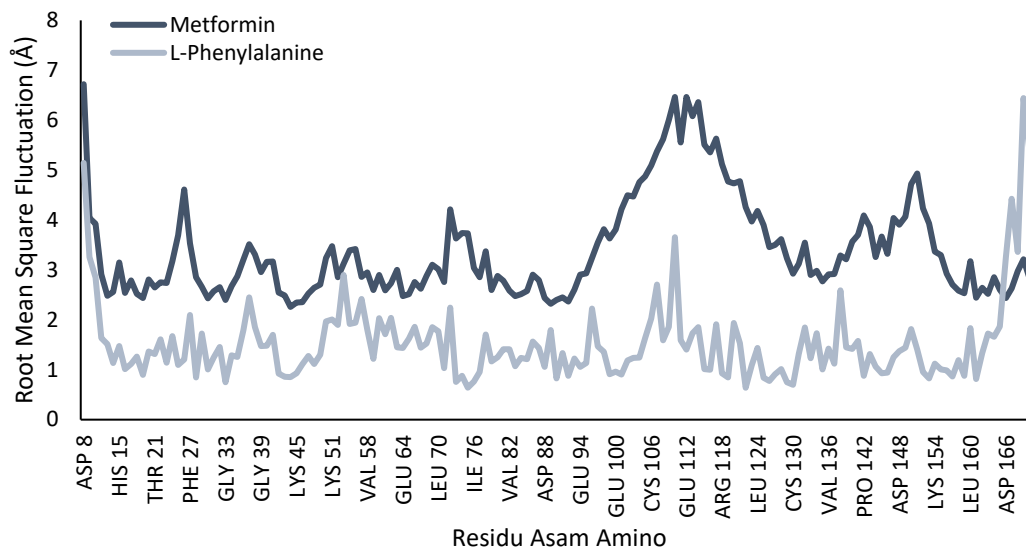
struktural. Semakin rendah nilai RMSD, maka semakin stabil struktur molekul uji selama simulasi (Soremekun *et al.*, 2024). Dalam penelitian ini, digunakan parameter Root Mean Square Deviation of Backbone (RMSDBb) yang merupakan parameter dalam menghitung rata-rata deviasi atom kerangka (*backbone*) dari suatu struktur protein terhadap struktur referensinya. Parameter ini berfokus pada stabilitas kerangka utama protein, tanpa mempertimbangkan dinamika rantai samping (*side chains*). *Backbone* protein adalah rantai atom berkesinambungan yang membentang sepanjang protein, terdiri dari atom N (nitrogen), C α (karbon alfa) dan C (karbon) (Si *et al.*, 2020). Berikut pada **Gambar 4.10** merupakan grafik RMSD dari protein AMPK dengan ligan.



Gambar 3. Grafik RMSD dari protein AMPK

Ditinjau dari grafik pada **Gambar 3**, selama simulasi berlangsung, kompleks protein-ligan AMPK-Metformin memiliki rata-rata deviasi (11,22 Å) yang lebih tinggi dibandingkan dengan kompleks AMPK-L-Phenylalanine (2,15 Å). Hal tersebut berarti ketika protein AMPK berikatan dengan L-Phenylalanine, menghasilkan struktur protein yang lebih stabil dibandingkan ketika protein AMPK berikatan dengan metformin. Dari grafik tersebut juga dapat diketahui bahwa kompleks AMPK-L-Phenylalanine memiliki rata-rata deviasi kurang dari 2,5 Å. Menurut Susmi *et al.* (2022), kompleks protein-ligan dari protein AMPK dinilai stabil jika memiliki rata-rata deviasi kurang dari 2,5 Å. Oleh sebab itu, AMPK-L-Phenylalanine memiliki stabilitas yang baik dibandingkan dengan AMPK-Metformin.

Parameter selanjutnya adalah Root Mean Square Fluctuation (RMSF), yang merupakan parameter yang digunakan untuk mengkuantifikasi fluktuasi posisi rata-rata setiap residu atau atom terhadap posisi rata-ratanya (lokal) selama simulasi. Singkatnya, RMSF merupakan ukuran seberapa banyak atom atau residu dalam suatu molekul bergerak atau berubah bentuk karena berinteraksi dengan ligan selama simulasi. Hal tersebut yang membedakan RMSF dengan RMSD yang mengukur fluktuasi secara global. RMSF mengidentifikasi fleksibilitas dan area aktif dari protein selama simulasi berlangsung. Jika nilai RMSF tinggi pada daerah tertentu, maka daerah tersebut dinilai lebih fleksibel dibandingkan dengan daerah dengan nilai RMSF lebih rendah (Dai *et al.*, 2022). Berikut pada **Gambar 4** merupakan grafik RMSF dari protein AMPK dengan ligan.

