



# Studi *In Silico* dan Pengaruh Gugus Metoksi pada Hasil Sintesis *Analog* Kalkon terhadap Inhibisi Enzim $\alpha$ -glukosidase

(*In silico* study and the effect of methoxy on the results of chalcone analog synthesis as  $\alpha$ -glukosidase inhibitor)

Rahma Dona\*<sup>1</sup>, Mustika Furi<sup>1</sup>, Neni Frimayanti<sup>1</sup>, Adel Zamri<sup>2</sup> & Nahdiah Nahdiah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR RIAU) Jl. Kamboja Simpang Baru Panam, Pekanbaru*

<sup>2</sup>*Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Riau, Simpang Baru, Kec. Tampan, Kota Pekanbaru*

**ABSTRACT:** Chalcone is a flavonoid group with many activities, one of which is antidiabetic. In this research, an *in silico* study, synthesis and bioactivity test of three chalcone compounds were carried out as inhibitors of the  $\alpha$ -glukosidase enzyme. The test results were compared with acarbose as a positive control. The synthesis using the irradiation method. The product structure was characterized by UV-Vis, FTIR and <sup>1</sup>H NMR. *In silico* results through molecular docking using the MOE 2020 application, it was found that the three chalcone compounds had bond-free energy values, namely -6.3207 (chalcone 1); -6.4018 (chalcone 2), and -5.9895 (chalcone 3) while acarbose has a value of -6.3415. From the interaction between the ligand and the amino acids of the target protein, it was found that chalcones 1 and 3 had amino acids in common with the positive control as many as 13 amino acids compared to chalcone 2 as many as 12 amino acids. From the RMSD value, chalcone 3 showed a better value. From the results of bioactivity testing against-glukosidase enzyme inhibition, it was found that chalcone 3 had the smallest IC<sub>50</sub> value of 371.8 ppm compared to chalcone 1 and 2, which were >1000 and 715.9 ppm.

**Keywords:** chalcone; hidroxy; methoxy; *in silico*,  $\alpha$ -glukosidase.

**ABSTRAK:** Kalkon merupakan golongan flavonoid dengan banyak aktivitas salah satunya sebagai antidiabetes. Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico*, sintesis serta pengujian bioaktivitas tiga senyawa kalkon sebagai inhibitor terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase. Hasil pengujian dibandingkan dengan akarbose sebagai kontrol positif. Sintesis dilakukan dengan metode iradiasi. Struktur produk dikarakterisasi melalui spektroskopi UV-Vis, FTIR dan <sup>1</sup>H NMR. Hasil *in silico* melalui *molecular docking* menggunakan aplikasi MOE 2020 didapatkan bahwa ketiga senyawa kalkon memiliki nilai energi bebas ikatan yaitu -6,3207 (kalkon 1); -6,4018 (kalkon 2), dan -5,9895 (kalkon 3) sedangkan akarbose memiliki nilai -6,3415. Dari interaksi antara ligan dengan asam amino protein target diperoleh kalkon 1 dan 3 memiliki kesamaan asam amino dengan kontrol positif sebanyak 13 asam amino dibanding kalkon 2 sebanyak 12 asam amino. Dari nilai RMSD, hasil *docking* kalkon 3 menunjukkan nilai yang lebih baik dibanding kalkon 1 dan 2. Dari hasil pengujian bioaktivitas terhadap inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase didapatkan hasil senyawa kalkon 3 memiliki nilai IC<sub>50</sub> terkecil yaitu sebesar 371,8 ppm dibandingkan dengan senyawa kalkon 1 dan kalkon 2 yaitu sebesar >1000 ppm dan 715,9 ppm.

**Kata kunci:** kalkon; hidroksi; metoksi; *in silico*;  $\alpha$ -glukosidase.

## Pendahuluan

Kalkon (1,3-diaril-2-propen-1-on) merupakan salah satu metabolit sekunder golongan flavonoid yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan. Kalkon terdiri dari flavonoid rantai terbuka yang struktur dasarnya meliputi dua cincin aromatik yang terikat oleh tiga atom karbon  $\alpha$ ,  $\beta$ -tak jenuh [1]. Kalkon memiliki gugus etilen keto (-CO-CH=CH-) yang reaktif, gugus tersebut menyebabkan kalkon memiliki aktivitas biologi yang bermacam-macam [2]. Dari beberapa hasil penelitian, kalkon dilaporkan memiliki aktivitas diantaranya antifungi [3], antimalarial

[4], antiinflamasi [5,6], antitumor [7], antileishmanial [8], sitotoksik [9], antimikroba [10], antidiabetes [11], antikanker [12] dan sebagai antioksidan [13,14].

Kalkon dapat disintesis melalui reaksi kondensasi dari suatu aldehid aromatik dengan suatu keton aromatik yang dilakukan baik dalam kondisi asam maupun basa. Reaksi ini dikenal dengan reaksi kondensasi aldol atau reaksi kondensasi *Claisen-Schmid* [15]. Metode yang sering digunakan untuk mensintesis kalkon adalah iradiasi *microwave*

### Article history

Received: 17 Sep 2021

Accepted: 28 Feb 2022

Published: 27 Juli 2022

### Access this article



\*Corresponding Author: Rahma Dona

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau (STIFAR RIAU) Jl. Kamboja Simpang Baru Panam, Pekanbaru Riau, 28289 | Email: [rdona1985@gmail.com](mailto:rdona1985@gmail.com)

yang prosesnya lebih ramah lingkungan dan juga ekonomis [16].

Diabetes Melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia [17]. Penyakit diabetes jika tidak ditangani dengan baik dan tepat dapat menimbulkan berbagai macam komplikasi seperti retinopati, nefropati, neuropati, penyakit kardiovaskular dan stroke [18]. Peningkatan kontrol terhadap glikemik dan manajemen yang baik terhadap faktor resiko yang dapat menyebabkan komplikasi serta pengobatan menghasilkan pandangan yang lebih optimis bagi penderita diabetes dalam pencegahan dan pengobatannya [19].

Pengobatan penyakit diabetes dapat dilakukan dengan cara pemberian insulin dan agen antidiabetes oral. Beberapa agen antidiabetes oral yang digunakan dalam menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes tipe-2 seperti golongan induksi sekresi insulin seperti glibenklamid, glimepiride dan glipizid memiliki efek hipoglikemia, tetapi agen penghambat  $\alpha$ -glukosidase (akarbose, voglibose dan miglitol) tidak menimbulkan efek seperti hipoglikemia [20].

Hsieh *et al* [11] telah melakukan sintesis berbagai derivat kalkon sebanyak 60 senyawa analog kalkon dan melakukan pengujian aktivitasnya terhadap antidiabetes melaporkan bahwa derivat kalkon dengan substituen fluoro, kloro, bromo, iodo, hidroksi dan hidrogen yang terikat pada posisi 2 di cincin A menunjukkan aktivitas yang tinggi sebagai antidiabetes, secara signifikan mempengaruhi aktivitas penyerapan glukosa (210 hingga 236 mg/dl) dibandingkan dengan pioglitazone dan rosiglitazone (masing-masing 230 dan 263 mg/dl). Substituen metoksi dan benziloksi yang terikat pada cincin B juga menunjukkan pengaruh positif terhadap aktivitas. Penelitian oleh Jung *et al* [21] melaporkan bahwa 2',4'-dihidroksi-4-metoksi kalkon dan 2',5'-dihidroksi-4-metoksi kalkon menunjukkan aktivitas yang kuat sebagai agonis *peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$*  (PPAR- $\gamma$ ) dengan aktivasi sebesar 6,5% dan 9%. Selain itu, penelitian Cai *et al* [22] melaporkan bahwa analog bis-kalkon pada konsentrasi 1  $\mu$ M mempunyai efek yang tinggi terhadap penurunan jumlah glukosa didalam sel HepG-2 yaitu dengan jumlah glukosa didalam sel HepG-2 sebesar 60%.

