

Docking Molekular Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) dan Adas Bintang (*Anisi stellati*) sebagai penghambat sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat dengan bantuan PyRx-vina

Rinna Agustina¹, Broto Santoso²

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

¹Email: rinna.agustina91@gmail.com

²Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
Tuberkulosis; adas bintang; patikan kebo; PyRx-vina; sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat

Tuberkulosis disebabkan oleh Mycobacterium tuberculosis dan angka kejadian di negara berkembang dan berpenghasilan rendah mencapai 95 % dan di Indonesia, didapati 60% dari total prevalensi dengan laju 1 juta kasus tiap tahunnya. Potensi antituberkulosis pada senyawa alam dari adas bintang dan patikan kebo telah dilaporkan efektif. Penambatan senyawa dilakukan terhadap sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat (2Y1D,3ZHZ) yang merupakan protein yang memiliki ikatan target dengan M. tuberculosis. Pemisahan protein dan ligan menggunakan Chimera-OpenBabel. Besaran interaksi ligan-protein berdasarkan nilai binding affinity yang diperoleh dari PyRx Vina-AutoDock. Interaksi protein-ligan divisualisasi dengan PLIP (Protein-Ligan Interaction Profiler) dan PyMOL. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi anti-tuberkulosis berdasarkan jenis ikatan yang timbul dari interaksi terbaik ligan-protein dan nilai binding affinity. Hasil docking menunjukkan ligan native 2Y1D dan 3ZHZ memiliki binding affinity sebesar -7,5 dan -11 kkal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa terbaik patikan kebo dan adas bintang memiliki nilai yang lebih rendah untuk kedua protein secara berurutan adalah -5,1; -7,4; -4,1; dan -7,1 kkal/mol. Lisin, serin, treonin, glisin, dlutamin, dan asparagin merupakan residu asam amino yang menyebabkan interaksi hidrogen antara ligan-protein. Hal ini memperlihatkan bahwa ligan patikan kebo dan adas bintang diprediksi kurang berpotensi sebagai penghambat sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat .

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) merupakan penyakit infeksi menular dengan prevalensi kejadian terbesar di dunia (Dipiro, 2005). Mycobacterium tuberculosis merupakan bakteri penyebab penyakit ini yang dapat ditularkan melalui droplet penderita tuberkulosis (WHO,2015; Depkes RI,2005). WHO (2016) menyatakan kejadian terbesar tuberkulosis adalah tuberkulosis paru dengan 10,4 juta penderita dan 1,8 juta kasus kematian. Kasus kematian 95 % terjadi pada negara dengan penghasilan menengah dan rendah. 60 % dari angka kejadian berada di 6 negara diantaranya: India, Indonesia, Cina, Nigeria, Pakistan, dan Afrika selatan (WHO, 2016). Berdasarkan Depkes RI (2015) kasus BTA+ sebanyak 176.177 pada tahun 2014 dan meningkat sebanyak 1 juta kasus pada tahun 2015 (WHO, 2015). Pengendalian tuberkulosis paru dapat dilakukan dengan pengobatan sehingga pasien dapat sembuh total. Depkes RI (2015) menyatakan succes rate atau angka keberhasilan pengobatan merupakan indikator untuk mengevaluasi pengobatan TB. Standart keberhasilan pengobatan menurut WHO adalah sebesar 85 %. Pada tahun 2014 angka keberhasilan pengobatan TB hanya

sebesar 81,3%. Hal ini menunjukkan angka keberhasilan pengobatan tuberkulosis di Indonesia belum memenuhi target.

Ketidak patuhan pasien terhadap pengobatan dan kasus resistensi pengobatan merupakan faktor penyebab rendahnya angka keberhasilan kesembuhan tuberkulosis. Kasus resistensi obat (multi drug resisten) terjadi pada pengobatan lini pertama dan dapat diatasi dengan pemberian obat lini kedua namun membutuhkan waktu yang lebih panjang dan biaya yang besar sehingga efektifitas pengobatan rendah (WHO,2016). Menurut WHO (2016) angka kejamulti drug resisten sebesar 480.000 selama tahun 2015 dan kasus resistensi di Indonesia sebesar 2 % dari kejadian tuberkulosis (Kemenkes RI, 2011). Sehingga pengobatan dengan molekul obat lain perlu dilakukan untuk mengatasi adanya resistensi obat.