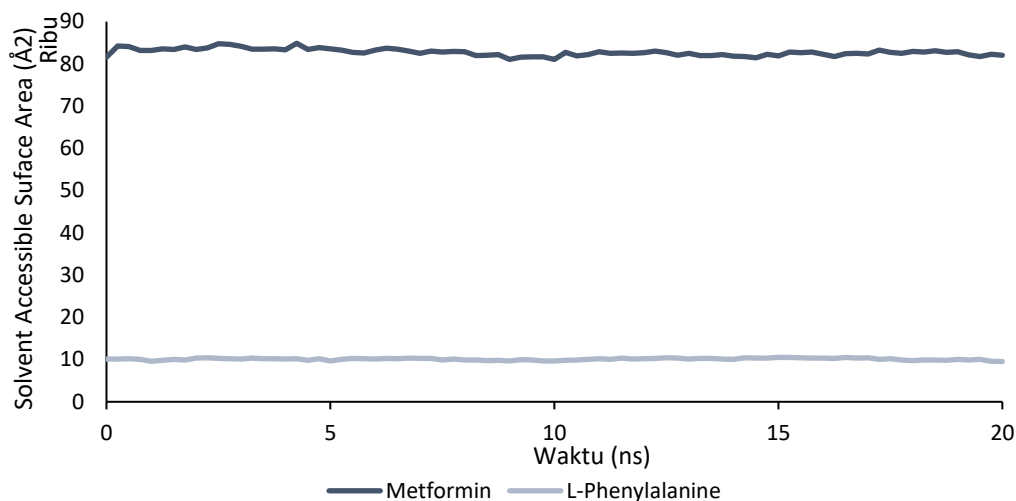


Gambar 4. Grafik RMSF dari protein AMPK

RMSF dianalisis untuk mengetahui fleksibilitas lokal residu pada kompleks AMPK-Metformin dan AMPK-L-Phenylalanine selama simulasi dinamika molekuler sepanjang 20 ns. Menurut data dari RCSB Protein Data Bank, situs aktif dari protein AMPK (PDB ID: 4CFF) berada pada asam amino Asp139. Saat asam amino Asp139 berinteraksi dengan metformin, dihasilkan nilai RMSF sebesar 3,212 Å. Sedangkan ketika residu asam amino Asp139 berinteraksi dengan L-Phenylalanine, dihasilkan nilai RMSF sebesar 1,451 Å. Menurut Daniel *et al.* (2023), nilai RMSF 1-3 Å menandakan interaksi antara residu asam amino dan ligan tergolong baik. Dari pernyataan tersebut, dapat disimpulkan bahwa interaksi antara Asp139 dengan L-Phenylalanine tergolong stabil dan kuat dibandingkan dengan metformin karena memiliki RMSF kurang dari 3 Å.

Selanjutnya adalah Solvent Accessible Surface Area (SASA), yang merupakan

parameter yang digunakan untuk mengukur luas permukaan molekul yang dapat diakses oleh pelarut, biasanya berupa air. Parameter ini memberikan informasi mendalam mengenai sifat fisikokimia molekul, terutama berkaitan dengan kemampuan molekul untuk berinteraksi dengan lingkungannya yang bersifat polar atau non-polar. SASA memungkinkan untuk mengevaluasi perubahan konformasi molekul akibat interaksi ligan atau fluktuasi lingkungan, serta kuantifikasi kontribusi efek hidrofobisitas terhadap stabilitas molekul. SASA dihitung dengan membandingkan permukaan molekul dengan bola-bola kecil yang mewakili molekul pelarut dan mengukur permukaan bola *probe* yang mewakili molekul pelarut, kemudian mengukur luas permukaan molekul yang dapat diakses oleh bola *probe* tersebut (Ghahremanian *et al.*, 2022). Berikut pada **Gambar 5** merupakan grafik SASA dari protein AMPK dengan ligan.