Langkah awal dalam upaya merancang kalkon sebagai antidiabetes yaitu dengan pendekatan secara *in silico*. *In silico* merupakan metode pendekatan suatu kondisi atau keadaannya kedalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu dalam mendesain obat, salah satunya studi *molecular docking*. *Molecular docking* adalah alat yang baik untuk memprediksi dan mencocokkan situs pengikatan yang diinginkan, memahami kemungkinan konformasi

senyawa dan selanjutnya untuk memperjelas interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor [23].

Dalam penelitian ini, bahan awal yang digunakan yaitu 2'-hidroksi asetofenon dan benzaldehid tersubstitusi metoksi pada posisi orto, meta dan para. Penelitian ini dirancang untuk mengetahui hasil sintesis dan karakterisainya dengan adanya gugus metoksi yang terletak pada posisi orto, meta dan para serta mengetahui pengaruh senyawa tersebut terhadap aktivitas antidiabetes tipe-2 melalui studi *in silico* dan *in vitro* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## Metode Penelitian

### Sintesis Senyawa Analog Kalkon

Sintesis ketiga senyawa analog kalkon mengikuti reaksi kondensasi Claisen Schmidt dengan menggunakan bahan awal 2'-hidroksi asetofenon dan senyawa benzaldehid dengan variasi substituen metoksi pada posisi orto, meta dan para. Kedua bahan tersebut direaksikan dengan katalis basa (KOH) dan pelarut etanol absolut/PEG (Reaksi sintesis dan bahan awal ke tiga senyawa analog kalkon dapat dilihat pada Gambar 1 dan Tabel 1). Campuran reaksi di iradiasi dengan microwave dengan daya 180 Watt selama 6-8 menit. Tahapan reaksi diamati dengan KLT setiap 30 detik. Setelah proses reaksi selesai kemudian dinetralkan dengan HCl 3 N. Endapan yang terbentuk selanjutnya disaring dengan menggunakan corong *Buchner* sambil dicuci dengan aquadest dan *n*-heksan. Uji kemurnian senyawa ditentukan dengan menggunakan KLT, uji titik leleh dan analisis HPLC. Pemurnian senyawa dilakukan dengan metode rekristalisasi. Hasil ketiga senyawa analog kalkon yang dihasilkan selanjutnya dilakukan karakterisasi senyawa.

### Studi *in Silico* Senyawa Analog Kalkon terhadap Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase

Struktur protein yang digunakan (PDB kode: 2QMJ) diunduh dari *Bank Data Protein* dengan situs [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) dalam format PDB. Struktur ligan (ketiga senyawa analog kalkon dan akarbose sebagai kontrol positif) digambar menggunakan ChemDraw Professional 15.0 dan disimpan dalam format "cdx" dan dikonversi ke format PDB menggunakan paket perangkat lunak Discovery Studio Visualizer (DSV). Preparasi protein menggunakan program BIOVIA DSV dan *Molecular Operating Environment* (MOE), sedangkan preparasi ligan menggunakan MOE dengan *force field* MMFF94x dan gradient 0,0001 lalu disimpan sebagai *database ligand*. Tahapan selanjutnya kemudian dilakukan simulasi *docking* menggunakan MOE 2020.0901.

### Uji Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase secara *in vitro*

Pada *microplate reader* 96 well, 10  $\mu$ L sampel 1000 ppm ditambahkan dengan 40  $\mu$ L buffer fosfat (pH 7), 25  $\mu$ L p-NPG 20 mM kemudian diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah itu ditambahkan 25  $\mu$ L  $\alpha$ -glukosidase (0,2 U/mL) lalu campuran diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu 37°C. Setelah 30 menit, reaksi dihentikan dengan penambahan 100  $\mu$ L larutan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0,1 M lalu absorbansi dari p-nitrofenol diukur pada panjang gelombang 410 nm. Dilakukan pengujian yang sama pada serial konsentrasi 500 ppm, 250 ppm, 125 ppm, 62,5 ppm dan 31,25 ppm. Untuk kontrol sampel (S<sub>0</sub>) 10  $\mu$ L sampel ditambahkan dengan 65  $\mu$ L buffer fosfat (pH 7), 25  $\mu$ L p-NPG 20 mM.

### Analisis Data

Dari hasil sintesis, data karakterisasi hasil sintesis senyawa analog kalkon kemudian dilakukan analisa data berupa hasil spektrum UV, IR dan <sup>1</sup>H-NMR. Data yang telah diperoleh dari proses *docking* senyawa analog kalkon menggunakan aplikasi MOE 2020.0901 berupa data energi bebas ikatan, nilai RMSD pada tiap senyawa kemudian ditampilkan dalam bentuk tabel. Interaksi antara ligan dengan asam-asam amino pada protein target di analisis untuk menentukan kecocokan asam amino terhadap kontrol positif (akarbose). Data absorbansi dari pengujian secara *in vitro* kemudian dihitung % inhibisi nya dengan menggunakan persamaan:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(B_1 - B_0) - (S_1 - S_0)}{(B_1 - B_0)}$$

### Keterangan:

B<sub>1</sub> = Absorbansi blanko (tanpa sampel)

B<sub>0</sub> = Absorbansi blanko kontrol (tanpa sampel dan enzim)

S<sub>1</sub> = Absorbansi sampel

S<sub>0</sub> = Absorbansi sampel kontrol

Nilai persen inhibisi digunakan untuk mendapatkan

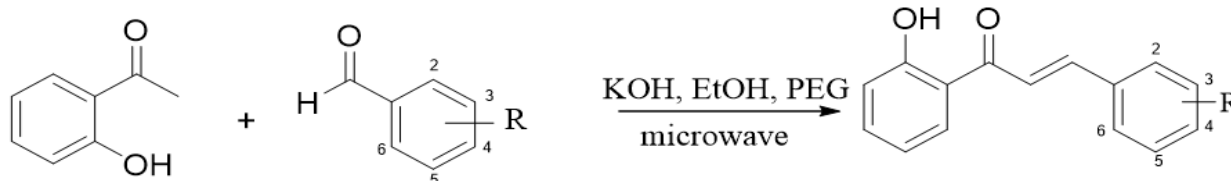
persamaan regresi linear antara konsentrasi dan % inhibisi. Berdasarkan persamaan tersebut, dapat dihitung nilai IC<sub>50</sub> dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase [24].

