

SIMULASI MOLECULAR DOCKING KONSTITUEN ASAM LEMAK IKAN GABUS (*Channa striata*) PADA FFAR4/GPR120

SIMULATION OF MOLECULAR DOCKING FATTY ACID CONSTITUENTS OF SNAKEHEAD FISH (*Channa striata*) ON FFAR4/GPR120

Mega Kartikasari¹, Syaiful Prayogi², Lukman Hakim³, Feri Kanti Rahayu⁴

^{1,3}Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Harapan Bangsa, Jalan Raden Patah No. 100, Ledug, Purwokerto, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53182, Indonesia

²Program Studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Peradaban, Jalan Raya Pagojengan Km 3 Paguyangan Brebes, Jawa Tengah 52276, Indonesia

⁴Program Studi Farmasi Program Sarjana (S-1), Universitas Bhakti Mandala Husada Slawi, Indonesia

Abstract

In diabetes (Type 2 DM) the production of pro-inflammatory cytokines is high. FFAR4/GPR120 is a free fatty acid receptor that plays a role in reducing pro-inflammatory cytokines. This study was conducted with the aim of estimating the interaction of fatty acid constituents in snakehead fish with FFAR4. The crystal structure of FFAR4 protein was made using homology modeling, the test compounds were used using Marvin Sketch, BDS and MVD were used for docking simulation and visualization. Melatonin receptor type 1B with a Seq Identity value of 26.69% was chosen as a template in homology modeling to produce the FFAR4 model (Ramachandran Favoured (91.67%)). Research shows DHA with a rerank score of -78.843 has the best binding between the other 2 fatty acids.

Keywords: *Channa striata*, DHA, free fatty acid, hyperglycemia

Article Info

Article history

Submission: December 26, 2023

Accepted: January 25, 2023

Publish: January 30, 2023

Abstrak

Kondisi diabetes melitus tipe 2 (DM Tipe 2) mempunyai tingkat sitokin pro inflamasi yang tinggi. FFAR4/GPR120 merupakan reseptor asam lemak bebas yang berperan dalam penurunan sitokin pro inflamasi. Penelitian ini dilakukn dengan tujuan untuk memperkirakan interaksi konstituen asam lemak pada ikan gabus terhadap FFAR4. Struktur kristal protein FFAR4 dibuat menggunakan pemodelan homologi, senyawa uji digunakan menggunakan Marvin Sketch, BDS dan MVD digunakan untuk simulasi docking dan visualisasi. Melatonin receptor type 1B dengan nilai Seq Identity 26.69% dipilih sebagai template pada pemodelan homologi menghasilkan model FFAR4 (Ramachandran Favoured (91.67%)). Penelitian menunjukkan DHA dengan rerank score -78,843 memiliki pengikatan terbaik diantara 2 asam lemak lainnya.

Ucapan terimakasih

Correspondence:

Mega Kartikasari

Program Studi Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Harapan Bangsa, Jalan Raden Patah No. 100, Ledug, Purwokerto,

Kata kunci: *Channa striata*, DHA, asam lemak bebas, hiperglikemia

Kabupaten Banyumas, Jawa
Tengah 53182, Indonesia

Email:

meijikartika@gmail.com

PENDAHULUAN

Diabetes ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah atau hiperglikemia (Perkeni, 2015). Hiperglikemia diabetes berhubungan dengan komplikasi mikrovaskuler jangka panjang yang relatif spesifik serta peningkatan risiko penyakit kardiovaskular (Fiorentino *et al.*, 2013). Diabetes mempunyai resiko terjadinya komplikasi (Leutner *et al.*, 2021). Komplikasi patogenesis melibatkan gangguan metabolisme dan hemodinamik, termasuk hiperglikemia, resistensi insulin, dislipidemia, hipertensi, dan disfungsi imun (Verhulst *et al.*, 2019). Pasien diabetes mempunyai level serum sitokin pro inflamasi yang tinggi seperti prostaglandin E2 (PGE2), 74 TNF- α , IL-6 dan leukotriene B4 (Verhulst *et al.*, 2019). *G-protein-coupled receptors* (GPCRs) merupakan salah satu reseptor dalam pensinyalan anti-inflamasi terkait diabetes. Asam lemak bebas dilaporkan menjadi ligan agonis GPCRs (Carullo *et al.*, 2021). Reseptor asam lemak bebas 4 (FFAR4/GPR120) baru-baru ini diidentifikasi sebagai target terapi yang menjanjikan untuk sekelompok gangguan terkait metabolisme (Hara *et al.*, 2009; Pant and Ravichandiran, 2021). Reseptor tersebut menjadi target obat yang menarik untuk dikaji. Penargetan terhadap reseptor ini dimungkinkan untuk menurunkan sitokin pro-inflamasi pada kondisi diabetes. Penelitian ini mencoba mengeksplorasi ikatan intermolekul ligan GPR120/FFAR4 (Saudale *et al.*, 2020; Carullo *et al.*, 2021) agonis-GPR120 dalam pensinyalan anti-inflamasi terkait diabetes secara *in silico* melalui *docking molecular*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat computer *Windows 11* RAM 8 GB