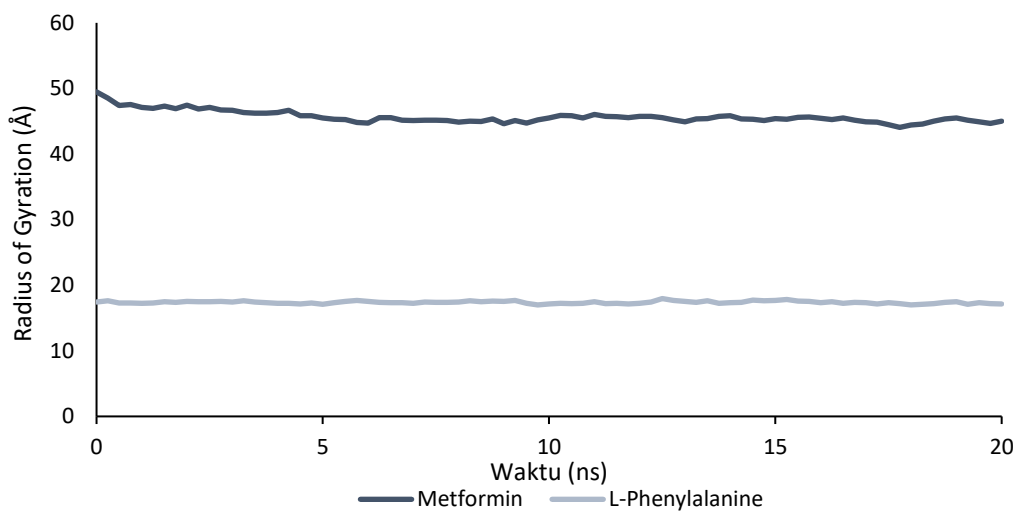


Gambar 5. Grafik SASA dari protein AMPK

SASA dianalisis untuk mengevaluasi eksposisi permukaan kompleks protein-ligan, antara lain AMPK-Metformin dan AMPK-L-Phenylalanine terhadap pelarut, yaitu air selama simulasi dinamika molekuler sepanjang 20 ns. Kompleks AMPK-L-Phenylalanine memiliki SASA rata-rata $10.091,42 \text{ \AA}^2$, dengan fluktuasi signifikan ($> 500 \text{ \AA}^2$). Sebaliknya, kompleks AMPK-Metformin menunjukkan SASA rata-rata $82.751,97 \text{ \AA}^2$ dengan fluktuasi lebih besar, mencerminkan eksposisi permukaan yang lebih dinamis. Nilai SASA yang tinggi pada kompleks AMPK-Metformin menandakan bahwa struktur protein tersebut lebih terbuka dan fleksibel, sehingga interaksi antara protein AMPK dengan metformin tidak membantu protein AMPK menjadi lebih stabil dan kemungkinan dapat menyebabkan penyakit lain yang tidak diketahui. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan oleh Oyewusi *et al.* (2024), yang menyatakan bahwa nilai SASA yang tinggi menandakan relaksasi struktural dan berkurangnya stabilitas struktur protein. Kedua sistem juga memiliki fluktuasi yang signifikan. Fluktuasi SASA yang tinggi pada kedua sistem kemungkinan disebabkan oleh interaksi yang lemah antara AMPK dengan metformin maupun L-Phenylalanine sehingga memungkinkan penetrasi air ke dalam situs pengikatan, menyebabkan peningkatan SASA. Hal tersebut didukung dengan hasil penambatan molekuler antara AMPK dan

metformin yang menghasilkan afinitas ikatan hanya $-4,5 \text{ kkal/mol}$, serta afinitas ikatan antara AMPK dan L-Phenylalanine hanya $-5,8 \text{ kkal/mol}$ ($> -8,0 \text{ kkal/mol}$). Selain itu, hanya satu ikatan hidrogen yang terbentuk antara AMPK dan metformin. Hal tersebut menunjukkan bahwa interaksi antara protein dan ligan kurang stabil. Interaksi yang lemah dan tidak stabil antara protein dan ligan dapat memicu pergerakan residu di situs pengikatan protein, sehingga dapat meningkatkan eksposisi residu hidrofobik maupun hidrofilik dan menyebabkan fluktuasi SASA lebih besar. Hasil ini menunjukkan bahwa interaksi antara protein dan ligan memainkan peran kunci dalam modulasi aksesibilitas pelarut pada protein AMPK.

Radius of Gyration (Rg) merupakan parameter yang digunakan untuk menunjukkan kompaksi protein. Dalam kata lain, Rg merupakan ukuran seberapa tersebar atau terlipatnya suatu molekul selama simulasi MD. Jika nilai Rg stabil, maka struktur protein-ligan juga dinilai stabil. Ikatan hidrogen juga menjadi parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kestabilan struktur protein-ligan yang terbentuk dengan mengamati interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk antara protein dan ligan (Ghahremanian *et al.*, 2022). Berikut pada **Gambar 6** merupakan grafik Rg dari protein AMPK dengan ligan.



Gambar 6. Grafik Rg dari protein AMPK

Rg dianalisis untuk mengevaluasi kompaksi struktur protein AMPK yang berinteraksi dengan metformin dan L-Phenylalanine selama 20 ns. Ditinjau dari **Gambar 6**, kompleks protein AMPK-Metformin memiliki rata-rata nilai Rg lebih tinggi (45,66 Å) dibandingkan kompleks AMPK-L-Phenylalanine (17,58 Å), yang menandakan bahwa interaksi metformin dengan AMPK kurang efektif dalam menstabilkan konformasi protein dibandingkan dengan L-Phenylalanine, menyebabkan konformasi protein menjadi fleksibel dan tidak stabil. Menurut Rahimi *et al.* (2023), nilai Rg yang tinggi menandakan kompaksi struktur protein yang rendah, sedangkan nilai Rg yang rendah menunjukkan stabilitas dan kompaksi struktur yang baik. Jika suatu interaksi antara senyawa dengan protein menyebabkan protein tersebut menjadi fleksibel, maka kemungkinan interaksi antara protein dan senyawa tersebut dapat menyebabkan penyakit lain yang tidak diketahui. Hasil simulasi juga menunjukkan bahwa Rg AMPK-Metformin mengalami fluktuasi yang tidak stabil dengan fluktuasi di atas 0,5 Å sepanjang simulasi, mengindikasikan

dinamika konformasi yang signifikan. Demikian pula dengan nilai Rg AMPK-L-Phenylalanine mengalami fluktuasi yang stabil pada 0-4 ns, yaitu kurang dari 0,5 Å, kemudian mengalami fluktuasi yang tidak stabil hingga 20 ns (> 0,5 Å). Hasil ini menunjukkan bahwa kedua senyawa tidak mampu mempertahankan struktur AMPK yang kompak dan stabil, yang dapat mempengaruhi fungsi katalitiknya. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan oleh Munjal *et al.* (2019), yang menyatakan bahwa protein yang kompak akan menunjukkan variasi atau fluktuasi yang rendah dibandingkan dengan protein yang memiliki struktur terbuka.

9. Analisis Hasil Penambatan Molekuler PTP1B

Analisis juga dilakukan terhadap hasil penambatan protein PTP1B dengan ligan uji dengan ukuran dan koordinat titik pusat *grid box* sesuai dengan hasil validasi penambatan yang tertera pada **Tabel 8**. Hasil penambatan protein PTP1B dengan ligan uji dan ligan kontrol positif terdapat pada **Tabel 11** berikut.

Tabel 11. Hasil Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif *A. platensis* dengan PTP1B

Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)
Lithocholic acid (Kontrol)	-7,8
L-Phenylalanine	-6,9
3-Methylsulfolene	-4,8
D-(+)-Pipicolinic acid	-5,7
2-Methylpyrrolidine	-4,1
(8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol	-5,7

Keterangan: Warna biru menunjukkan senyawa yang akan dianalisis lanjutan.