Euphorbia hirta dan anisi stellati telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antituberkulosis (Sergio et al, 2013). Al sanafi (2017) menyatakan patikan kebo mengandung senyawa isolat seperti: asam galat, kuersetin, mirisitrium, 3,3-di-Ogalloilquinic acid., 2,4,6-tri-O-galloyl-D-glucose dan 1,2,3,4, 6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *m.tuberculosis* H37Rv. Sieniawska et al. (2013) Minyak atsiri yang terkandung dalam anisi stellati berpotensi dalam penghambatan *m.tuberculosis*.

Docking molekular atau penambatan senyawa merupakan suatu metode dalam memprediksi aktivitas suatu senyawa secara komputasi. Mukesh & Rakesh (2011) mengungkapkan docking memiliki peran penting dalam desain obat secara rasional untuk mendapatkan afinitas dan aktifitas molekul yang diinginkan. Autodock merupakan cara yang cepat dan akurat dalam memprediksi konformasi dan energi dari ikatan suatu ligan dan molekul (Morris et al, 2009). Vina autodock merupakan salah satu aplikasi autodock yang mudah digunakan dan memiliki tingkat akurasi yang tinggi (sandep et al, 2011).

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas penghambatan senyawa alam yang terkandung dalam *Euphorbia hirta* terhadap bakteri *m. tuberculosis*.

2. METODE

Pengunduhan struktur molekul 1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase dari bank data protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Identitas molekul 3ZHZ dan 2Y1D data makromolekul diunduh dengan format pdb. Makromolekul protein dipisahkan dari residu non standarmenggunakan program cymera dan disimpan dengan dengan format pdb. Untuk menghindari bias dalam docking maka hasil pemisahan protein dilakukan penghilangan anisou dengan program editplus. Kemudian dioptimasi dengan program PyRx screening tools untuk mengatur grid box dan disimpan dala format pdbqt.

Persiapan ligan yang digunakan dari senyawa yang terdapat dalam patikan kebo dan adas bintang didapatkan dari situs <http://pubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dan diunduh dengan format sdf. Kemudian digunakan program Openbale untuk mengubah format tersebut menjadi pdb. Selanjutnya dilakukan optimasi dengan PyRx virtual screening tools untuk mengatur grid box dan disimpan dalam format pdbqt.

Autodock dilakukan dengan metode vina wizard dengan memanggil ligan dan protein yang telah dioptimasi. Kemudian dilakukan run vina hingga didapatkan hasil berupa binding affinity. Selanjutnya hasil diolah menggunakan PLIP (*Protein-Ligan Interaction Profiler*) untuk melihat interaksi yang terjadi anatara ligan-protein dan divisualisasi menggunakan program PyMOL.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintase 1- deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat dengan ligan unik 34F dan FM7 merupakan protein yang memiliki interaksi dengan *m.tuberculosis*. *Docking* molekular dilakukan terhadap molekul adas bintang dan patikan kebo dengan 2Y1D dan 3ZHZ sebagai reseptor. Komputasi

dalam penambatan senyawa menggunakan beberapa perangkat lunak antara lain: Cymera, OpenBabel, PyRx *virtual screening tools*, Editplus, PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*), dan PyMOL. Hasil penambatan senyawa molekul adas bintang dan patikan kebo dapat dilihat pada Tabel 1 dan interaksi yang terjadi antar molekul adas bintang dan patikan kebo terhadap sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Tabel Hasil Penambatan Senyawa

Kategori Ligan	Protein Target	Kode Ligan	Binding Affinity
34F	2Y1D	2Y1D	-3,6
FM7	2Y1D	3ZHZ	-6,3
34F	3ZHZ	2Y1D	-11
FM7	3ZHZ	3ZHZ	-7,5
Adas Bintang	2Y1D	Heriguard	-7,4
Adas Bintang	3ZHZ	Mol 003937	-5,1
Patikan Kebo	2Y1D	Luteolin	-7,1
Patikan Kebo	3ZHZ	Asam suksinat	-4,1