## Hasil dan Diskusi

### Hasil Sintesis Senyawa Analog Kalkon Tersubstitusi Hidroksi dan Metoksi

Tiga senyawa analog kalkon telah berhasil disintesis melalui reaksi kondensasi aldol atau reaksi kondensasi *Claisen-Schmidt* dari senyawa keton aromatik yang mengandung gugus hidroksi pada posisi 2' yaitu 2'-hidroksi asetofenon dan 3 senyawa aldehid aromatik (benzaldehyd) yang mengandung substituen metoksi pada posisi 2, 3 dan 4 pada cincin benzenanya. Reaksi dilakukan dengan metode irradiasi *microwave* menggunakan katalis basa (KOH), pelarut etanol dan PEG 400. Berikut ini ditampilkan hasil sintesis ketiga molekul target senyawa analog kalkon tersubstitusi hidroksi dan metoksi hasil pemurnian beserta data organoleptis (bentuk fisik), hasil rendemen dan titik leleh yang ditampilkan pada [Tabel 2](#).

Senyawa analog kalkon hasil sintesis, kemudian dilakukan uji kemurnian dengan menggunakan analisa KLT (Kromatografi Lapis Tipis) dengan fase gerak yang digunakan yaitu campuran *n*-heksan:etil asetat serta analisa menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Dari data hasil kemurnian dengan analisa menggunakan KLT, ketiga senyawa analog kalkon hasil sintesis dielusi dengan campuran eluen (*n*-heksana: etil asetat) pada 3 perbandingan yang bervariasi yaitu 7:3, 9:1 dan 9,5:0,5, kemudian hasil elusi dilihat dibawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 356 nm. Pada ketiga senyawa tersebut telah menunjukkan hasil elusi satu noda pada plat KLT dengan nilai R<sub>f</sub> masing-masing yaitu pada senyawa analog kalkon 1 didapatkan nilai R<sub>f</sub> : 0,5 ; 0,75 dan 0,375. Pada senyawa kalkon 2, menghasilkan nilai R<sub>f</sub> masing-masing: 0,525 ; 0,775 dan 0,45. Pada senyawa kalkon 3, menghasilkan nilai R<sub>f</sub> masing-masing: 0,45 ; 0,725 dan 0,3. Jika senyawa hasil sintesis menunjukkan



**Gambar 1.** Reaksi sintesis 3 senyawa analog hidroksi metoksi kalkon

**Tabel 1.** Jenis substituen senyawa analog hidroksi metoksi kalkon

Senyawa	R				
	2	3	4	5	6
Kalkon 1	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H
Kalkon 2	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
Kalkon 3	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H

satu noda pada hasil elusi dari analisa KLT, artinya senyawa hasil sintesis yang

dihasilkan dapat dikatakan telah murni, karena tidak terdapat pengotor atau senyawa lainnya, misalkan bahan baku atau hasil reaksi samping.

Pada analisa menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*), kemurnian senyawa analog kalkon hasil sintesis selanjutnya diidentifikasi menggunakan metode gradient elusi. Senyawa analog kalkon yang berupa padatan dilarutkan menggunakan metanol (*HPLC grade*). Larutan tersebut kemudian disaring dengan filter membran PTFE Whatmann 0,45µm. Sebanyak 20 µL filtrat tersebut diinjeksikan ke instrumen HPLC. Sampel dianalisis selama 20 menit menggunakan perbandingan pelarut asetonitril dan air (70:30; 80:20; 90:10) (*HPLC grade*) dengan kecepatan alir 1 ml/menit. Dari hasil analisa didapatkan bahwa ketiga senyawa analog kalkon menghasilkan kromatogram dengan satu puncak dominan, hal ini dapat dilihat pada [Gambar 2](#). Untuk senyawa kalkon 1 menunjukkan satu puncak dominan pada λ 254 nm dan λ 365 nm diperoleh t<sub>R</sub> (waktu retensi) 11,507 menit dan 11,508 menit. Untuk senyawa kalkon 2 menunjukkan satu puncak dominan pada λ 254 nm dan λ 365 nm diperoleh t<sub>R</sub> (waktu retensi) 11,049 menit dan 11,050 menit. Untuk senyawa kalkon 3 menunjukkan satu puncak dominan pada λ 254 nm dan λ 365 nm diperoleh t<sub>R</sub> (waktu retensi) 11,626 menit dan

11,628 menit. Ketiga senyawa analog kalkon hasil sintesis menunjukkan satu puncak dominan pada kromatogram masing-masing yang menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh telah murni ([Gambar 2](#)).

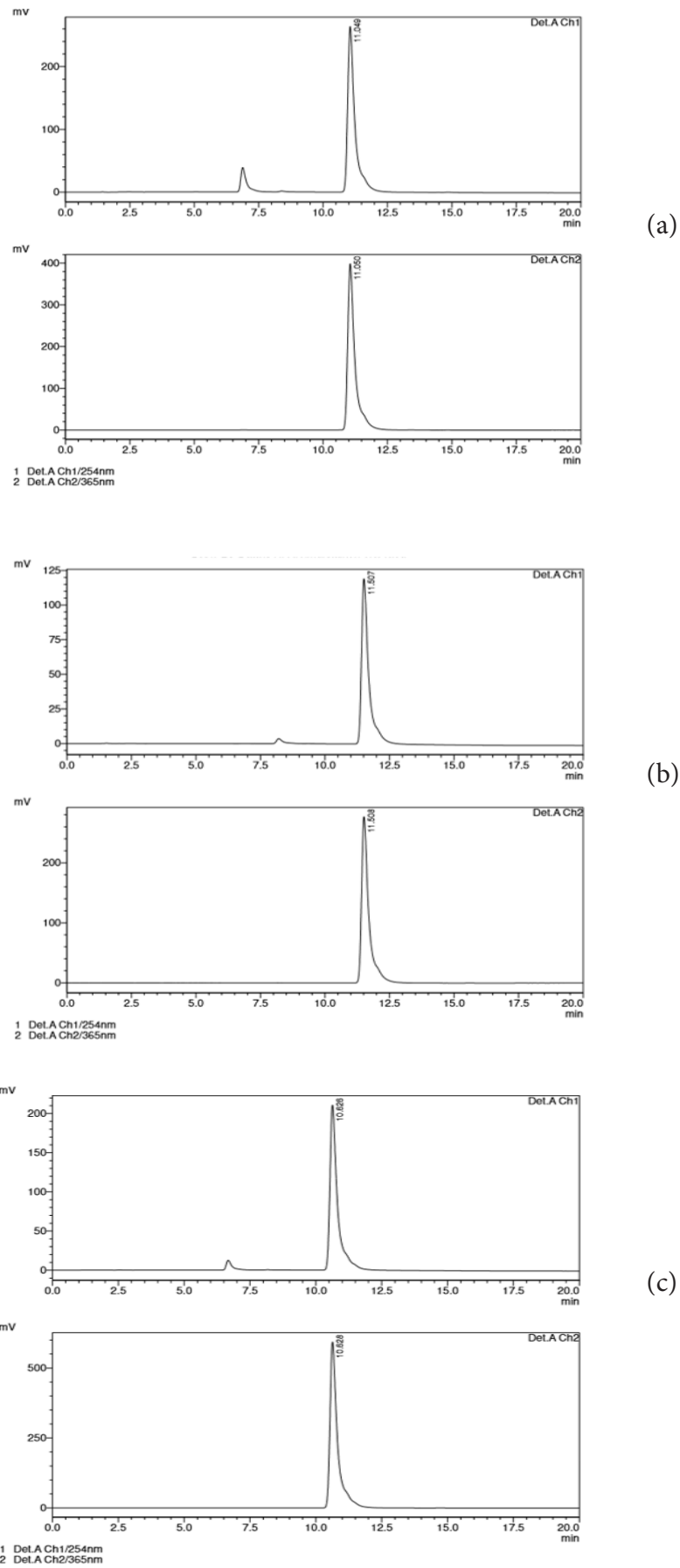
Ketiga senyawa hasil sintesis analog kalkon selanjutnya dikarakterisasi menggunakan analisa spektroskopi UV, IR dan <sup>1</sup>H-NMR. Data masing-masing hasil karakterisasi ditampilkan pada [Tabel 3](#) dan [Tabel 4](#). Dari data hasil karakterisasi diatas dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa analog kalkon hasil sintesis telah sesuai dengan molekul target yang ingin dicapai, terbukti dari data masing-masing spektrum baik UV, IR maupun hasil spektrum <sup>1</sup>H-NMR telah sesuai dengan struktur molekul target.