Pada **Tabel 11**, tertera energi ikatan antara protein PTP1B dengan ligan kontrol positif dan ligan uji. Tidak ada ligan uji dari *A. platensis* yang memiliki energi ikatan lebih kecil dibandingkan dengan ligan kontrol positif Lithocholic acid yang memiliki energi ikatan -

7,8 kkal/mol. Ligan uji dengan energi ikatan paling kecil adalah L-Phenylalanine dengan energi ikatan sebesar -6,9 kkal/mol. Ligan L-Phenylalanine kemudian dilanjutkan pada tahap analisis dan visualisasi hasil penambatan.

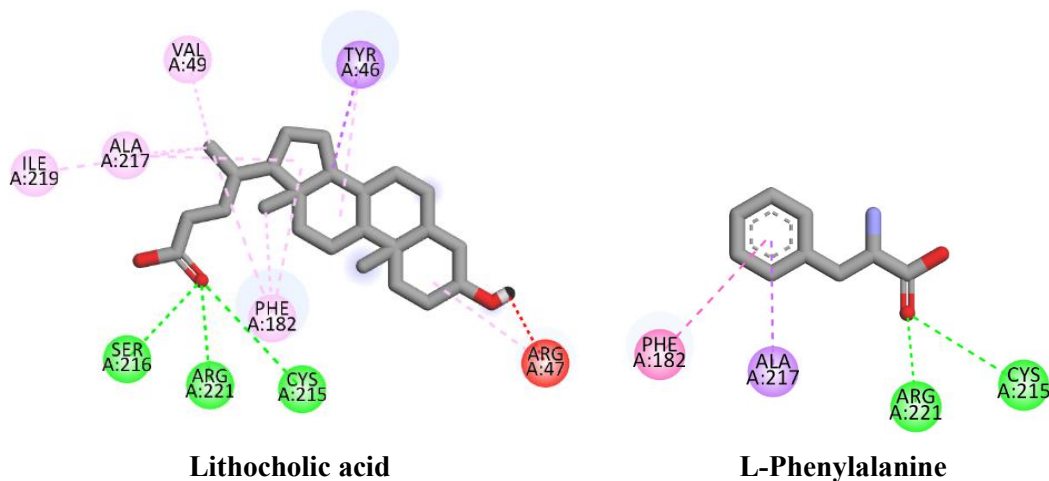
Tabel 12. Interaksi Hasil Penambatan PTP1B

Senyawa	Energi Ikatan	Ikatan Hidrogen		Non-Hidrogen
		Asam Amino	Jarak (Å)	
Lithocholic acid	-7,8	Cys215; Ser216; Arg221	3,40; 2,49; 2,26	Tyr46; Arg47; Val49; Phe182; Ala217; Ile219
L-Phenylalanine	-6,9	Cys215; Arg221	3,33; 2,02	Phe182; Ala217

Keterangan: Warna yang sama menandakan asam amino yang sama.

Berdasarkan hasil pada **Tabel 12**, lithocholic acid berinteraksi hidrogen dengan PTP1B pada asam amino Cys215 (3,40 Å), Ser216 (2,49 Å) dan Arg221 (2,26 Å). Kemudian L-Phenylalanine berinteraksi hidrogen dengan PTP1B pada asam amino Cys215 (3,33 Å) dan Arg221 (2,02 Å). Ligan uji L-Phenylalanine berinteraksi hidrogen dengan 2 asam amino yang sama dengan ligan

kontrol Lithocholic acid, yaitu Cys215 dan Arg221. Ligan uji L-Phenylalanine juga berinteraksi non-hidrogen dengan dua asam amino yang sama dengan ligan kontrol Lithocholic acid, yaitu Phe182 dan Ala217, yang menandakan bahwa ligan kontrol dan ligan uji berada pada situs pengikatan protein PTP1B yang benar.

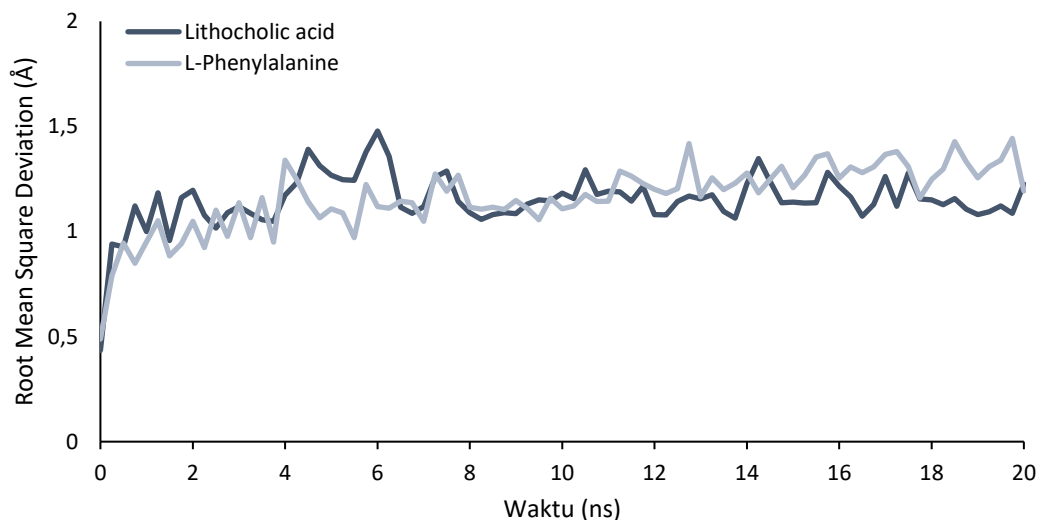


Gambar 7. Visualisasi 2D Interaksi PTP1B dengan Ligan

10. Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler PTP1B

Dilakukan juga analisis hasil simulasi dinamika molekuler dari protein PTP1B dengan masing-masing ligan, yaitu lithocholic acid sebagai ligan kontrol positif dan L-

Phenylalanine sebagai ligan uji. Analisis dilakukan dengan menggunakan parameter RMSDBb, RMSF, SASA, dan Rg. Hasil analisis RMSD dari protein PTP1B dapat dilihat pada **Gambar 8** berikut.