Berdasarkan tabel tersebut dapat dilihat bahwa nilai binding affinity dari ligan native lebih kecil dibandingkan nilai binding affinity dari molekul adas bintang dan patikan kebo. Nilai binding affinity menggambarkan besaran afinitas antar kedua senyawa yang berinteraksi. Semakin besar afinitas suatu molekul maka akan memberikan nilai binding affinity yang semakin kecil. Interaksi antara ligan-protein dapat dilihat dari hasil data binding affinity yang diolah menggunakan PLIP (*Protein-Ligand Interaction Profiler*).

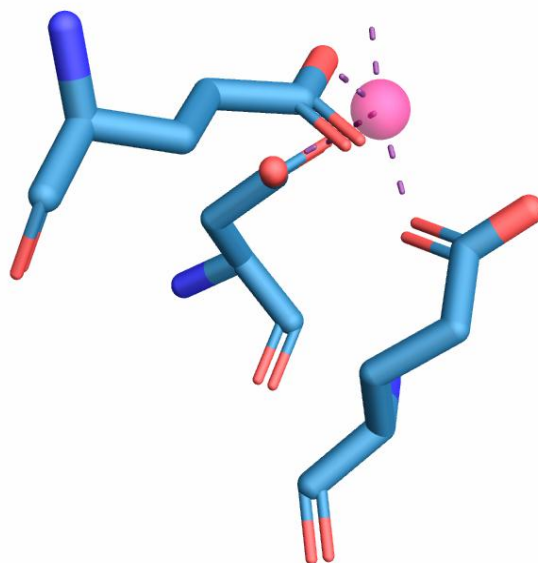
Tabel 2. Interaksi Ligan-Protein

Protein target	Ligand	Jenis Interaksi	Residu yang terlibat
2Y1D	34F	Ikatan hidrogen, Jembatan air, Jembatan garam, Pi-stacking, kompleks logam	LYS128,SER152,THR175,SER177,ASN218, LYS219,HIS248. GLY178,SER213. ASP 151, GLU153,GLU222 HIS248
2Y1D	FM7	Ikatan hidrogen Jembatan air	ASP151,GLU153,GLU222 LYS128,SER152,THR175,SER177, SER213,ASN218,LYS219,GLU222. GLY178
3ZHZ	34F	Ikatan hidrogen, Jembatan air Jembatan garam Kompleks logam	LYS128, SER152, GLU153, SER177, SER213, ASN218, LYS219. GLY178. ASP151, GLU153,GLU222.
3ZHZ	FM7	Ikatan hidrogen Jembatan air Ikatan halogen	LYS128, SER152, THR175, SER177, THR210, SER213, ASN218, LYS219, GLU222. GLY178, THR210. GLN27.
2Y1D	Heriguard	Ikatan hidrogen Jembatan air Jembatan garam Kompleks logam	LYS128, SER152, GLU153, SER177, SER213, ASN218, LYS219. GLY178. ASP151, GLU153, GLU222. ASP151, GLU153, GLU222.

3ZHZ	Mol 003937	Ikatan hidrogen Jembatan air	LYS128, SER152, THR175, SER177, SER213, ASN218, LYS219, GLU222. GLY178.
2Y1D	Luteolin	Ikatan hidrogen Jembatan air Jembatan garam Kompleks logam	LYS128, SER152, GLU153, SER177, SER213, ASN218, LYS219. GLY178. ASP151, GLU153, GLU222. ASP151, GLU153, GLU222.
3ZHZ	Asam suksinat	Ikatan hidrogen Jembatan air	LYS128, SER152, THR175, SER177, SER213, ASN218, LYS219, GLU222. GLY178.