Processor Intel Core i5 Gen 8th, software Mulegro Virtual Docker, MarvinSketch, dan Discovery Studio Visualizer (DSV). Kristalografi protein target GPR120 dibuat melalui *homologi modeling* dan beberapa model ligan uji (gambar 1) diperoleh dari literatur Carullo *et al.*, 2021.

Preparasi Senyawa Uji dan Protein

Belum tersedianya struktur kristal protein GRP120, maka dilakukan *homologi modeling* untuk membangun prediksi. Penentuan template mengadopsi penelitian yang dilakukan oleh (Nagasawa *et al.*, 2021). Pemodelan *homologi FFAR4* menggunakan *SWISS-Model* (Bordoli *et al.*, 2009; Komari, Hadi and Suhartono, 2020; Gao *et al.*, 2021).

Model ligan/senyawa uji dibuat struktur 2D dan 3D menggunakan *MarvinSketch* dan disimpan dalam format *.mol. Invoke Model Builder menggunakan *HyperChem*, kemudian dilakukan optimasi geometri dengan metode AM1 dengan nilai RMS Gradient sebesar 0,01 kkal/mol dan disimpan dalam format *.mol.

Proses Docking

Validasi metode docking dilakukan dengan menambatkan ligan alami dari protein target menggunakan MVD. Metode docking dikatakan baik jika nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) antara konformasi pose hasil docking dan kristalografi $\leq 2 \text{ \AA}$.

Protein dan ligan yang telah dipreparasi ditambatkan menggunakan metode yang tervalidasi.

Visualisasi dan Analisis Hasil Docking

Hasil docking berupa *score docking* dilakukan peringkat masing-masing ligan uji dan interaksi ligan-protein divisualisasi secara 2D dan 3D

menggunakan DSV untuk melihat interaksi intermolekul.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Melatonin receptor type 1B dengan nilai *Seq Identity* 26.69% dipilih sebagai template pada pemodelan homologi. Diperoleh nilai *Ramachandran Favoured* (91.67%) pemodelan FFAR4.

Selanjutnya, menggunakan hasil pemodelan FFAR4 dilakukan simulasi *docking*, ALA dipilih sebagai ligan *reference* (Nagasawa *et al.*, 2021). Modus pengikatan dengan nilai *rerank score* -65,607 disajikan pada gambar 2.

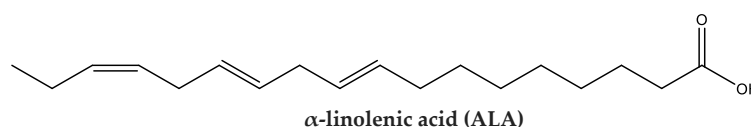
FFAR4 memiliki peran dalam inflamasi. Netralisasi TNF- α memperbaiki resistensi insulin. Pensinyalan anti-inflamasi dimediasi omega-3 di GPR120 untuk mengurangi peradangan (Osborn, 2012). Omega-3 dilaporkan secara efisien menurunkan sitokin-sitokin proinflamasi. Hal ini dapat menunjukkan bahwa pada akhirnya bisa meningkatkan sensitivitas insulin (Souza *et al.*, 2020).