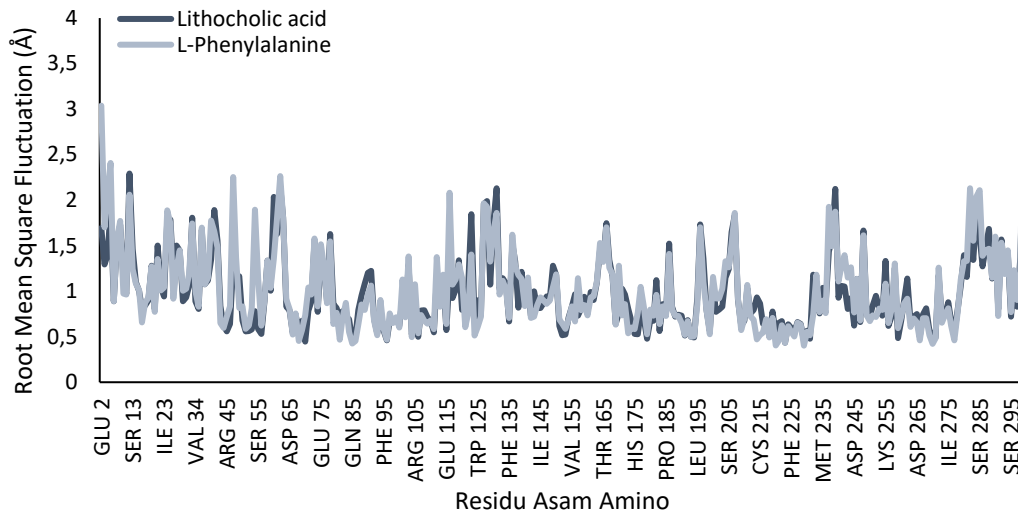
Gambar 8. Grafik RMSD dari protein PTP1B

Ditinjau dari grafik pada **Gambar 8**, kompleks PTP1B-Lithocholic acid mencapai keadaan stabil pada 2 ns dengan rata-rata RMSD berkisar pada 1-1,5 Å serta fluktuasi maksimal pada 1,478 Å pada 6 ns. Sedangkan kompleks PTP1B-L-Phenylalanine mencapai keadaan stabil pada 6 ns dengan rata-rata deviasi 1-1,5 Å dan fluktuasi maksimal pada 1,443 Å pada 19,75 ns. Ditinjau dari rata-rata deviasi, kompleks PTP1B-Lithocholic acid

memiliki rata-rata yang lebih rendah (1,15 Å) dibandingkan dengan kompleks PTP1B-L-Phenylalanine (1,16 Å), yang menandakan bahwa interaksi antara protein PTP1B dengan Lithocholic acid menghasilkan struktur yang lebih stabil dibandingkan dengan interaksi dengan L-Phenylalanine. Menurut Rollando *et al.* (2024), struktur protein PTP1B dinilai stabil apabila memiliki rata-rata deviasi kurang dari 2 Å. Ditinjau dari pernyataan tersebut, kedua

kompleks protein memiliki stabilitas struktur yang baik karena memiliki rata-rata deviasi kurang dari 2 Å.

Selanjutnya merupakan analisis parameter RMSF protein PTP1B dengan masing-masing ligan yang dapat dilihat pada **Gambar 9** berikut.

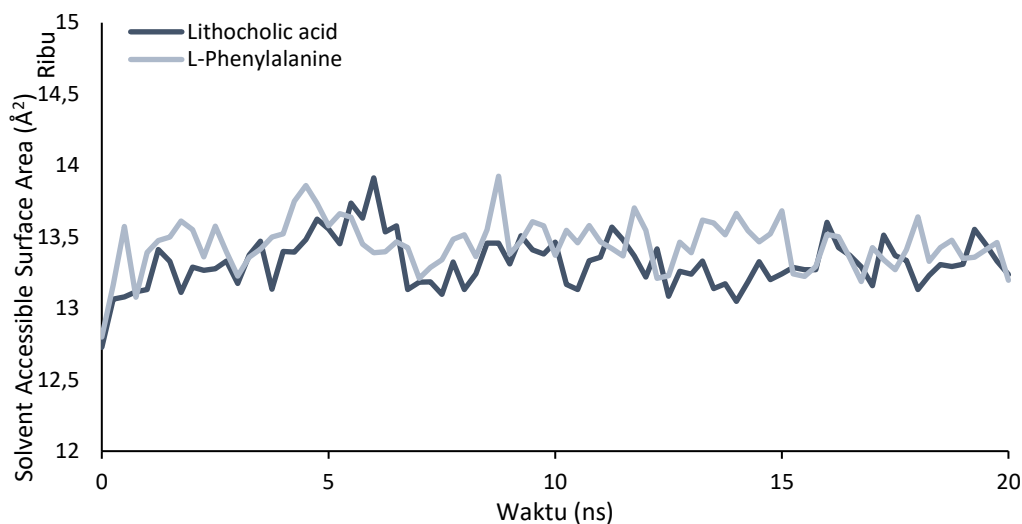


Gambar 9. Grafik RMSF dari protein PTP1B

RMSF dianalisis untuk mengetahui fleksibilitas lokal residu pada kompleks PTP1B-Lithocholic acid dan PTP1B-L-Phenylalanine selama simulasi dinamika molekuler sepanjang 20 ns. Menurut data dari RCSB Protein Data Bank, situs aktif dari protein PTP1B (PDB ID: 1Q1M) berada pada asam amino Cys215. Saat asam amino Cys215 berinteraksi dengan lithocholic acid, dihasilkan RMSF sebesar 0,864 Å. Kemudian saat asam amino Cys215 berinteraksi dengan L-Phenylalanine, dihasilkan RMSF sebesar 0,521 Å. Menurut Daniel *et al.* (2023), nilai RMSF 1-3 Å menandakan interaksi antara residu asam