### Hasil Studi *in Silico* Ketiga Senyawa Analog Kalkon Melalui Molekular Docking

Pada studi ini, simulasi molekular *docking* dilakukan dengan menggunakan *Molecular Operating Environment* (MOE) 2020.0901. Molekular *docking* merupakan suatu cara analisis dalam upaya *drug discovery* untuk memprediksi dan mencocokkan situs pengikatan yang diinginkan, memahami kemungkinan konformasi senyawa serta memperjelas interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor<sup>17</sup>. Pada penelitian ini, ketiga struktur senyawa analog kalkon ditambahkan sebagai ligan ke dalam struktur

**Tabel 2.** Karakteristik senyawa hasil sintesis analog hidroksi metoksi kalkon

No	Nama Senyawa Analog Kalkon	Bentuk fisik	Rendemen	Titik Leleh
1	( <i>E</i> )-1-(2-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( <b>Kalkon 1</b> )	padatan kristal jarum berwarna kuning.	91,53%	82-84°C
2	( <i>E</i> )-1-(2-hidroksifenil)-3-(3-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( <b>Kalkon 2</b> )	padatan kristal berwarna kuning	79,01%	74-75°C
3	( <i>E</i> )-1-(2-hidroksifenil)-3-(4-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( <b>Kalkon 3</b> )	bentuk padatan berwarna kuning	77,48%	69-70°C



**Gambar 2.** Hasil Kromatogram HPLC Senyawa Analog Kalkon (a) kalkon 1; (b) kalkon 2; (c) kalkon 3

**Tabel 3.** Data hasil spektrum UV dan IR senyawa sintesis analog kalkon

No	Senyawa kalkon	Spektrum UV	Spektrum IR
1	(E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on (Kalkon1)	$\lambda_{maks}$ = 255; 307 dan 364 nm	3026 (C-H Aromatik); 2832 (C-H Alifatik); 1640 (C=O Terkonjugasi); 1581 (C=C aromatik); 1206 (C-O Metoksi)
2	(E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(3-metoksifenil)prop-2-en-1-on (Kalkon 2)	$\lambda_{maks}$ =209; 253 dan 310 nm	3012 cm <sup>-1</sup> (C-H aromatik), 2840 cm <sup>-1</sup> (C-H alifatik), 1639 cm <sup>-1</sup> (C=O terkonjugasi), 1577 cm <sup>-1</sup> (C=C aromatik) dan 1202 cm <sup>-1</sup> (C-OMe)
3	(E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(4-metoksifenil)prop-2-en-1-on (Kalkon 3)	$\lambda_{maks}$ = 241; dan 364 nm	3026 cm <sup>-1</sup> (C-H aromatis); 2840 cm <sup>-1</sup> (C-H alifatis); 1639 cm <sup>-1</sup> (C=O terkonjugasi); 1568 cm <sup>-1</sup> (C=C aromatis); 1210 cm <sup>-1</sup> (C-OMe)

protein (pada penelitian ini, digunakan protein dengan PDB ID: 2QMJ) untuk memperkirakan interaksi antara ligan dengan situs/sisi aktif dari protein.

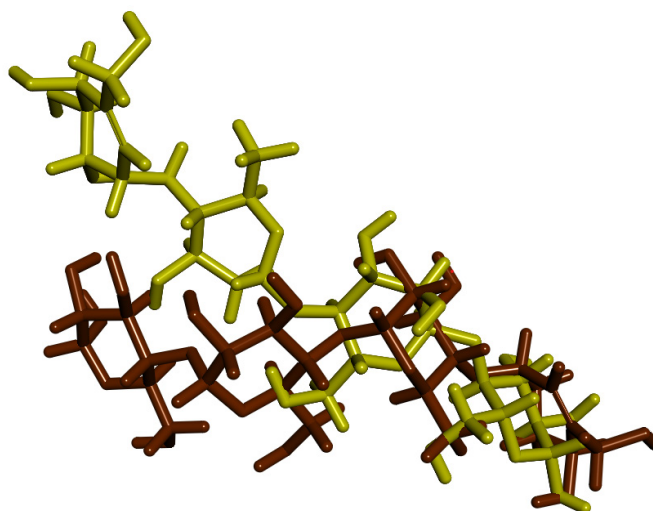
Sebelum dilakukan studi *molecular docking* terhadap ketiga senyawa analog kalkon, terlebih dahulu perlu dilakukan validasi terhadap protokol *docking* yang akan digunakan. Validasi ini diperlukan untuk memastikan keakuratan dari hasil docking. Validasi protokol *docking* dilakukan dengan cara *re-docking* ulang (*re-docking*) molekul acarbose ke reseptor yang telah dipreparasi untuk memastikan apakah molekul tersebut dapat terikat pada sisi aktif protein dengan tepat. Hasil validasi protokol *docking*

menunjukkan bahwa *re-docked ligand* (acarbose yang telah di-*docking* ulang) memiliki beberapa kemiripan interaksi asam amino dengan interaksi asam amino yang dihasilkan oleh *co-crystal ligand* (acarbose yang menempel pada struktur kristal protein awal). Berdasarkan hasil *re-docking* terdapat 14 kesamaan interaksi asam amino antara keduanya. Selain itu, hasil *re-docking* juga menunjukkan nilai RMSD  $\leq 2$  yang menunjukkan bahwa protokol *docking* tersebut telah valid. Kemudian dilakukan superimposisi untuk memastikan apakah mode pengikatan keduanya sama.

