

PEMODELAN in silico INHIBITOR GSK-3 β (CHIR99021, CHIR98014, AZD1080, TWS119) DAN TURUNAN ZERUMBON TERHADAP PROTEIN 4PTG MELALUI PERANGKAT LUNAK PyRx

Raden Roro Shafira Meisy Sudarsono¹⁾, Hana Dwi Puspita Sari²⁾, Agung Beny Santosa³⁾, Dyah Ayu Resti Lailya Anggraini⁴⁾ dan Broto Santoso⁵⁾

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah Indonesia

¹email: shafirameisy@gmail.com

²email: hdpuspitasari@gmail.com

³email: bbeny422@gmail.com

⁴email: restilailya@gmail.com

⁵email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstract

Glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) is a serine / threonine kinase whose activity is related to various diseases such as diabetes, cancer, Alzheimer's, and stroke. In silico method is one of the choice to study and look for GSK-3 inhibitor compounds that are potent, selective, and has the potential to be developed as a drug. There are four reported compounds that have potential as an inhibitors of GSK-3, namely CHIR99021, CHIR98014, AZD1080 and TWS119, along with 40 dataset compounds, 50 decoys and derived molecules from zerumbon as novel compounds used for molecular docking run by a laptop (Toshiba PICO DJV with specifications: Intel® Atom™ N280 1GB RAM , OS Windows 7 32 bit), target protein and the native ligand were prepared using Chimera and then converted from 2D into 3D structures with Marvin. Docking proceed with Autodock and Vina method (PyRx). Results are visualized with PyMOL and PLIP. CHIR99021, CHIR98014 and AZD1080 are a selective inhibitor of GSK-3 isoforms α and β . TWS119 is a selective inhibitor of GSK-3 β isoforms belong to pyrrolopyrimidine groups. PyRx results showed that from 4 potentially reported compound, one of them (CHIR98014) is not better than the native ligand with binding affinity only 13.11%. Novel compounds (ZER08) with binding affinity of 99.8% compared to the dataset is considered as a potential compound to be tested further in laboratory as an anti-diabetes with mechanism as GSK-3 isoform β inhibitor.

Keywords: GSK-3 β inhibitor, Molecular Docking, PyRx, Vina-AutoDock, Zerumbone

1. PENDAHULUAN

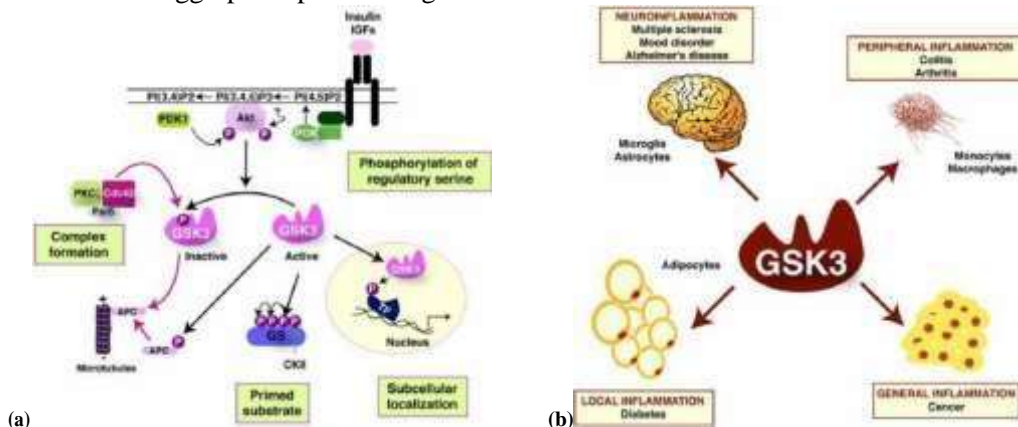
Diabetes mellitus hingga saat ini masih merupakan penyakit yang menjadi salah satu penyebab kematian tertinggi di dunia. Diabetes tipe 2 ditandai dengan kerusakan sel β pankreas atau resistensi insulin di jaringan. Insulin mengontrol kadar gula darah dengan cara mentransfer glukosa ke sel dalam jaringan menjadi glikogen (Dipiro et al., 2008). Pada saat yang sama, pembentukan glikogen pada sel dapat ditahan melalui mekanisme fosforilasi dan inaktivasi enzim glikogen sintase (GS) (Saltiel, 1996). Insulin secara tak langsung mengompensasi aksi GS dengan jalur *signalling cascade* yang dimulai dengan fosforilasi substrat, termasuk *insulin receptor substrate 1* (IRS-1) oleh tirosin kinase (TK) yang diaktivasi oleh reseptor insulin. Tirosin terfosforilasi IRS-1

memulai peristiwa aktivasi glikogen sintase kinase 3 (GSK-3; aktif pada *resting cell*) dan defosforilasi GS (Whitehead et al., 2000) sehingga GS menjadi inaktif dan perubahan glukosa menjadi glikogen pada jaringan terhambat.