amino dan ligan tergolong baik, dan RMSF < 1 Å menandakan interaksi yang sangat stabil. Dari pernyataan tersebut, dapat disimpulkan bahwa interaksi antara Cys215 dengan kedua ligan memiliki interaksi yang kuat dan stabil, namun interaksi Cys215 dengan L-Phenylalanine lebih stabil dibandingkan dengan lithocholic acid karena memiliki nilai RMSF yang lebih kecil.

Dilakukan juga analisis terhadap parameter SASA dari protein PTP1B dengan masing-masing ligan yang dapat dilihat pada **Gambar 10** berikut.

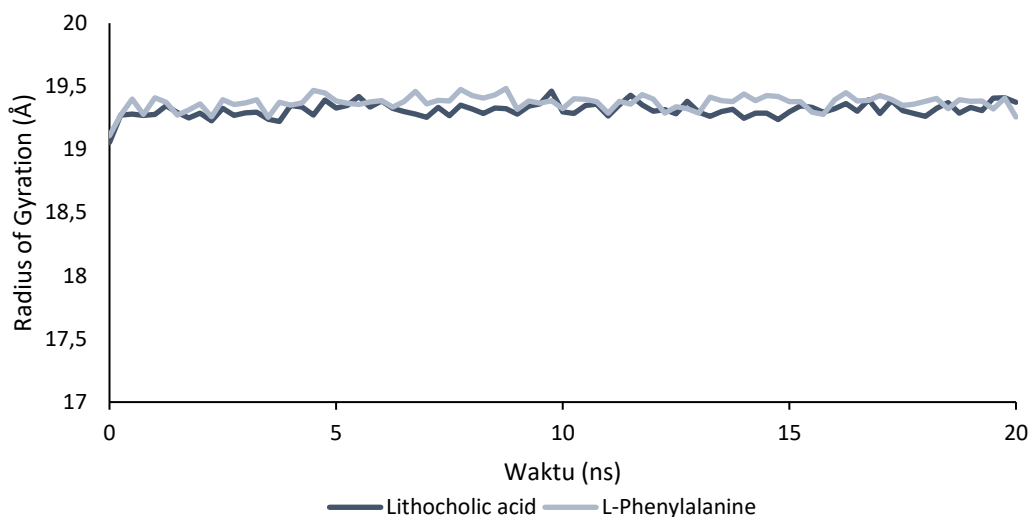


Gambar 10. Grafik SASA dari protein PTP1B

SASA juga dianalisis untuk mengevaluasi eksposisi permukaan kompleks PTP1B-Lithocholic acid dan PTP1B-L-Phenylalanine terhadap pelarut air selama simulasi dinamika molekuler sepanjang 20 ns. Pada kompleks PTP1B-Lithocholic acid, SASA rata-rata tercatat sebesar 13.319,41 Å² dengan fluktuasi signifikan dan tidak stabil (> 500 Å²). Hal tersebut juga terjadi pada kompleks PTP1B-L-Phenylalanine yang memiliki SASA rata-rata 13.448,21 Å² dengan fluktuasi signifikan dan tidak stabil. Kedua sistem menunjukkan ketidakstabilan SASA yang kemungkinan disebabkan oleh interaksi yang lemah antara protein dan ligan sehingga memungkinkan penetrasi air ke situs pengikatan, menyebabkan peningkatan SASA. Selain itu, ikatan hidrogen yang terbentuk antara PTP1B dengan kedua ligan tidak terlalu banyak, yaitu tiga ikatan hidrogen dengan lithocholic acid dan dua ikatan hidrogen dengan L-Phenylalanine. Hal tersebut menunjukkan bahwa interaksi antara protein dengan kedua ligan lemah dan kurang stabil. Interaksi yang lemah dan tidak stabil antara protein dan ligan dapat memicu pergerakan residu di situs

pengikatan protein, sehingga dapat meningkatkan eksposisi residu hidrofobik maupun hidrofilik dan menyebabkan fluktuasi SASA lebih besar. Hasil ini menunjukkan bahwa interaksi antara protein dan ligan memainkan peran kunci dalam modulasi aksesibilitas pelarut pada protein PTP1B. Selain itu, dilihat dari rata-rata, kompleks PTP1B-L-Phenylalanine memiliki rata-rata SASA yang sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan kompleks PTP1B-Lithocholic acid, yang berarti bahwa protein pada kompleks PTP1B-L-Phenylalanine lebih terbuka dan fleksibel. Dapat disimpulkan bahwa lithocholic acid lebih mampu mempertahankan struktur protein PTP1B ketika saling berinteraksi dibandingkan dengan L-Phenylalanine. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan oleh Oyewusi *et al.* (2024), yang menyatakan bahwa nilai SASA yang tinggi menandakan relaksasi struktural dan berkurangnya stabilitas struktur protein.