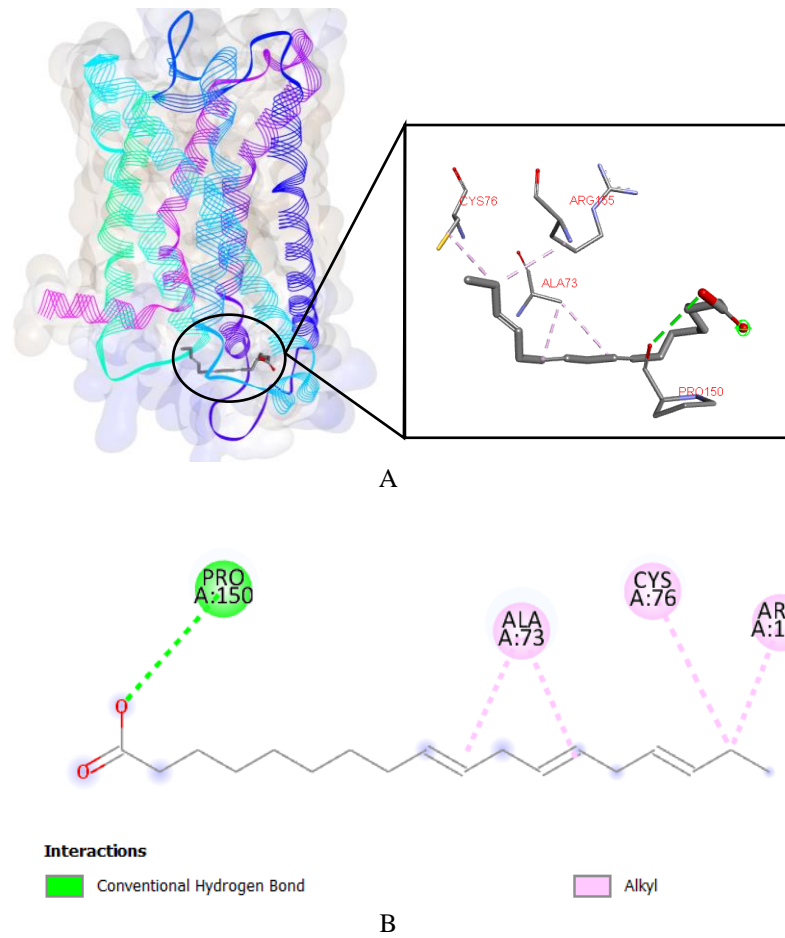
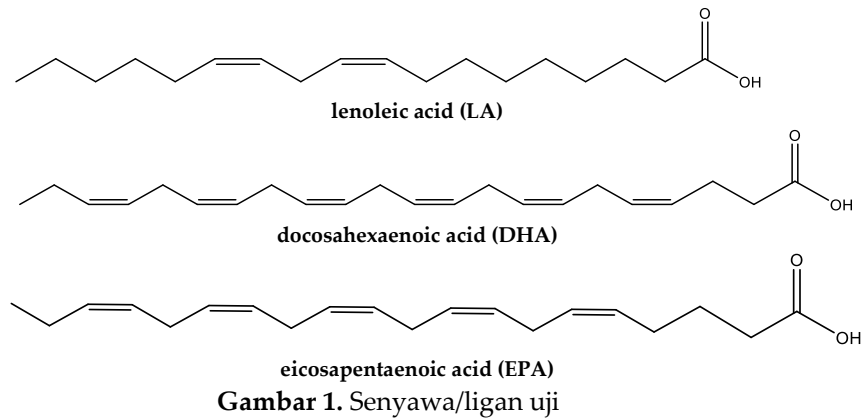
Pada kondisi diabetes level serum sitokin pro inflamasi yang tinggi seperti prostaglandin E2 (PGE2), 74 TNF- α , IL-6 dan leukotriene B4 (Verhulst *et al.*, 2019). Level sitokin tersebut dapat meningkatkan kejadian hiperglikemia (Costea *et al.*, 2020). Peningkatan produksi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α , IL-6 terutama dihasilkan oleh makrofag yang menginfiltrasi jaringan adiposa, hati, otot dan pankreas, yang merupakan tempat utama peradangan diabetes (diabetes melitus tipe 2/DMT2)

(Muga, 2014). Penurunan respon inflamasi dilaporkan sebagai pelindung metabolik yang dapat mengurangi perkembangan resistensi insulin, DMT2 dan infeksi (Orliaguet *et al.*, 2020).

Ikan gabus merupakan ikan air tawar yang telah terbukti mengandung asam lemak tak jenuh tunggal dan ganda, terutama kandungan LA, ALA, EPA, dan DHA yang cukup tinggi (Mustafa *et al.*, 2014).