Glikogen sintase kinase 3 (GSK-3) merupakan kinase serine/threonine yang diekspresikan sebagai 2 isoenzim (isoform), yakni α dan β . Overekpresi GSK-3 diketahui berpengaruh terhadap beberapa penyakit seperti diabetes, kanker, Alzheimer's, stroke, dan kanker (Jope et al., 2007). GSK-3 α dan β memiliki kesamaan pada domain katalitik tetapi berbeda pada terminal -N dan -C. Area terminal-C pada GSK-3 β diketahui sebagai *inhibitory site* (Finkelman & Martinez, 2011). Reseptor insulin dapat menstimulasi *signaling cascade* sehingga Akt terfosforilasi

menjadi aktif dan akan menghambat GSK-3 (Jope et al., 2007). Overekspresi GSK-3 menyebabkan resistensi insulin pada subjek uji tikus dan manusia. Aktivitas GSK-3 meningkat pada subjek uji roden dengan diabetes akibat obesitas (Brozinick et al., 2000) dan level protein GSK-3 di biopsi otot ditemukan lebih tinggi pada pasien dengan

diabetes tipe 2 daripada subjek normal (Nikoulina et al., 2000). Melihat pengaruh GSK-3 pada regulasi homeostasis glukosa, maka pengembangan senyawa (obat) anti-diabetes dengan target inhibisi GSK-3 diharapkan dapat menjadi agen terapeutik yang lebih poten dan aman.



Gambar 1. Mekanisme aksi GSK-3 (reseptor insulin) (a) dan aksi GSK-3 yang aktif (overekspresi) berhubungan dengan beberapa penyakit (Jope et al., 2007)

Kation lithium (Li) merupakan inhibitor GSK-3 alami yang pertama kali ditemukan. Lithium (garam Li) digunakan untuk pengobatan penyakit saraf seperti *mood disorder*, depresi, Alzheimer's dan *bipolar disorder*. Lithium menghambat GSK-3 secara langsung kompetitif dengan ion magnesium dan secara tidak langsung dengan meningkatkan fosforilasi dan autoregulasi serine (Zhang et al., 2003). Tetapi, penggunaan lithium untuk meneliti GSK-3 tidak ideal karena membutuhkan kadar ion yang cukup banyak (5-10 mmol/L) dan kurang dapat ditoleransi untuk uji dengan kultur sel dalam jangka waktu yang lama (Ring et al., 2003).

Penelitian terkait pengobatan anti-diabetes semakin banyak dilakukan terkait sifat penyakit tersebut yang tidak bisa disembuhkan secara permanen dan bersifat menurun. Senyawa Zerumbon yang merupakan komponen dari ekstrak tanaman famili Zingiberaceae yang secara farmakologis memiliki aktivitas biologis diantaranya antiinflamasi, antikanker, antimikroba, dan antioksidan. Selain itu, zerumbon juga memiliki aktivitas anti-

diabetes yang diketahui dari penelitian *docking* molekular yang pernah dilakukan sebelumnya oleh Santoso *et al.* (2014), yakni prediksiaktivitas senyawa turunan zerumbon secara 3D molekular menunjukkan potensi yang lebih baik dibandingkan dengan *native* ligand dari protein target uji. Potensi interaksi molekular ini diperoleh 60% dari total protein target yang digunakan. Protein target uji yang dilakukan pada enzim GSK-3 terhadap zerumbon yaitu 4PTE, 4ACC, 4AFJ, 3ZRK, 3GB2, 3DU8, 1Q5K, 1UV5, 1Q3W, 1Q3D (Santoso *et al.*, 2015). Uji potensi molekular terhadap protein target 4PTG belum dilakukan pada penelitian sebelumnya. Berdasarkan hasil penelitian tersebut menjadi landasan dilakukannya uji secara *in silico* senyawa zerumbon terhadap protein target 4PTG yang memiliki potensi sebagai inhibitor glikogen sintase kinase-3 tipe beta (GSK-3 β).