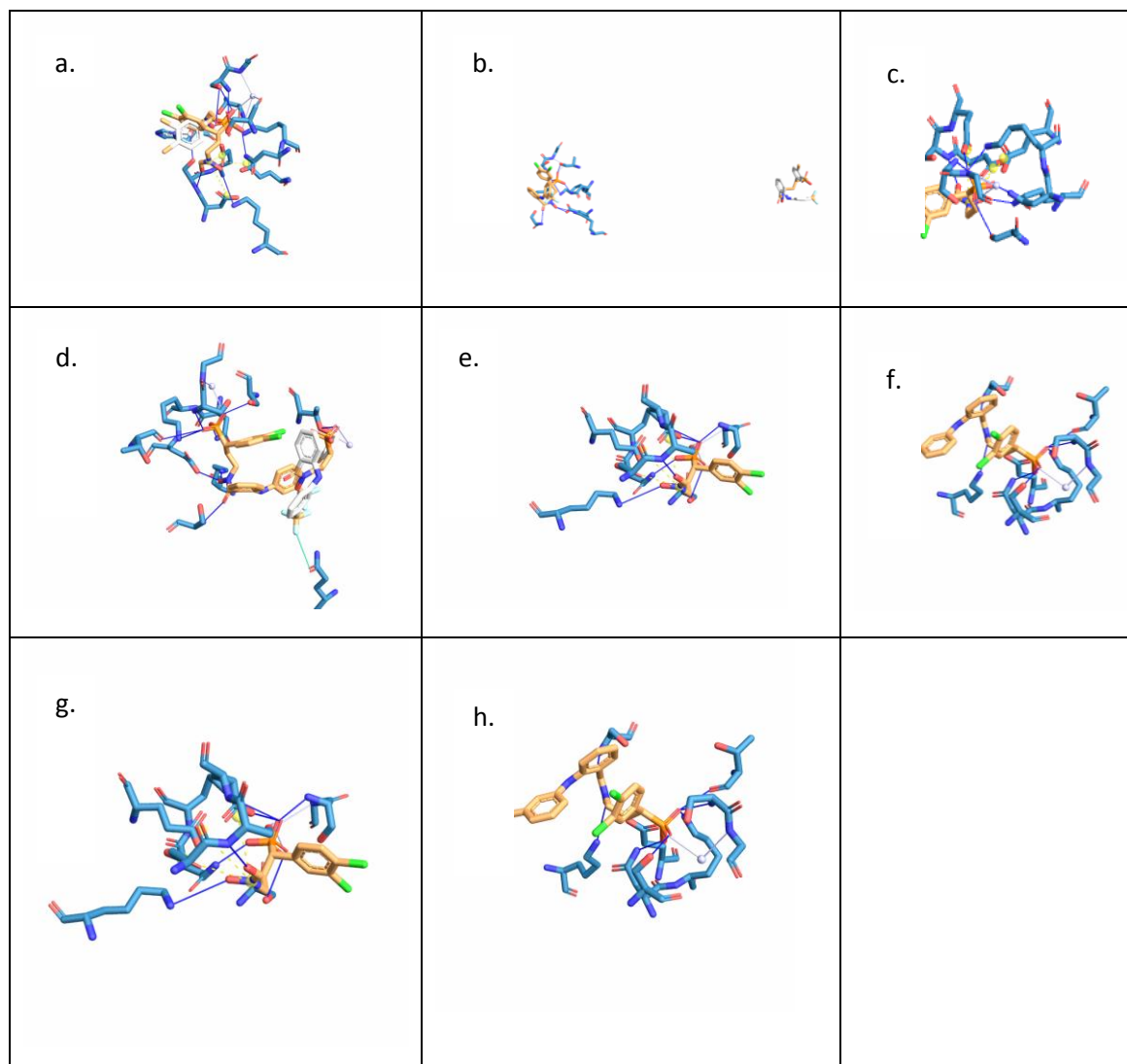
Pada tabel interaksi menggambarkan jenis interaksi yang terjadi dan asam amino yang terlibat dalam interaksi tersebut. Jenis interaksi yang terbentuk ligan-protein (3A4,FM7-heriguard, mol 003937, luteolin, dan asam suksinat) adalah interaksi hidrogen dengan jenis ikatan yang berbeda pada setiap ligannya. Residu asam amino yang berperan terhadap terjadinya interaksi ligan-protein antara lain: lisin, serin, treonin, glisin, dlutamin, dan asparagin.