Asam lemak tak jenuh ganda seperti n-3 dan n-6. Rantai panjang asam lemak tak jenuh ganda (LC-PUFA) seperti asam *eicosapentaenoic* (EPA, 20: 5n-3), asam *docosahexaenoic* (DHA, 22: 6n-3) dan asam arakidonat (ARA, 20: 4n-6) biasanya ditemukan berlimpah pada ikan. Salah satunya adalah ikan gabus (*Channa striata*). *Polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) dalam minyak ikan gabus (Sahid *et al.*, 2018) sangat penting untuk beragam jalur pensinyalan seluler sebagai prekursor mediator lipid dan untuk resolusi peradangan (Chiu *et al.*, 2012). Omega-3 (n-3) *Polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) yang berada pada minyak ikan mempunyai beberapa manfaat dalam menurunkan serum *triglycerides*, *cardiovascular protection* dan *immune modulation* (Souza *et al.*, 2020). Omega-3 (n-3) *Polyunsaturated fatty acids* (PUFAs) mempengaruhi fungsi pertahanan makrofag. EPA dan DHA meningkatkan aktivitas fagositosis makrofag dan menurunkan kemotaksis dari monosit. EPA meningkatkan fluiditas membran sel fagosit (Al-Khalaifah, 2020). Suplemen PUFA dapat memodulasi kapasitas dan persen aktivitas dari makrofag (Gandra *et al.*, 2016).

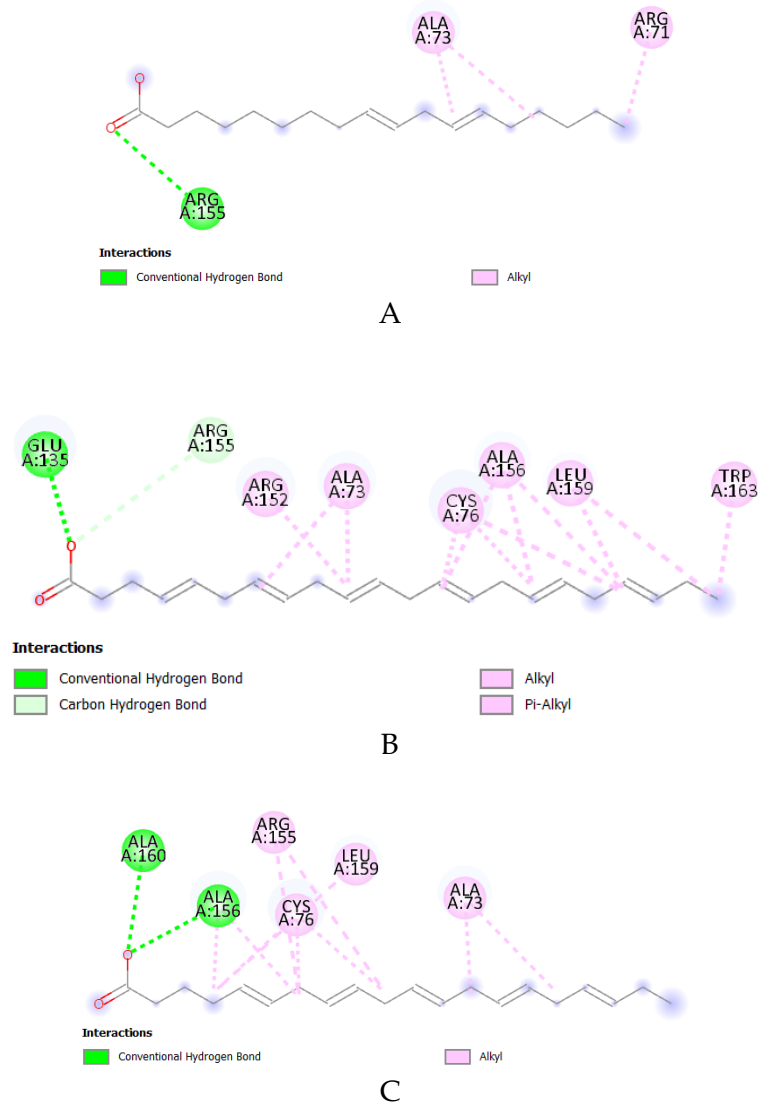




Gambar 2. Modus pengikatan dan interaksi intermolekul ALA pada FFAR4. Pengikatan ALA pada site dan interaksi dalam 3D (A). Interaksi residu asam amino FFAR4-ALA dalam 2D (B)