2. KAJIAN LITERATUR

Inhibitor enzim GSK-3 yang poten telah dilaporkan, yakni CHIR98014 dan CHIR99021 yang memiliki IC₅₀ terhadap GSK-3 α sebesar 0,65 dan 10 nmol/L,

sedangkan pada GSK-3 β sebesar 0,59 dan 6,7 nmol/L. Senyawa ini merupakan turunan dihidropirimidin yang sangat poten menghambat GSK-3 β manusia dengan Ki 0,87 dan 9,8 nmol/L dan lebih selektif dengan *fold* 500 hingga lebih dari 10.000 terhadap GSK-3 dibanding 20 protein kinase lain yang diuji (Ring et al., 2003). Senyawa CHIR berperan sebagai inhibitor kompetitif ATP dan pada penelitian Ring et al. (2003), senyawa ini mengaktifasi GS pada kultur sel dan pada isolat otot rangka tikus diabetes tipe 1, serta meningkatkan pemecahan glukosa secara *in vivo* pada tikus diabetes tipe 2. Senyawa TWS119 juga merupakan inhibitor farmakologis GSK-3 yang diteliti dapat beraksi diferensiasi saraf (neurogenesis) yang digunakan untuk *stem cell* embrionik (ECS). Senyawa ini masuk ke dalam kelas pyrrolopyrimidine dengan IC₅₀ terhadap GSK-3 β sebesar 0,030 μ M (Meijer et al., 2004). Ding et al. (2003) mengemukakan bahwa sel kanker embrionik P19 yang diberi perlakuan 1 μ M TWS119 menyebabkan 30-40% sel berdiferensiasi secara spesifik menjadi *neuronal lineages* dan hal ini dapat menentukan takdir hidup sel. TWS119 berinteraksi menghambat GSK-3 pada sel P19 melalui jalur sinyal Wnt dengan *downstream* transkripsi sel. Selain ketiga senyawa diatas, AZD1080 juga ditemukan sebagai inhibitor GSK-3 yang poten dan selektif dengan mekanisme kerja menghambat fosforilasi protein atau di sel pada uji preklinik fase I. Senyawa ini berikatan dengan GSK-3 β pada ATP *pocket* dimana cincin oxindole membentuk ikatan hidrogen dengan rangka ATP *pocket*. AZD1080 menghambat GSK-3 α dan β dengan pKi 8.2 (6.9 nM) dan 7.5 (31 nM), serta menunjukkan selektivitas terhadap protein-protein yang berkaitan dengan aksi GSK-3 yakni pada cdk2 (pKi = 5,9), cdk5 (pKi = 6,4), cdk1 (pKi = 5,7), dan Erk2 (pKikurang dari 5) (Georgievska et al., 2013).

Molecular docking berhubungan dengan adanya ligan dan protein target. Protein berperan sebagai kontrol keberadaan molekul ligan. Ligan dapat mengikat protein secara

reversible dan bersifat menstimulasi (katalis) atau menghambat (inhibitor) aktivitas. Reaksi katalis dapat menekan inhibitor kompetitif substrat pada sisi aktif yang sama. Dalam reaksi ini reseptor mengikat ligan tanpa adanya modifikasi kimia. Sedangkan dengan adanya inhibitor kompetitif yang berinteraksi dengan reseptor akan mengubah konformasi reseptor. Perubahan konformasi dapat memicu terjadinya reaksi kimia dari substrat yang terikat ligan inhibitor. Ligan yang dapat mengaktifkan reseptor disebut agonis, inhibitor kompetitif dari ligan disebut sebagai antagonis. Terjadinya ikatan ditandai dengan adanya kesetimbangan kimia secara reversible dan tergantung konsentrasi ikatan agonis dan antagonis. Kekuatan ikatan diukur berdasarkan nilai afinitas yang diperoleh dari ikatan antara ligan dan protein target (Buehler, 2015).

Salah satu faktor yang berpengaruh dari kesuksesan *docking* molekuler adalah kualitas dari fungsi skoring *docking* tersebut. Fungsi skoring yang tidak sempurna dapat menyesatkan jika memprediksi ligan geometris yang salah atau memilih ligan yang benar tetapi tidak dapat berikatan sehingga tidak memiliki aktivitas. Hasil yang menyesatkan tersebut dianggap sebagai -decoys. Decoys merupakan alat untuk memperbaiki fungsi skoring pada *docking* molekuler. Decoys akan melakukan pengujian pada algoritma *docking*, semakin rumit suatu decoys maka akan semakin teliti pengujiannya. *Database* decoys digunakan untuk meningkatkan algoritma prediksi struktur protein dan algoritma *docking* protein-protein (Graves, 2005). Tujuan dari percobaan ini adalah mengetahui hasil *molecular docking* menggunakan *software* PyRx dengan berbagai metode yaitu Vina, AD-LGA, AD-GA, dan AD-SA untuk mendapatkan senyawa baru yang dapat berpotensi sebagai obat anti-diabetes dengan mekanisme menghambat glikogen sintase kinase-3 tipe beta (GSK-3 β). Diharapkan desain obat dengan metode *in silico* dapat mempermudah penemuan senyawa baru anti-diabetes dengan otensi yang sama dengan pendahulunya atau bahkan lebih baik.