Dilakukan analisis Rg terhadap protein PTP1B yang berinteraksi dengan masing-masing ligan yang dapat dilihat pada **Gambar 11** berikut.



Gambar 11. Grafik Rg dari protein PTP1B

Rg dianalisis pada struktur PTP1B yang berinteraksi dengan lithocholic acid dan L-Phenylalanine selama 20 ns. Hasil simulasi menunjukkan bahwa nilai Rg PTP1B-Lithocholic acid stabil pada nilai rata-rata 19,31 Å setelah 20 ns, dengan fluktuasi minimal ($<0,5$ Å) hingga akhir simulasi. Pada kompleks PTP1B-L-Phenylalanine, nilai Rg juga stabil pada nilai rata-rata 19,37 Å setelah 20 ns, dengan fluktuasi minimal ($< 0,5$ Å). Fluktuasi Rg yang rendah mengindikasikan bahwa interaksi antara protein PTP1B baik dengan lithocholic acid dengan L-Phenylalanine dapat mempertahankan struktur yang kompak selama simulasi dan mencerminkan stabilitas konformasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Rahimi *et al.* (2023), yang menyatakan bahwa fluktuasi Rg yang kurang dari 2 Å menandakan sistem protein yang stabil.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil LC-HRMS, terdapat 36 senyawa bioaktif yang teridentifikasi dari ekstrak *A. platensis*. Hasil analisis kualitas protein menunjukkan, struktur protein PTP1B (PDB ID: 1Q1M) dan AMPK (PDB ID: 4CFF) memiliki kualitas kristalografi yang cukup baik. Adapun kesimpulan dari penelitian ini, yaitu:

1. Terdapat 7 senyawa dari *Arthrospira platensis*, yaitu L-Phenylalanine,

Nylon cyclic dimer, 3-Methylsulfolene, D-(+)-Pipicolinic acid, Caprolactam, 2-Methylpyrrolidine, dan (8E)-2-amino-8-octadecene-1,3,4-triol yang memiliki karakteristik fisikokimia dan biologis yang baik, ditinjau dari prediksi bioavailabilitas, farmakokinetika, toksisitas, dan aktivitas biologis.

2. Terdapat 1 senyawa bioaktif dari *Arthrospira platensis* yang memiliki potensi sebagai kandidat aktivator protein AMPK dan inhibitor protein PTP1B yaitu L-Phenylalanine. L-Phenylalanine menghasilkan afinitas ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan metformin ketika berikatan dengan AMPK, namun sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan lithocholic acid ketika berikatan dengan PTP1B. Ditinjau dari hasil simulasi dinamika molekuler, interaksi antara L-Phenylalanine dengan AMPK menghasilkan struktur protein yang lebih stabil dan kompak dibandingkan dengan kontrol metformin. Interaksi antara L-Phenylalanine dengan PTP1B juga menghasilkan struktur yang stabil dan kompak, hampir sama dengan lithocholic acid. Dari temuan di atas, dapat disimpulkan bahwa L-Phenylalanine memiliki potensi

sebagai ligan dari protein AMPK dan PTP1B yang digunakan dalam penanganan DMT2.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin S, Nugraha AC, dan Maulidya SAI. 2022. *Skrining Virtual Senyawa Alkaloid Sebagai Inhibitor Main Protease Untuk Kandidat Anti-Sars-Cov-2*. DeePublish, Sleman, Yogyakarta.
- Aziz A, Marlina, dan Febrian MB. 2010. Karakteristik fisiko-kimia senyawa bertanda 175 Yb-EDTMP. *Jurnal Sains Dan Teknologi Nuklir Indonesia* 9(1).
- Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, and Preissner R. 2018. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research* 46(W1): W257-W263. <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>.
- Bell EW, and Zhang Y. DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. 2019. *J Cheminform* 11(40.) <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0362-7>
- Bibi Z. 2008. Role of cytochrome P450 in drug interactions. *Nutrition and Metabolism* 5(1): 27. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-5-27>.
- Citi V, Torre S, Flori L, Usai L, Aktay N, Dunford NT, Lutz GA, and Nieri P. 2024. Nutraceutical Features of the Phycobiliprotein C-Phycocyanin: Evidence from *Arthrospira platensis* (*Spirulina*). *Nutrients* 16(11): 1752. <https://doi.org/10.3390/nu16111752>.
- Dai L, Zhang J, Wang X, Yang X, Pan F, Yang L, and Zhao Y. 2022. Protein DEK and DTA aptamers: Insight into the interaction mechanisms and the computational aptamer design. *Frontiers in Molecular Biosciences* 9: 946480. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.946480>.
- Daniel N, Ferdinand F, and Aditya PA. 2023. In silico targeting CYP51 of *Naegleria fowleri* using bioactive compounds from Indonesian plants. *Journal of Pharmacy and Pharmacognosy Research* 11(5): 841-862. https://doi.org/10.56499/jppres23.1693_11.5.841.
- Derewenda ZS. 2023. C-H groups as donors in hydrogen bonds: A historical overview and occurrence in proteins and nucleic acids. *International Journal of Molecular Sciences* 24(17): 13165. <https://doi.org/10.3390/ijms241713165>.
- Filipe HAL and Loura LMS. 2022. Molecular dynamics simulations: Advances and applications. *Molecules* 27(7): 2105. <https://doi.org/10.3390/molecules27072105>.
- Ghahremanian S, Rashidi MM, Raeisi K, and Toghraie D. 2022. Molecular dynamics simulation approach for discovering potential inhibitors against SARS-CoV-2: A structural review. *Journal of Molecular Liquids* 354: 118901. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118901>.
- Hardjono S. 2016. Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 14(2): 246-255.
- Hirano T. 2018. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 25(9): 771-782. <https://doi.org/10.5551/jat.RV17023>.
- Horowitz S and Trievel RC. 2012. Carbon-oxygen hydrogen bonding in biological structure and function. *Journal of Biological Chemistry* 287(50): 41576-41582. <https://doi.org/10.1074/jbc.R112.418574>.
- Hu S, Fan X, Qi P and Zhang X. 2019. Identification of anti-diabetes peptides from *Spirulina platensis*. *Journal of*