Superimposisi merupakan salah satu metoda pengikatan yang menunjukkan beberapa residu berperan

**Tabel 4.** Data Spektrum 1H-NMR ketiga senyawa analog kalkon

Nomor Atom	Senyawa (E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( $\delta H$ (ppm))	Senyawa (E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( $\delta H$ (ppm))	Senyawa (E)-1-(2-hidroksifenil)-3-(2-metoksifenil)prop-2-en-1-on ( $\delta H$ (ppm))
1	-	-	-
2	3,94 (s, 3H,-OCH3)	7,17 (s, 1H)	7,63 (dd, 1H, J=6,6 Hz)
3	6,92 (dd, 1H, J=1,2 Hz)	3,87 (s, 3H,-OCH3)	6,95 (dd, 1H, J=6,7 Hz)
4	7,40 (dt, 1H, $J_1=J_2=7,8$ Hz, $J_3=1,7$ Hz)	7,26 (d, 1H, J=8 Hz)	3,86 (s, 3H,-OCH3)
5	7,01 (dt, 1H, $J_1=J_2=7,5$ Hz, $J_3=1,1$ Hz)	7,35 (t, 1H, J=7,9 Hz)	6,95 (dd, 1H, J=6,7 Hz)
6	7,64 (dd, 1H, J=7,72 Hz)	7,03 (dd, 1H, J=8,3 Hz)	7,63 (dd, 1H, J=6,6 Hz)
C $\alpha$	7,78 (d, 1H $\alpha$ , J=15,55 Hz)	7,63 (d, 1H $\alpha$ , J=15,45 Hz)	7,54 (d, 1H $\alpha$ , J=15,4 Hz)
C $\beta$	8,23 (d, 1H $\beta$ , J=15,6 Hz)	7,88 (d, 1H $\beta$ , J=15,45 Hz)	7,90 (d, 1H $\beta$ , J=15,45 Hz)
1'	-	-	-
2'	12,94 (s, 1H,-OH)	12,79 (s, 1H,-OH)	12,93 (s, 1H,-OH)
3'	7,03 (dd, 1H, J=1,1 Hz)	6,99 (dd, 1H, J=8,2 Hz)	7,02 (dd, 1H, J=8,3 Hz)
4'	7,49 (dt, 1H, $J_1=J_2=7,8$ Hz, $J_3=1,6$ Hz)	7,50 (t, 1H, J=7,8 Hz)	7,48 (dt, 1H, $J_1=J_2=7,8$ Hz, $J_3=1,6$ Hz)
5'	6,95 (dt, 1H, $J_1=J_2=8$ Hz, $J_3=1$ Hz)	6,95 (t, 1H, J= 7,6 Hz)	6,93 (dt, 1H, $J_1=J_2=7,6$ Hz, $J_3=1,25$ Hz)
6'	7,92 (dd, 1H, J=8 Hz)	7,92 (dd, 1H, J=8 Hz)	7,92 (dd, 1H, J=8,15 Hz)



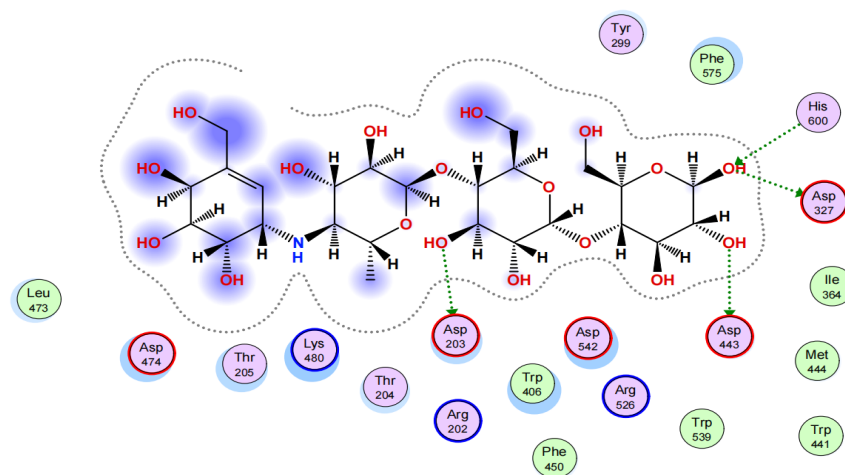
**Gambar 3.** Superimposisi co-crystal ligand (coklat) dan re-docked ligand (kuning)

penting dalam menentukan interaksi pengikatan untuk semua ligan. Superimposisi dilakukan pada semua senyawa menggunakan program BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* (DSV). Superimposisi digunakan untuk mengetahui fitur-fitur umum yang dimiliki semua senyawa, yang kemungkinan berperan dalam menstabilkan interaksi antara ligan dengan protein target. Hasil superimposisi antara *re-docked ligand* (acarbose yang telah di-*docking* ulang) dan *co-crystal ligand* (acarbose yang menempel pada struktur kristal protein awal) dapat dilihat pada [Gambar 3](#).

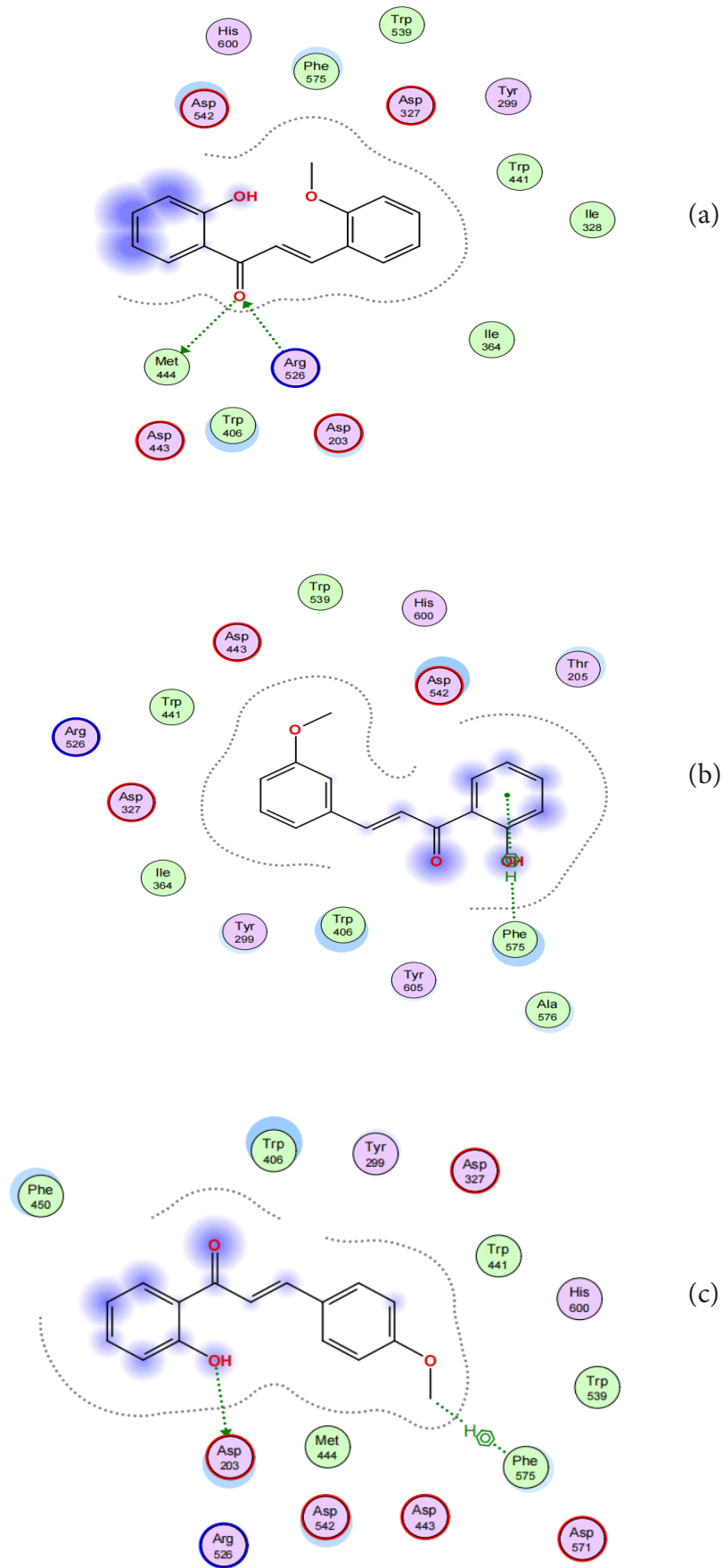
Berdasarkan hasil *re-docking* diperoleh hasil bahwa acarbose sebagai kontrol positif memiliki nilai *binding free energy* sebesar -6,3415 kcal/mol dan nilai RMSD 1,4303. Molekul acarbose dapat membentuk 4 ikatan hidrogen

dengan residu asam amino. Dalam hal ini, keempat ikatan hidrogen tersebut terbentuk dengan residu His600, Asp327, Asp443 dan Asp203. Selain itu, molekul acarbose juga dapat berikatan melalui interaksi van der Waals dengan residu asam amino Asp542 dan Asp474, serta beberapa jenis interaksi lainnya sebagaimana dapat dilihat pada [Gambar 4](#).