3. METODE PENELITIAN

Alat

Perangkat laptop Axioo PICO DJV Model dengan spesifikasi prosesor Intel® Atom™ CPU N280 1.66 GHz, RAM 1GB, VGA on board Mobile Intel® 945 Express Chipset Family 251 MB, OS Windows 7 32 bit (6.1, Build 7600). Marvin Bean 15.4.20, EditPlus 4.0.631, Microsoft Office Excel 2007, Chimera 1.10.2, PyRx 0.9.2, Open Babel GUI, PyMOL 1.6.9.0, PLIP.

Bahan

Protein target 4PTG dengan *native ligand* 2WG. Struktur kimia dari senyawa uji (novel) yang digunakan yaitu turunan zerumbon. Senyawa aktif obat yang digunakan sebagai senyawa standar untuk perbandingan adalah CHIR 98014, CHIR 99021, TWS119, dan AZD1080.

Langkah Pengerjaan

File protein 4PTG dibuka menggunakan *EditPlus*, jika ditemukan ANISOU maka perlu dihilangkan dengan menggunakan PDBBest. Hasil protein target dari PDBBest (4PTG) dan juga *native ligand* (2WG) dipreparasi dengan Chimera untuk menghilangkan residu. Struktur senyawa obat 2 dimensi (2D) dikonversi menjadi 3 dimensi (3D) menggunakan MarvinBean. PyRx versi 0.9.2 digunakan untuk melakukan simulasi *docking*. *Center of mass* (COM, pusat masa) *native ligand* diatur koordinatnya x; y; dan z menjadi 4,023; -0,129; dan 35,704 sesuai dengan hasil preparasi *native ligand* dengan proteinnya. *Docking* dilakukan dengan menggunakan metode Vina dan AutoDock Wizard (LGA, GA, dan SA). Visualisasi hasil *docking* molekular menggunakan perangkat lunak PyMOL dan PLIP untuk mengetahui residu-residu yang berkontribusi pada interaksi protein-ligand. Data hasil berupa skor afinitas ikatan dan residu protein-ligand yang berinteraksi dianalisis persamaannya dengan *native ligand* masing-masing metode *docking*.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Enzim Glikogen Sintase Kinase-3 (GSK-3) merupakan protein kinase yang memiliki peran penting dalam regulasi siklus sel jalur Wnt dan Hedgehog, pembaruan *stem cell* dan diferensiasinya, apoptosis, ritme sirkadian, transkripsi, dan regulasi aksi insulin. Banyak studi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa inhibitor farmakologis GSK-3 dapat digunakan untuk pengobatan berbagai macam penyakit seperti Alzheimer's dan penyakit degeneratif saraf lain, *bipolar disorder*, dan diabetes mellitus. Lebih dari 30 inhibitor GSK-3 telah ditemukan baik dari alam maupun sintesis, inhibitor kompetitif ATP dan inhibitor non-kompetitif ATP. Senyawa perbandingan yang dipilih yakni CHIR99021, CHIR98014, TWS119, dan AZD1080 merupakan senyawa organik sintesis berukuran kecil yang telah dilaporkan poten menghambat GSK-3 dalam skala nanomolar. Senyawa AZD1080 sudah dalam uji klinik fase I pada manusia, bioavailabilitasnya secara oral baik dan dapat menembus sawar otak (*brain permeable*) untuk berinteraksi dengan GSK-3 yang ada di otak (saraf).



Gambar 2. Protein 4PTG hasil preparasi Chimera

Molecular docking merupakan metode penelitian yang memberikan gambaran struktur kompleks dari ligan-reseptor/protein dengan perhitungan *binding affinity*. Pendekatan *molecular docking* dapat digunakan untuk mengetahui model interaksi antara molekul kecil dengan protein di tingkat atom. Pada penelitian ini dilakukan *docking* senyawa perbandingan dengan senyawa uji novel (zerumbon), kemudian dibandingkan hasil afinitas ikatan molekul hasil *docking* dengan *native ligand* (2WG) terhadap protein target GSK-3. Protein target