Tabel 1. Hasil *docking* ligan uji pada FFAR4

Senyawa/ligan	Rerank Score	Ikatan hidrogen	Ikatan lain
LA omega-6	-74,787	ARG155	Hidrofobik (ALA73, ARG71)
DHA omega-3	-78,843	ARG135, ARG155	Hidrofobik (ARG152, ALA73, CYS76, ALA156, LEU159, TRP163)
EPA omega-3	-57,893	ALA160, ALA156	Hidrofobik (ARG155, ALA156, CYS76, LEU159, ALA73)



Gambar 3. Interaksi senyawa uji pada protein FFAR4. Interaksi LA-residu asam amino (A). Interaksi DHA-residu asam amino (B). Interaksi EPA-residu asam amino (C).

Hasil penelitian menunjukkan secara *in silico* kandungan asam lemak yang terdapat pada ikan gabus membentuk ikatan dengan FFAR4. Interaksi senyawa uji-protein FFAR4 disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 3. Semua senyawa membentuk ikatan hydrogen dan beberapa ikatan hidrofobik. DHA memberikatan nilai *docking* yang terbaik diantara senyawa yang lain (*rerank score*: -78,843) dengan jarak ikatan hydrogen 2,8 Å pada residu asam amino GLU135 dan ARG155. Atom pembentuk ikatan hydrogen adalah H (*donor*) pada DHA dan O (*acceptor*) protein FFAR4, ikatan ini tergolong cukup kuat (Itoh et al. 2019; N Baker 2006; Panigrahi

and Desiraju 2007). Selain itu ikatan hidrofobik juga berkontribusi pada stabilitas protein. Ikatan hidrogen juga mendukung stabilitas protein, tetapi pada tingkat yang lebih rendah daripada ikatan hidrofobik (Hariono *et al.*, 2016). Ikatan hidrofobik penting dalam penggabungan daerah non-polar molekul obat dengan sisi non-polar reseptor biologis dengan membentuk *quasi-crystalline structures (icebergs)* (Patrick 2013; Siswandono 2016). Hal ini menunjukkan DHA dimungkinkan akan berikatan dengan FFAR4 paling spontan.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan asam lemak konstituen pada ikan gabus mampu berikatan dengan FFAR4. DHA merupakan asam lemak yang berikatan secara spontan, kuat dan stabil.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Khalaifah, H. (2020) 'Modulatory Effect of Dietary Polyunsaturated Fatty Acids on Immunity, Represented by Phagocytic Activity', *Frontiers in Veterinary Science*, 7(September), pp. 9–21. Available at: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.569939>.
- Bordoli, L. *et al.* (2009) 'Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace', *Nature Protocols*, 4(1), pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1038/NPROT.2008.197>.
- Carullo, G. *et al.* (2021) 'GPR120/FFAR4 Pharmacology: Focus on Agonists in Type 2 Diabetes Mellitus Drug Discovery', *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(8), pp. 4312–4332. Available at: https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.0C01002/ASSET/IMAGES/LARGE/JMOC01002_0009.JPEG.
- Chiu, C.Y. *et al.* (2012) 'Omega-6 docosapentaenoic acid-derived resolvins and 17-hydroxydocosahexaenoic acid modulate macrophage function and alleviate experimental colitis', *Inflammation Research*, 61(9), pp. 967–976. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00011-012-0489-8>.
- Costea, R.M. *et al.* (2020) 'Stress Hyperglycemia as Predictive Factor of Recurrence in Children with Febrile Seizures', *Brain Sciences*, 10(3), p. 131. Available at: <https://doi.org/10.3390/brainsci10030131>.
- Fiorentino, T. *et al.* (2013) 'Hyperglycemia-induced Oxidative Stress and its Role in Diabetes Mellitus Related Cardiovascular Diseases', *Current Pharmaceutical Design*, 19(32), pp. 5695–5703. Available at: <https://doi.org/10.2174/1381612811319320005>.
- Gandra, J.R. *et al.* (2016) 'Effects of whole flaxseed, raw soybeans, and calcium salts of fatty acids on measures of cellular immune function of transition dairy cows', *Journal of Dairy Science*, 99(6), pp. 4590–4606. Available at: <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9974>.
- Gao, T. *et al.* (2021) 'Identification and functional analysis of the SARS-COV-2 nucleocapsid protein', *BMC Microbiology* 2021 21:1, 21(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1186/S12866-021-02107-3>.
- Hara, T. *et al.* (2009) 'Novel selective ligands for free fatty acid receptors GPR120 and GPR40', *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, 380(3), pp. 247–255. Available at: <https://doi.org/10.1007/S00210-009-0425-9>.
- Komari, N., Hadi, S. and Suhartono, E. (2020) 'Pemodelan Protein dengan Homology Modeling menggunakan SWISS-MODEL', *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*, 2(2), pp. 65–70. Available at: <https://doi.org/10.36873/JJMS.2020.V2.I2.408>.
- Leutner, M. *et al.* (2021) 'Risk of typical diabetes-associated complications in different clusters of diabetic patients: Analysis of nine risk factors', *Journal of Personalized Medicine*, 11(5), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.3390/jpm11050328>.
- Muga, M.A. and Chao, J.C.J. (2014) 'Effects of fish oil and spirulina on oxidative stress and inflammation in hypercholesterolemic hamsters', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(1), pp. 1–10. Available at: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-470>.
- Mustafa, A. *et al.* (2014) 'The Effect of Channastriata Extract on Total Amino Acid, Arginine, and Leucine Concentration in Serum of Streptozotocin Induced Diabetic Rat', *International Journal of Science and Technology (IEESE)*, 3(4), pp. 22–27.
- Nagasawa, T. *et al.* (2021) 'The molecular