Hasil docking ditunjukkan pada [Tabel 6](#), [Gambar 5](#). Hasil interaksi terbaik dari ligan dan protein dipilih berdasarkan nilai energi bebas ikatan terendah, nilai *Root Mean Squared Deviation* (RMSD)  $\leq 2 \text{ \AA}$ , yang menunjukkan bahwa protokol docking tersebut telah valid, banyaknya kesamaan asam amino dengan kontrol positif, serta dilakukan superimposisi untuk memastikan apakah



**Gambar 4.** Hasil docking interaksi kontrol positif (acarbose) dengan protein (PDB ID: 2QMJ)



**Gambar 5.** Hasil docking interaksi senyawa kalkon1 (a); kalkon 2 (b); kalkon 3 (c) dengan protein (PDB ID: 2QMJ)



**Tabel 5.** Perbandingan interaksi 2QMJ-Acarbose antara co-crystal ligand dan re-docked ligand

Senyawa	Parameter				
	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Nilai RMSD	Ikatan Hidrogen	Ikatan Van Der Walls	Interaksi lainnya
Co-Crystal ligand	-	-	ASP 443, ASP 542, ARG 526, MET 444, ASP 203	ASP 327	TYR 299, TRP 406, ILE364, ILE 328, TRP 441, HIS 600, TRP 539, PHE 575, ALA 576, THR 205, THR 544, ASN 207
Re-docked ligand	-6,3415	1,4303	HIS 600, ASP 327, ASP 443, ASP 203	ASP 542, ASP 474	ARG 526, ARG 202, LYS 480, TYR 299, THR 204, THR 205, PHE 575, ILE 364, MET 444, TRP 441, TRP 539, TRP 406, PHE 450, LEU 473

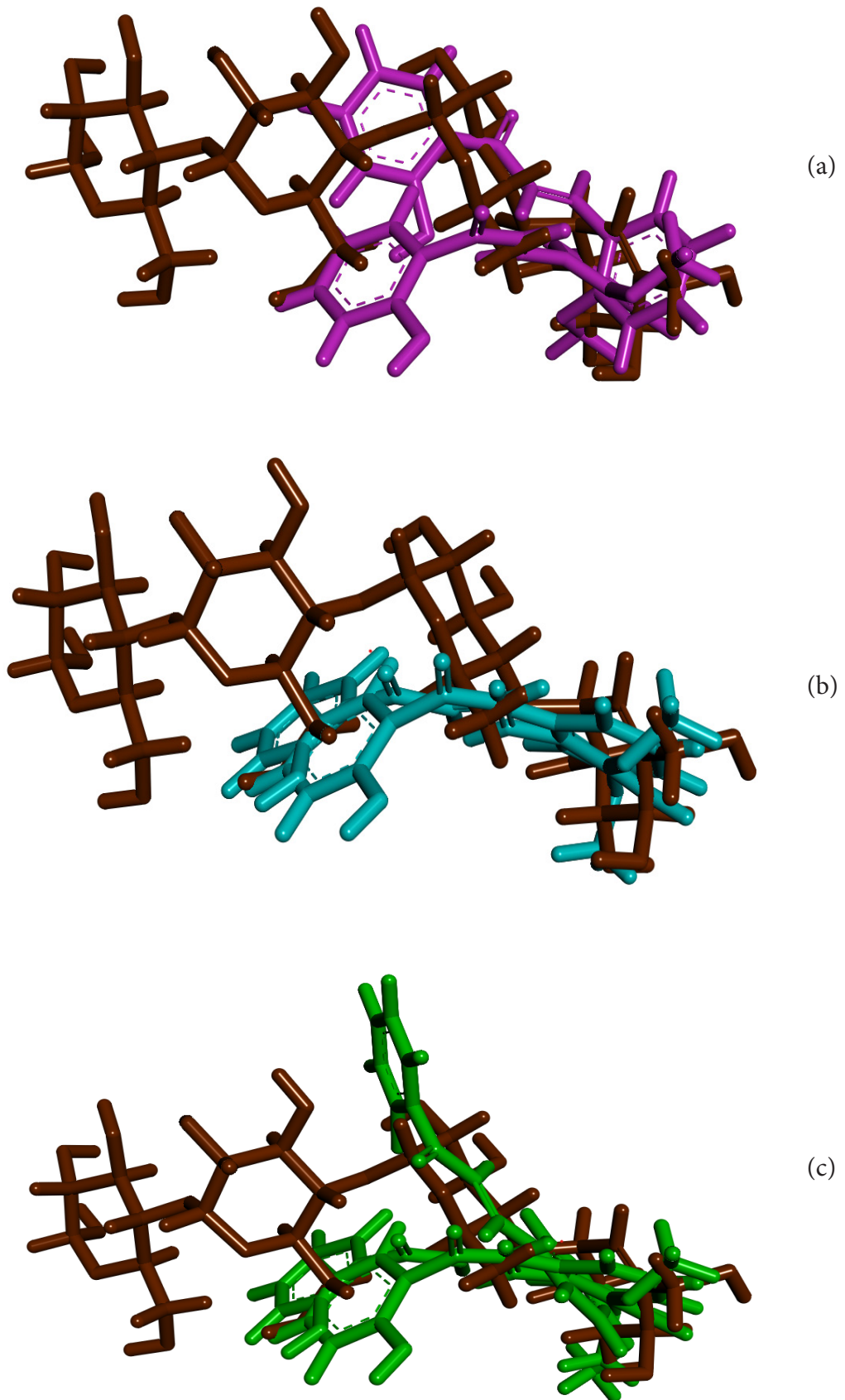
mode pengikatan keduanya sama. Nilai RMSD juga menunjukkan bahwa nilai penyimpangan atau kesalahan yang terjadi ketika melakukan *docking*. Semakin kecil nilai RMSD maka semakin kecil pula nilai penyimpangan atau kesalahan yang terjadi saat melakukan *docking* [25]. Berdasarkan hasil *molecular docking* terhadap ketiga senyawa analog kalkon, diperoleh hasil bahwa selisih nilai *binding free energy* (energi bebas ikatan) ke-3 senyawa tersebut tidak jauh berbeda dari nilai *binding free energy* acarbose sebagai kontrol positif. *Binding free energy* merupakan suatu kompleks molekul. Energi bebas ikatan adalah energi yang diperlukan oleh suatu ligan untuk terikat pada proteinnya (reseptor). Semakin negatif nilai energi bebas ikatan, maka

semakin mudah suatu ligan untuk berikatan pada sisi aktif protein. Senyawa kalkon 3 menunjukkan hasil penambatan yang lebih baik dibanding senyawa kalkon 1 dan 2 dimana memiliki energi bebas ikatan yang lebih kecil sebesar -5,9895 dengan nilai RMSD sebesar 0,9066. Senyawa kalkon 3 dan kalkon 1 memiliki kesamaan asam amino dengan kontrol positif akarbose sebanyak 13 asam amino, sedangkan senyawa kalkon 2 memiliki kesamaan asam amino dengan kontrol positif sebanyak 12 asam amino.