(4ptg) diperoleh dari database www.pdb.org dan dilakukan pengecekan *script* protein menggunakan EditPlus untuk melihat ada tidaknya kode ANISOU dalam protein. Adanya kode ANISOU dapat mengganggu *docking* dan visualisasi struktur, yakni molekul akan tampak ganda atau ada struktur bayangan (pencerminan). Kode ANISOU dihilangkan dengan menggunakan PDBest. Lalu dilakukan optimasi struktur 3D protein target serta senyawa uji dengan menggunakan MarvinSketch. Optimasi struktur 2D ke 3D diperlukan untuk melihat hasil konformasi molekul senyawa dalam 3D sebelum dilakukan *molecular docking*, karena senyawa diposisikan dalam koordinat

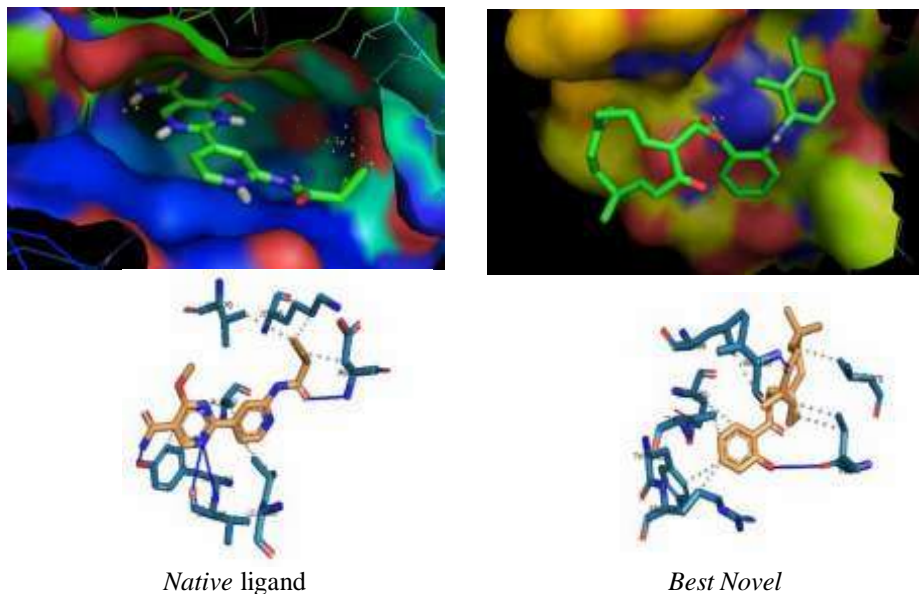
xyz (3D) dapat mempengaruhi hasil akhir dari interaksinya dengan protein target saat proses *docking*. Setelah itu dilakukan preparasi untuk memisahkan protein dengan ligand menggunakan Chimera dan didapatkan data pusat mass *native* ligand yang selanjutnya digunakan dalam *docking* molekular sebagai *center of mass* (COM) *pocket binding site*. Molekul air pada protein diabaikan atau dihilangkan saat preparasi. *Docking* masing-masing senyawa uji dilakukan dengan PyRx menggunakan empat metode berbeda, yakni Vina dan AutoDock metode Simulated Annealing (SA), Traditional Genetic Algorithm (GA), dan Lamarckian Genetic Algorithm (LGA).

Tabel 1. Afinitas ikatan hasil skrining molekular menggunakan PyRx

Senyawa	Binding affinity (kcal/mol)			
	Vina	AD-LGA	AD-GA	AD-SA
<i>native ligand</i>	-7,5	-6.11	-5,72	-3,19
CHIR99021	-7,5	-6.93	-6,24	-5,23
CHIR98014	-8,2	-6.2	-4,97	-2,16
AZD1080	-9,1	-8.31	-7,48	-5,95
TWS119	-8,9	-7.88	-7,77	-3,83
Best Dataset 1	-11,1 (bdb071)	-8,02 (bdb883)	-9,8 (bdb699)	-6,18 (bdb071)
Best Dataset 2	-10,2 (bdb8168)	-7,99 (bdb8686)	-8,87 (bdb8168)	-6,09 (bdb7492)
Best Novel 1	-10,2 (zer12-3a)	-8,01 (zer08)	-5,68 (zer17)	-5,66 (zer)
Best Novel 2	-10,1 (zer17)	-7,9 (zer12)	-5,42 (zer11)	-5,31 (zer08)
Best Decoys 1	-10,7 (zinc497)	-8,03 (zinc949)	-10,16 (zinc604)	-8,29 (zinc059)
Best Decoys 2	-10,7 (zinc2514)	-7,79 (zinc6867)	-9,58 (zinc9918)	-5,75 (zinc2779)