- mechanism of phytosphingosine binding to FFAR4/GPR120 differs from that of other fatty acids', *FEBS Open Bio*, 11(11), pp. 3081–3089. Available at: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13301>.
- Orliaguet, L. *et al.* (2020) 'Mechanisms of Macrophage Polarization in Insulin Signaling and Sensitivity', *Frontiers in Endocrinology*, 11(February), pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00062>.
- Osborn, O. and Olefsky, J.M. (2012) 'The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease', *Nature Medicine*, 18(3), pp. 363–374. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.2627>.
- Pant, S. and Ravichandiran, V. (2021) 'Molecular understanding of GPR120 agonist binding using homology modeling and molecular dynamics'. Available at: <https://doi.org/10.26434/CHEMRXIV-2021-S23LV>.
- Perkeni (2015) 'Panduan Penatalaksanaan DM Tipe 2 pada Individu Dewasa', *Panduan Penatalaksanaan DM Tipe 2 pada Individu Dewasa di Bulan Ramadan*, p. 82. Available at: <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://pbperkeni.or.id/wp-content/uploads/2019/01/4.-Konsensus-Pengelolaan-dan-Pencegahan-Diabetes-melitus-tipe-2-di-Indonesia-PERKENI-2015.pdf&ved=2ahUKEwjy8KOs8cfoAhXCb30KHQb1Ck0QFjADegQIBhAB&usg=AOv>.
- Sahid, N.A. *et al.* (2018) 'Snakehead Consumption Enhances Wound Healing? From Tradition to Modern Clinical Practice: A Prospective Randomized Controlled Trial', *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018, pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1155/2018/3032790>.
- Saudale, F.Z. *et al.* (2020) 'FFAR4/GPR120 SEBAGAI TARGET DESAIN DAN PENGEMBANGAN OBAT DIABETES MELITUS TIPE 2 IN SILICO: SUATU TINJAUAN DAN PERSPEKTIF', *Chem. Notes*, 1(1), pp. 12–35. Available at: <https://ejournal.undana.ac.id/index.php/CN/article/view/2338/1694> (Accessed: 27 January 2023).
- Souza, D.R. de *et al.* (2020) 'Fish oil reduces subclinical inflammation, insulin resistance, and atherogenic factors in overweight/obese type 2 diabetes mellitus patients: A pre-post pilot study', *Journal of Diabetes and its Complications*, 34(5), p. 107553. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2020.107553>.
- Verhulst, M.J.L. *et al.* (2019) 'Evaluating All Potential Oral Complications of Diabetes Mellitus', *Frontiers in Endocrinology*, 10(56), pp. 1–49. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00056>.