Berdasarkan analisis hasil visualisasi superimposisi senyawa kalkon 1, kalkon 2, kalkon 3 dan kontrol positif akarbose menunjukkan bahwa ketiga senyawa kalkon tidak memiliki mode pengikatan yang mirip (*spatial arrangement*

**Tabel 6.** Hasil doking antara ligan dan protein (PDB ID: 2QMJ)

Senyawa	Parameter				
	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Nilai RMSD	Ikatan Hidrogen	Ikatan Van Der Walls	Interaksi lainnya
kalkon 1	-6,3207	1,2479	Met444, Arg526	Asp443, Asp203, Asp 327, Asp542	His600, Gln603, Tyr299, Tyr605, Ile328, Trp539, Trp441, Ile364, Phe575, Trp406, Ala576
kalkon 2	-6,4018	1,0370	PHE 575	Asp327, Asp443, Asp542	Arg526, Trp539, Trp441, Ile364, Trp406, Ala576, His600, Tyr299, Thr205, Tyr605
kalkon 3	-5,9895	0,9066	Phe575, Asp203	Asp327, Asp571, Asp443, Asp542	Arg526, Tyr299, His600, Phe450, Trp406, Trp441, Trp539, Met444
Akarbose (kontrol positif)	-6,3415	1,4303	His600, Asp327, Asp443, Asp203	Asp542, Asp474	Arg526, Arg202, Lys480, Tyr299, Thr204, Thr205, Phe575, Ile364, Met444, Trp441, Trp539, Trp406, Phe450, Leu473



**Gambar 6.** Superimposisi kontrol positif (Akarbose) (coklat) dan kalcon1 (a); kalcon 2 (b); kalcon 3 (c)

**Tabel 7.** Hasil  $IC_{50}$  inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase dari ketiga senyawa kalkon

Senyawa	Persamaan regresi linear hasil inhibisi	Nilai $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
Kalkon 1	$y = 9,5995x - 20,998$ ( $R^2 = 0,9991$ )	>1000
Kalkon 2	$y = 10,002x - 15,749$ ( $R^2 = 0,9927$ )	715,5
Kalkon 3	$y = 11,445x - 17,744$ $R^2 = 0,999$	371,6
Akarbose (kontrol positif)	$y = 10,769x + 54,464$ $R^2 = 0,9939$	0,658

yang berbeda), hal ini dapat terlihat pada [Gambar 6](#). Berdasarkan hal tersebut ketiga senyawa kalkon hasil sintesis diperkirakan tidak terlalu berpotensi sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase karena memiliki perbedaan interaksi dengan kontrol positif.

#### Hasil Uji Inhibisi Enzim $\alpha$ -Glukosidase secara *in vitro*

Hasil pengujian inhibisi dari ketiga senyawa kalkon secara *in vitro* terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dan p-nitrofenil- $\alpha$ -D-glukopiranosida (p-NPG) sebagai substrat didapatkan hasil berupa nilai persen (%) inhibisi dan kemudian dari nilai tersebut dihitung konsentrasi yang menyebabkan penghambatan ketiga senyawa kalkon terhadap aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase sebesar 50% (nilai  $IC_{50}$ ). Data nilai  $IC_{50}$  dari ketiga senyawa kalkon ditampilkan pada [Tabel 7](#) berikut ini.

Berdasarkan hasil uji *in vitro* didapatkan dari ketiga senyawa analog kalkon ini, senyawa kalkon 3 yang memiliki struktur yang terikat substituen metoksi pada posisi para dari cincin B memiliki nilai  $IC_{50}$  yang lebih rendah yaitu sebesar 371,6  $\mu\text{g/mL}$  dibandingkan senyawa kalkon 1 (substituen metoksi pada posisi orto) dan kalkon 2 (substituen metoksi pada posisi meta) yaitu masing-masing sebesar > 1000  $\mu\text{g/mL}$  (1629,4  $\mu\text{g/mL}$ ) dan 715,5  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan kontrol positif (akarbose) memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 0,658  $\mu\text{g/mL}$ . Apabila suatu sampel mempunyai nilai  $IC_{50}$  lebih kecil dari 100  $\mu\text{g/mL}$  maka sampel tersebut dinyatakan aktif memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase [26]. Dari data hasil uji secara *in silico* dengan molecular *docking* maupun hasil uji *in vitro* melalui penghambatan terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa analog kalkon yang memiliki substituen hidroksi pada posisi 2' pada cincin A dan substituen metoksi di cincin B pada posisi orto, meta dan para tidak berpotensi / tidak aktif sebagai inhibitor dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase. Namun

demikian, jika dibandingkan dari ketiga senyawa tersebut, senyawa kalkon 3 (dengan substituen metoksi pada cincin B pada posisi para) memiliki hasil yang lebih baik dibandingkan senyawa kalkon 1 dan kalkon 2 secara *in vitro* dan sejalan dengan pengujian secara *in silico*. Penyisipan 1 substituen pada cincin B baik di posisi orto, meta maupun para tidak menghasilkan efek yang berpotensi dalam penghambatan enzim  $\alpha$ -glukosidase.

## Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa senyawa Kalkon1, Kalkon2 dan Kalkon3 yang disintesis menggunakan katalis basa KOH dengan metode iradiasi gelombang mikro diperoleh dalam keadaan murni dengan hasil rendemen berturut-turut sebesar 91,53%, 79,01% dan 77,48%. Berdasarkan uji *in silico* dan *in vitro* didapatkan ketiga senyawa analog kalkon diperkirakan bersifat tidak aktif sebagai inhibitor enzim  $\alpha$ -glukosidase, namun jika dibandingkan ketiganya, didapatkan senyawa kalkon 3 memiliki aktivitas lebih baik dibandingkan senyawa kalkon 1 dan kalkon 2.

## Ucapan Terimakasih

Ucapan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat - Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah Penelitian Dosen Pemula Pendanaan Tahun 2021 berdasarkan Lampiran Kontrak Penelitian Dasar dan Pembinaan/Kapasitas Tahun Tunggal Tahun Anggaran 2021, Nomor SPPK: 071/E4.1/AK.04.PT/2021, Tanggal DIPA: 4 Juni 2021.