Skor *docking* molekular berupa afinitas ikatan (*binding affinity*) merupakan parameter kemampuan senyawa atau obat untuk berikatan dengan reseptornya. Hasil *docking* molekular empat senyawa (obat) pembandingan uji dengan menggunakan empat metode berbeda (Vina, LGA, GA dan SA), terdapat satu senyawa yang memberikan hasil tidak lebih baik dari *native* ligand yakni CHIR98014. CHIR98014, TWS119 dan AZD1080 memberikan hasil afinitas ikatannya dengan protein lebih baik dibandingkan *native* ligand, dengan skor afinitas ikatan diatas *native* ligand. Sedangkan skor afinitas ikatan CHIR98014 dengan metode GA dan SA lebih rendah dengan persentase sebesar 13,11% dan 32,19% dibandingkan *native* ligand (Tabel 1). Skor afinitas ikatan hasil *docking* molekular

menunjukkan potensi atau prospek senyawa uji untuk dikembangkan lebih lanjut di laboratorium. Sehingga, senyawa CHIR98014 hasil *docking* tidak dianggap memiliki prospek untuk dikaji lebih lanjut di laboratorium. Hasil visualisasi *native* ligand, senyawa pembandingan, senyawa novel (uji), dataset dan decoy terhadap protein target menggunakan PyMOL (Gambar 4) menunjukkan semua konformasi ligand berinteraksi pada *pocket binding site* dari protein 4PTG. Hal ini membuktikan bahwa metode *docking* molekular Vina dan AutoDock selektif dalam perhitungan interaksi secara komputasi ligand-protein dengan *center of mass* yang digunakan untuk *gridbox* adalah ruang molekular protein target dimana ligand dapat berikatan dan berinteraksi dengan proteintarget.



Gambar 3. Konformasi 3D hasil *docking* terhadap protein 4PTG (GSK-3 β) dengan AutoDock metode LGA (terbaik). Warna biru merupakan permukaan *binding site pocket* dari protein. Warna kuning (PyMOL) dan garis putus-putus (PLIP) merupakan ikatan hidrogen. Visualisasi hasil PyMOL (atas) dan hasil PLIP (bawah).

Senyawa dataset (memiliki aktivitas) yang digunakan sebanyak 40 dan senyawa decoy (tidak memiliki aktivitas) sebanyak 50. Hasil *docking* molekular mengkaji interaksi kimia secara virtual senyawa dataset dan decoy didapatkan berupa afinitas ikatan yang hasilnya mendekati -10 dan bahkan ada yang melebihi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dataset dan decoy memiliki afinitas ikatan yang tinggi terhadap protein. Skor afinitas ikatan dataset dan decoy digunakan sebagai pembandingan hasil dari senyawa novel yang diujikan, yakni turunan zerumbon. Secara farmakologis zerumbon memiliki aktivitas biologis sebagai antiinflamasi, antikanker, antimikroba, dan antioksidan. Selain itu, zerumbon juga memiliki aktivitas anti-diabetes yang diketahui dari penelitian *docking* molekular yang pernah dilakukan sebelumnya dengan protein target (Santoso *et al.*, 2014). Hasil *docking* molekular turunan zerumbon (senyawa novel) terhadap protein target yang paling baik adalah dengan metode LGA (Tabel 1). Senyawa ZER08 metode LGA memiliki afinitas ikatan sebesar -8,01 dengan persentase 99,8% hampir sama dengan afinitas ikatan dataset pembandingan dengan

besar afinitas ikatan -8,02. Maka, ZER08 hasil *docking* dengan metode LGA merupakan senyawa novel yang memiliki prospek untuk diteliti lebih lanjut di laboratorium. Visualisasi hasil *docking* ZER08 dengan PyMOL dibandingkan dengan *native* ligand (2WG) dan hasil PLIP disertai dengan residu asam amino yang berkontribusi untuk interaksi protein-ligand (Gambar 3).

Residu-residu protein yang berinteraksi dengan senyawa uji sebagai ligand dan protein ditunjukkan dalam Tabel 2. Senyawa-senyawa uji (*ligand*) tiap metode *docking* menunjukkan hasil memiliki kemiripan pada residu-residu untuk berinteraksi dengan protein target (Tabel 2, ditandai dengan huruf tebal). Kemiripan residu untuk berinteraksi ligand dengan protein dibandingkan dengan residu *native* ligand mendukung hasil bahwa senyawa yang diujikan dapat memiliki aktivitas yang sama atau bahkan lebih baik. Residu ALA83 memiliki kontribusi utama dalam hasil akhir *docking* molekular dengan keempat metode (Vina dan AutoDock) untuk interaksi hidrofobik (HI) antara ligand dan protein. Sedangkan ikatan hidrogen (HB) yang terjadi dipengaruhi oleh residu VAL135

dan TYR134. Residu asam amino *native* ligand dijadikan pembandingan residu yang terlibat pada interaksi ligand uji dan protein. Hal menarik yang ditemukan pada hasil penelitian adalah terdapat senyawa uji yang residu proteinnya berbeda dengan

native ligand. Kemungkinan dari fenomena ini adalah senyawa tersebut memiliki mekanisme interaksi yang berbeda tetapi menghasilkan respon aktivitas biologis yang sama.