Visualisasi interaksi yang terjadi dan jenis ikatan yang terbentuk dari hasil *docking* molekul menggunakan aplikasi PyMOL yang dapat dilihat pada Gambar 1. Untuk interaksi hidrogen yang terbentuk dan Tabel 2. untuk gambar interaksi ligan-protein yang terbentuk.



Gambar 1. Ikatan Hidrogen

Tabel 2. Gambar Interaksi Ligan-Protein



Keterangan: a. Interaksi 34F-2Y1D; b. Interaksi FM7-2Y1D; c. Interaksi 34F-3ZHZ; d. Interaksi FM7-3ZHZ; e. Interaksi Heriguard-2Y1D; f. Interaksi Mol003937- 3ZHZ; g. Interaksi Luteolin-2Y1D; h. Interaksi Asam suksinat-3ZHZ.

4. KESIMPULAN

Hasil docking menunjukkan ligan native 2Y1D dan 3ZHZ memiliki binding affinity sebesar -7,5 dan -11 kkal/mol. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa terbaik patikan kebo dan adas bintang memiliki nilai yang lebih rendah untuk kedua protein secara berurutan adalah -5,1; -7,4; -4,1; dan -7,1 kkal/mol. Lisin, serin, treonin, glisin, dlutamin, dan asparagin merupakan residu asam amino yang menyebabkan interaksi hidrogen antara ligan-protein. Hal ini memperlihatkan bahwa ligan patikan kebo dan adas bintang diprediksi kurang berpotensi sebagai penghambat sintase 1-deoksi-D-ksilulosa-5-fosfat

REFERENSI

- Al sanafi. (2017). Pharmacology and therapeutic potential of *Euphorbia hirta* (Syn:
- Depkes RI,(2005). Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Tuberkulosis,Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta , 1–110.
- Depkes RI. (2015). Profil Kesehatan Indonesia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., & Posey, L. M.(2005). Pharmacotherapy A Phatopsyologic Approch (7ed.).New York: The MCGraw-Hill companies, Inc.
- Euphorbia pilulifera*) : A review. IOSR Journal Of Pharmacy
- Kemenkes RI. (2016). Penanggulangan Tuberkulosis, Kementerian Kesehatan Repiblik Indonesia,Jakarta.
- Kemenkes RI. (2011). Strategi nasional pengendalian tb di indonesia 2010-2014. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., Olson, A. J. 2009. Automated Docking of Flexible Ligands to Flexibe; Receptor. La Jolla, California, U.S.A:The Scripps Research Institute.
- Mukesh, B., & Rakesh, K. 2011. Molecular Docking: A Review, IJRAP.
- Rajasekar, T.V., Anbarasu ,S., Manikkam, R., Joseph, J., Kumar, V. (2015). Inhibitory activity of *Euphorbia hirta* (Tawa- tawa) extracts against *Mycobacterium tuberculosis* and other non mycobacterial pathogens. *Der Pharma Chemica* 7(8):213-216.
- Sergio, O.A., Fabiola, V. C., Gualdalupe, M. N., Blanca, C. R.M., Leon, O. C.,. (2013). Evaluation of antimycobacterium activity of the essential oils of cumin (*Cuminum cyminum*), clove (*Eugeniacyrophyllata*), cinnamon (*Cinnamomum verum*), laurel (*Laurus nobilis*) and anis (*Pimpinella anisum*) against *Mycobacterium tuberculosis*. *Journal of Biochemistry*.
- Sieniawska, E., Ossor, M Swatko., Sawicki, Rafal., Ginalska, G.,. (2015). Morphological Changes in the Overall *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra Cell Shape and Cytoplasm Homogeneity due to *Mutellina purpurea*L. Essential Oil and Its Main Constituents. Department of Pharmacognosy with Medicinal Plant Unit, Medical University of Lublin Chodzki 1. Poland.
- WHO. (2016). Tuberculosis. World Health Organisation. Diakses dari: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>.