## Referensi

- [1]. U. Sahu, N. C. Panda, B. V. V. Ravikumar, and A. Kumar, "Activity of chalcone and its derivatives- a Review," *PharmaTutor*, vol. 2, no. 1, pp. 62–75, 2014, [Online]. Available: <http://www.pharmatutor.org/magazines/articles/january-2014/activity-of-chalcone-derivatives-review>.
- [2]. M. R. Jayapal and N. Y. Sreedhar, "Anhydrous K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> as catalyst for the synthesis of chalcones under Microwave Irradiation," *J. Pharm. Sci. Res.*, vol. 2, no. 10, pp. 644–647, 2010.
- [3]. K. L. Lahtchev, D. I. Batovska, S. P. Parushev, V. M. Ubiyovk, and A. A. Sibirny, "Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 43, no. 10, pp. 2220–2228, 2008, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.12.027>.
- [4]. S. L. Soon, H. S. Kim, and D. U. Lee, "In vitro antimalarial activity of flavonoids and chalcones," *Bull. Korean Chem. Soc.*, vol. 28, no. 12, pp. 2495–2497, 2007, doi: 10.5012/bkcs.2007.28.12.2495.
- [5]. B. P. Bandgar, S. S. Gawande, R. G. Bodade, J. V. Totre, and C. N. Khobragade, "Synthesis and biological evaluation of simple methoxylated chalcones as anticancer, anti-inflammatory and antioxidant agents," *Bioorganic Med. Chem.*, vol. 18, no. 3, pp. 1364–1370, 2010, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2009.11.066>.
- [6]. J. H. Jeon, S. J. Kim, C. G. Kim, J. K. Kim, and J. G. Jun, "Synthesis of biologically active chalcones and their anti-inflammatory effects," *Bull. Korean Chem. Soc.*, vol. 33, no. 3, pp. 953–957, 2012, <http://dx.doi.org/10.5012/bkcs.2012.33.3.953>.
- [7]. C. Echeverria, J. F. Santibañez, O. Donoso-Taouda, C. A. Escobar, and R. Ramirez-Tagle, "Structural antitumoral activity relationships of synthetic chalcones," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 10, no. 1, pp. 221–231, 2009, <http://dx.doi.org/10.3390/ijms10010221>.
- [8]. S. F. Nielsen, S. B. Christensen, G. Cruciani, A. Kharazmi, and T. Liljefors, "Antileishmanial Chalcones : Statistical Design , Synthesis , and Three-Dimensional Quantitative Structure- Activity Relationship Analysis," pp. 4819–4832, 1998.
- [9]. S. Sekara, N. Naik, A. M. Sridhara, and S. Yogisha, "Synthesis and cytotoxic activity evaluation of novel piperazine-quinoline derivatives on breast cancer cell lines," *Der Pharma Chem.*, vol. 8, no. 9, pp. 30–38, 2016.
- [10]. M. M. H. Bhuiyan, M. I. Hossain, M. M. Mahmud, and M. Al-Amin, "Microwave-assisted Efficient Synthesis of Chalcones as Probes for Antimicrobial Activities," *Chem. J.*, vol. 01, no. 01, pp. 21–28, 2011.
- [11]. C. T. Hsieh et al., "Synthesis of chalcone derivatives as potential anti-diabetic agents," *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 12, pp. 3912–3915, 2012, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.04.108>.
- [12]. C. W. Mai, M. Yaeghoobi, N. Abd-Rahman, Y. B. Kang, and M. R. Pichika, "Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: Anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 77, pp. 378–387, 2014, doi: 10.1016/j.ejmech.2014.03.002.
- [13]. M. Mojjarrab, R. Soltani, and A. Aliabadi, "Pyridine based chalcones: Synthesis and evaluation of antioxidant activity of 1-phenyl-3-(pyridin-2-yl)prop-2-en-1-one derivatives," *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.*, vol. 8, no. 3, pp. 125–130, 2013, <http://dx.doi.org/10.17795/jjnpp-10024>.
- [14]. J. Nishida and J. Kawabata, "DPPH radical scavenging reaction of hydroxy- and methoxychalcones," *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, vol. 70, no. 1, pp. 193–202, 2006, <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.70.193>.
- [15]. Y. Eryanti, A. Zamri, J. Jasril, and R. Rahmita, "Sintesis Turunan 2'-hidroksi Kalkon melalui Kondensasi Claisen-Schmidt dan Uji Aktivasnya sebagai Antimikroba," *J. Natur Indones.*, vol. 12, no. 2, p. 223, 2012, <http://dx.doi.org/10.31258/jnat.12.2.223-227>.
- [16]. S. B. Mohan, T. P. Behera, and B. V. V. Ravi Kumar, "Microwave irradiation versus conventional method: Synthesis of benzimidazolyl chalcone derivatives," *Int. J. ChemTech Res.*, vol. 2, no. 3, pp. 1634–1637, 2010.
- [17]. D. Of and D. Mellitus, "Diagnosis and classification of diabetes mellitus," *Diabetes Care*, vol. 37, no. SUPPL1, pp. 81–90, 2014, <http://dx.doi.org/10.2337/dc14-S081>.
- [18]. P. Patel and A. Macerollo, "Diabetes mellitus: Diagnosis and screening," *Am. Fam. Physician*, vol. 81, no. 7, pp. 863–870, 2010.
- [19]. D. M. Nathan, "Diabetes: Advances in diagnosis and treatment," *JAMA - J. Am. Med. Assoc.*, vol. 314, no. 10, pp. 1052–1062, 2015, doi: 10.1001/jama.2015.9536.
- [20]. R. A. Harrigan, M. S. Nathan, and P. Beattie, "Oral agents for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology, toxicity, and treatment," *Ann. Emerg. Med.*, vol. 38, no. 1, pp. 68–78, 2001, <http://dx.doi.org/10.1067/mem.2001.114314>.
- [21]. H. J. Sang et al., "Synthesis and PPAR-γ ligand-binding activity of the new series of 2'-hydroxychalcone and thiazolidinedione derivatives," *Chem. Pharm. Bull.*, vol. 54, no. 3, pp. 368–371, 2006, <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.54.368>.
- [22]. C. Y. Cai et al., "Analogues of xanthenes—Chalcones and bis-chalcones as α-glucosidase inhibitors and anti-diabetes candidates," *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 130, pp. 51–59, 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.02.007>.
- [23]. N. Frimayanti, M. Yaeghoobi, I. Ikhtiarudin, D. Rizki, and W. Putri, "Insight on the In Silico Study and Biological Activity Assay Molecular docking," *Chiang Mai Univ. J. Nat. Sci.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–11, 2021.
- [24]. R. Dona, H. Fadhl, M. Furi, and T. Viryana, "Uji Ekstrak Etanol (Sonneratia ovata Backer) Sebagai Inhibitor Enzim α-Glukosidase," *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, vol. 7, no. 1, pp. 2579–4558, 2021, [Online]. Available: <http://journal.umng.ac.id/index.php/pharmacy>.
- [25]. F. D. Prieto-Martínez, M. Arciniega, and J. L. Medina-Franco, "Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos," *TIP Rev. Espec. en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 21, pp. 65–87, 2018, <http://dx.doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>.
- [26]. N. Ariani, I. ratna ; Kartika, and F. ; Kurniadewi, "Uji Aktivitas Inhibisi Enzim α-Glukosidase secara In Vitro dari Ekstrak Metanol Daun Cryptocarya densiflora Blume dan Fraksi-Fraksinya," *J. Ris. Sains dan Kim. Terap.*, vol. 7, no. November, pp. 1–6, 2017.



Copyright © 2022 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)