Tabel 2. Interaksi protein ligan (PLIP)

Senyawa	Vina	AD-LGA	AD-GA	AD-SA
<i>Native ligand</i> :2WG	HI : ILE 62, ALA 83, TYR 134, THR 138, LEU 188 HB : TYR 134, VAL 135, ARG 141	HI: VAL-70, ALA-83, LYS-85, TYR-134, LEU-188, ASP-200 HB: TYR-134, VAL-135, ASP-200	HI: ILE 62, VAL 70, LEU 132, TYR 134 HB: ILE 62, LYS 85 GLU 97, ASP 200, PHE 201	HI: VAL 70, ALA 83 HB: TYR 134, VAL 135, ARG 141
CHIR99021	HI : ALA 83, THR 138, LEU 188 HB : ASN 64, ASN 186, ASP 200	HI: ILE-62, VAL-70, LYS-85, LEU-132, LEU-188 HB: TYR-134, VAL-135, ARG-141	HI: ILE 62, VAL 70, LYS 85, LEU 132 HB: ILE 62, VAL 135, GLU 137, ARG 141	HI: ILE 62 HB: ILE 62, ARG 141
CHIR98014	HI : PHE 67, VAL 70, THR 138 HB : LYS 85, PRO 136, ASN 186, ASP 200	HI: ILE-62, ALA-83, TYR-134, LEU-188 HB: ASN-64, TYR-134, GLN-185	HI: THR 138, LEU 188 HB: TYR 134, VAL 135, ARG 141	HI: THR 138, LEU 188 HB: GLN 185
AZD1080	HI : ILE 62, PHE 67, VAL 70, ALA 83, TYR 134, LEU 188 HB : TYR 134, LYS 183	HI: VAL-70, ALA-83, VAL-110, LEU-132, LEU-188 HB: LYS-183, ASP-200	HI: VAL 110, LEU 132, LEU 188 HB: ASP 133, VAL 135	HI: ILE 62, TYR 134, LEU 188 HB: LYS 183
TWS119	HI : ILE 62, PHE 67, VAL 70, LYS 85, LEU 188, ASP 200 HB : TYR 134, VAL 135, ASN 186	HI: ILE-62, ALA-83, LEU-132, TYR-134, ASP-200 HB: ILE-62, LYS-85, GLU-97, VAL-135, ASP-200	HI: ALA 83, TYR 134, THR 138, ASP 200 HB: LYS 85, GLU 97, ASP 133, TYR 134, VAL 135, ASP 200	HI: ILE 62, TYR 134, LEU 188 HB: ASP 133, VAL 135, ARG 141
Best Dataset 1	HI : ILE 62, PHE 67, ALA 83, TYR 134, THR 138, GLN 185, LEU 188 HB : TYR 134	HI: ALA-83, LEU-132, THR-138, LEU-188 HB: TYR-134, VAL-135, THR-138, ASN-186	HI: ILE 62, VAL 70, ALA 83, LYS 85, LEU 188 HB: ASP 133, TYR 134, VAL 135, ARG 141, GLN 185	HI: PHE 67, ALA 83, LEU 132 HB: LYS 85, VAL 135
Best Novel 1	HI : ILE 62, PHE 67, VAL 70, ALA 83, LYS 85, THR 138, TYR 140, LEU 188 HB : LYS 185, GLN 185, ASN 186	HI: ILE-62, VAL-70, THR-138, TYR-140, ARG-141, GLN-185, LEU-188 HB: ILE-62, VAL-135	HI: TYR 216, ARG 220, ILE 228, PHE 229, VAL 263, LEU 266	HI: ILE 62, VAL 70, LEU 132, TYR 134, THR 138
Best Decoys 1	HI : ILE 62, PHE 67, VAL 70, LEU 132, TYR 134 HB : LYS 85, TYR 134, PRO 136, ASP 200	HI: ILE-62, VAL-70, ALA-83, LYS-85, VAL-110, LEU-132, LEU-188, ASP-200 HB: VAL-135, ASP-200	HI: PHE 67, ALA 83, LEU 188 HB: TYR 134, VAL 135	HI: PHE 67, LEU 132 HB: VAL 135

5. SIMPULAN

Hasil penelitian *docking* molekular membuktikan bahwa senyawa novel turunan zerumbon yang diujikan memiliki potensi aktivitas anti-diabetes sebagai inhibitor Glikogen Sintase Kinase-3 (GSK-3) isoform β . Hal ini masih perlu penelitian lebih lanjut di laboratorium untuk membuktikan kebenaran hasil kalkulasi pemodelan dengan *docking* molekular.