- Functional Foods* 56: 333-341.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.03.024>.
- Ibrahim ZY, Uzairu A, Shallangwa GA, and Abechi SE. 2021. Pharmacokinetic predictions and docking studies of substituted aryl amine-based triazolopyrimidine designed inhibitors of *Plasmodium falciparum* dihydroorotate dehydrogenase (PfDHODH). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 7(1): 130.
<https://doi.org/10.1186/s43094-021-00288-2>.
- Izzatunnafis, Murti BY, and Sudarmanto BSA. 2023. In silico pharmacokinetic and toxicity prediction of compounds from *Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees. *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences* 11(2): 830-838.
- Kołodziej-Sobczak D, Sobczak L, and Łączkowski KZ. 2024. Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B): A comprehensive review of its role in pathogenesis of human diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 25(13): 7033.
<https://doi.org/10.3390/ijms25137033>.
- Lipinski CA. 2004. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* 1(4): 337-341.
<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
- Madushanka A, Moura RT, Verma N, and Kraka E. 2023. Quantum mechanical assessment of protein-ligand hydrogen bond strength patterns: Insights from semiempirical tight-binding and local vibrational mode theory. *International Journal of Molecular Sciences* 24(7): 6311.
<https://doi.org/10.3390/ijms24076311>.
- Moon DO. 2024. Plant-derived flavonoids as AMPK activators: Unveiling their potential in type 2 diabetes management through mechanistic insights, docking studies, and pharmacokinetics. *Applied Sciences* 14(19): 8607.
<https://doi.org/10.3390/app14198607>.
- Morris-Schaffer K and McCoy MJ. 2021. A review of the LD50 and its current role in hazard communication. *ACS Chemical Health and Safety* 28(1): 25-33.
<https://doi.org/10.1021/acs.chas.0c00096>.
- Munjal NS, Shukla R, and Singh TR. 2019. Chemometric approach to estimate kinetic properties of paclitaxel prodrugs and their substructures for solubility prediction through molecular modelling and simulation studies. *Journal of Chemometrics* 33(11): e3181.
<https://doi.org/10.1002/cem.3181>.
- Oyewusi HA, Wahab RA, Akinyede KA, Albadrani GM, Al-Ghadi MQ, Abdel-Daim MM, Ajiboye BO, and Huyop F. 2024. Bioinformatics analysis and molecular dynamics simulations of azoreductases (AzrBmH2) from *Bacillus megaterium* H2 for the decolorization of commercial dyes. *Environmental Sciences Europe* 36(1): 22.
<https://doi.org/10.1186/s12302-024-00853-5>.
- Pappalardo F, Russo G, Corsini E, Painsi A, and Worth A. 2022. Translatability and transferability of in silico models: Context of use switching to predict the effects of environmental chemicals on the immune system. *Computational and Structural Biotechnology Journal* 20: 1764-1777.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.03.024>.
- Pires DEV, Blundell TL, and Ascher DB. 2015. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry* 58(9): 4066-4072.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- Rahimi M, Taghdir M, and Abasi Joozdani F. 2023. Dynamozones are the most obvious sign of the evolution of

- conformational dynamics in HIV-1 protease. *Scientific Reports* 13(1): 13962. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40818-x>.
- Rollando R, Chandra MD, Aftoni MH, and Swastika W. 2024. Molecular docking and molecular dynamic studies of secondary metabolites from *Momordica charantia* as natural antidiabetic. *Jurnal Farmasi Galenika* 10(1): 117-140. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2024.v10.i1.15976>.
- Si D, Moritz SA, Pfab J, Hou J, Cao R, Wang L, Wu T, and Cheng J. 2020. Deep learning to predict protein backbone structure from high-resolution cryo-EM density maps. *Scientific Reports* 10(1): 4282. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60598-y>.
- Soremekun C, Jjingo D, Kateete D, Nash O, Grallert H, Peters A, Chikowore T, Batini C, Soremekun O, and Fatumo S. 2024. Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant insulin receptor gene. *Next Research* 1(2): 100041. <https://doi.org/10.1016/j.nexres.2024.100041>.
- Stampfer HG, Gabb GM, and Dimmitt SB. 2019. Why maximum tolerated dose? *British Journal of Clinical Pharmacology* 85(10): 2213-2217. <https://doi.org/10.1111/bcp.14032>.
- Susmi TF, Rahman Khan MM, Rahman A, Mahmud S, Saleh MA, Reza MA, and Rahi MS. 2022. In vitro antioxidant and cytotoxicity activities and in silico anticancer property of methanolic leaf extract of *Leucas indica*. *Informatics in Medicine Unlocked* 31: 100963. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.100963>.
- Yan A, Wang Z, and Cai Z. 2008. Prediction of human intestinal absorption by GA feature selection and support vector machine regression. *International Journal of Molecular Sciences* 9(10): 1961-1976. <https://doi.org/10.3390/ijms9101961>.