

Integrasi Metabolomik dengan Jejaring Farmakologi untuk Memprediksi Mekanisme Kerja dan Senyawa Penanda Bioaktif Batang Brotowali (*Tinospora crisa* Linn.) sebagai Insulin-Sensitizer pada Kultur Sel Otot L6.C11 = Integration of Metabolomics with in silico Network Pharmacology to Predict Mechanism of Action and Active Compounds of Brotowali Stem (*Tinospora crisa* Linn.) as Insulin-Sensitizer in Skeletal Cell Culture L6.C11

Ummu Mastna Zuhri, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=9999920527146&lokasi=lokal>

Abstrak

Latar Belakang: Resistensi insulin pada jaringan otot skelet, hepar, dan adiposit merupakan penyebab utama terjadinya DM tipe 2 serta berbagai penyakit metabolik lain. Resistensi insulin masih sulit diatasi menggunakan obat yang tersedia, sehingga pencarian obat sensitisasi insulin, terutama pada jaringan otot skelet menjadi urgensi dalam riset obat antidiabetes. Salah satu tanaman obat yang berpotensi dikembangkan sebagai obat sensitisasi insulin adalah brotowali.

Tujuan: Mengidentifikasi target terapi utama dari brotowali sebagai agen sensitisasi insulin melalui pendekatan in silico, menguji aktivitasnya secara in vitro pada kultur sel otot skelet L6.C11, dan mengidentifikasi senyawa aktifnya menggunakan metode LC-MS/MS metabolomik.

Metode: Pencarian target terapi utama resistensi insulin yang ditarget oleh brotowali dilakukan melalui analisis jejaring farmakologi yang diikuti dengan simulasi penambatan molekuler dan dinamika molekuler. Kultur sel otot skelet L6.C11 digunakan sebagai model sel resisten insulin pasca-induksi tinggi glukosa dan tinggi insulin. Hasil fraksinasi terhadap ekstrak metanol brotowali (n=33) diuji aktivitasnya terhadap peningkatan kadar glikogen dan inhibisi fosforilasi serin-312 pada IRS1 (metode enzyme-linked immunosorbent assay), serta peningkatan GLUT4 tertranslokasi (metode konfokal-imunositokimia). Metode LC-MS/MS metabolomik digunakan untuk menganalisis metabolit dari fraksi-fraksi uji. Analisis statistik komparatif melalui uji ANOVA satu arah dan analisis multivariat melalui PCA dan OPLS untuk mengidentifikasi senyawa penanda bioaktif.

Hasil: Analisis jejaring farmakologi memprediksi adanya tiga jalur terapi dari resistensi insulin yang ditarget oleh senyawa kandungan brotowali (jalur persinyalan PI3K, TNF, dan MAPK). Fosforilasi serin-312 pada IRS1 ditentukan menjadi target terapi dalam pengujian in vitro didasarkan pada perannya yang besar pada patogenesis resistensi insulin (degree: 12). Hasil uji in vitro mengidentifikasi fraksi 3 sebagai fraksi dengan aktivitas tertinggi dari seluruh fraksi uji (2,55±0,12 µg/mL; 45,68±3,20%; 64,07±1,78 AU) dalam aktivitas peningkatan glikogen, inhibisi pIRS1 ser-312, dan peningkatan translokasi GLUT4. LC-MS/MS metabolomik mampu mengidentifikasi senyawa penanda bioaktif batang brotowali berupa tinoskorsida D, higenamin, dan tinoskorsida A.

Kesimpulan: Analisis komputasi jejaring farmakologi mampu memprediksi dengan baik target terapi dan senyawa aktif brotowali. Secara in vitro, senyawa kandungan batang brotowali mampu meningkatkan sensitisasi insulin dengan senyawa penanda bioaktif berupa tinoskorsida D, higenamin, dan tinoskorsida A.

.....Background: Insulin resistance in skeletal muscle tissue, liver and adipocytes is the main cause of type 2 DM and various other metabolic diseases. Insulin resistance is still difficult to overcome using available

drugs, so the search for insulin sensitizing drugs, especially in skeletal muscle tissue, is an urgency in antidiabetic drug research. One of the medicinal plants that has the potential to be developed as an insulin sensitizing drug is brotowali.

Objectives: To identify potential therapeutic targets of brotowali as an insulin sensitizing agent through an in silico approach, to test its in vitro activity in L6.C11 skeletal muscle cell culture, and to identify its active compounds using the LC-MS/MS method.

Methods: The search for the potential therapeutic target of insulin resistance targeted by brotowali was carried out through network pharmacology analysis followed by molecular docking and molecular dynamics simulations.

The fractionation of brotowali methanol extract (n=33) were tested for their activity on increasing glycogen levels and inhibition of serine-312 phosphorylation on IRS1 (enzyme-linked immunosorbent assay method), as well as increasing translocated GLUT4 (confocal-immunocytochemical method). The LC-MS/MS metabolomics method was used to analyze the metabolites of the tested fractions. Comparative statistical analysis through one way ANOVA test and multivariate analysis through PCA and OPLS to identify bioactive marker compounds.

Results: Network pharmacology analysis predicted three therapeutic pathways of insulin resistance targeted by brotowali's compounds (PI3K, TNF, and MAPK signaling pathways) with the PI3K pathway as the main pathway. Sequentially the signaling pathway regulate the glucose homeostasis, anti-inflammation, and cell proliferation. Phosphorylation of serine-312 in IRS1 was determined to be a therapeutic target in in vitro testing based on its major role in the pathogenesis of insulin resistance (degree: 12). In vitro tests identified fraction 3 as the fraction with the highest activity of all tested fractions ($2.55 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$; $45.68 \pm 3.20\%$; $64.07 \pm 1.78 \text{ AU}$) in glycogen increasing activity, inhibition of pIRS1 ser-312, and increased GLUT4 translocation sequentially. The bioactive marker compounds of brotowali stems were identified as tinoscorside D, higenamin, and tinoscorside A.

Conclusion: Network pharmacology computation was successfully predict the therapeutic targets and active compounds of brotowali. At in vitro test, compounds contained in brotowali stems can increase insulin sensitization with bioactive markers were tinoscorsida D, higenamin, and tinoscorsida A.