6. REFERENSI

- Joje RS, Yuskaitis CJ, Beurel E, 2007, Glycogen Synthase Kinase-3 (GSK3): Inflammation, Diseases, and Therapeutics, *Neurochem Res.*2007 ; 32(4-5): 577–595.
- Saltiel AR, 1996, Diverse signaling pathways in the cellular actions of insulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 270:E375–E285.

- Vogel SM, Bauer MR, Boeckler FM, 2011, DEKOIS: Demanding Evaluation Kits for Objective in Silico Screening — A Versatile Tool for Benchmarking Docking Programs and Scoring Functions, *J. Chem. Inf. Model.*, 2011, 51 (10), pp 2650–2665 (<http://www.dekois.com/>).
- Whitehead JP, Clark SF, Urso B, James DE, 2000, Signalling through the insulin receptor. *Curr Opin Cell Biol* 12:222–228.
- Eldar-Finkelman H, Martinez A, 2011, GSK-3 inhibitors: preclinical and clinical focus on CNS, *Frontiers in Molecular Neuroscience*, October 2011, Vol. 4:32.
- Zhang F, Phiel CJ, Spece L, Gurvich N, Klein PS, 2003, Inhibitory phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) in response to lithium, *J. Biol.Chem.* 278, 33067–33077.
- Brozinick JT, Misener EA, Ni B, Ryder JW, 2000, Impaired insulin signaling through GSK3 in insulin resistant skeletal muscle (Abstract), *Diabetes* 49:A326.
- Buehler LK, 2015, An Introduction to Molecular Interaction in Biological Systems, <http://www.whatislife.com/reader/interaction-reader.html>[diakses pada 18 Juni 2016].
- Menf Xuan Yu, Hong-Xing Zang, Mihaly Mezei, Meng Cui, 2011, Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery, *Curr Comput Aided Drug Des.* 1; 7(2): 146–157.
- McConkey BJ, Vladimir S, Marvin E, 2002, The Performance of Current Methods in Ligand-Protein Docking, *Current Science* Vol. 83, No. 7.
- Nikoulina SE, Ciaraldi TP, Mudaliar S, Mohideen P, Carter L, Henry RR, 2000, Potential role of glycogen synthase kinase-3 in skeletal muscle insulin resistance of type 2 diabetes, *Diabetes* 49:263–271.
- Ring DB, *et al.*, 2003, Selective Glycogen Synthase Kinase 3 Inhibitors Potentiate Insulin Activation of Glucose Transport and Utilization In Vitro and In Vivo, *Diabetes* 52:588–595.
- S Ding, TYH Wu, A Brinker, EC Peters, W Hur, NS Gray, PG Schultz, 2003, Synthetic small molecules that control stem cell fate, *PNAS* June 24:100,13:7632–7637.
- L Meijer, M Flajolet, P Greengard, 2004, Pharmacological inhibitors of glycogen synthase kinase 3, *TRENDS in Pharmacological Sciences* ELSEVIER 25, 9:471–481.
- Georgievskaja B, *et al.*, 2013, AZD1080: a novel GSK3 inhibitor, rescues synaptic plasticity deficits in rodent brain and exhibits peripheral target engagement in humans, *J. Neurochem* 125:446–456.
- Jacob RB, Andersen T, McDougal OM, 2012, Accessible high-throughput virtual screening molecular docking software for students and educators. *PLoS Computational Biology*, 8(5).
- Trott O, Olson AJ, 2010, Software news and update AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* 31: 455–461.
- Graves AP, Brenk R, Shoichet BK, 2005. Decoys for docking. *Journal of Medicinal Chemistry*, 48(11), pp.3714–3728.
- Santoso B, Hanwar D, Suhendi A, Kusumowati ITD, Melannisa R., 2014, Docking Molekular Terbalik dari Senyawa Zerumbon. *Prosiding Simposium Penelitian Bahan Obat Alami [SPBOA] XVI & Muktamar XII PERHIPBA*, 23-24 April 2014, 464–474.
- Santoso B, Hanwar D, Suhendi A, 2015, Prediksi 3D-Molekular Aktivitas Turunan Senyawa Polihidroksi Zerumbon Terhadap Glikogen Sintase Kinase 3 Beta (GSK-3 β) Menggunakan DOCK6. *The 2nd University Research Colloquium*.ISSN.2407-9198.