

Kajian Ikatan 3D Molekuler Senyawa Terpilih Ketumbar (*Coriandrum sativum*) dan Adas Bintang (*Anisi Stellati*) terhadap sintase 6,7-dimetil-8-ribitillumazin (2VI5, 2C92) *Mycobacterium tuberculosis*

Karunia Dinda Ananta^{1*}, Broto Santoso²

¹Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

²Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: karuniadindaananta@gmail.com

*Email: broto.santoso@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
Mycobacterium tuberculosis;
Coriandrum sativum;
Anisi stellati;
Molecular Docking;
2VI5;
2C92

*Tuberkulosis merupakan satu dari 10 terbanyak penyebab kematian di dunia. Tahun 2016, 10,4 juta orang terkena TB, dan 1,7 juta diantaranya meninggal dunia. Metode docking molekuler berperan penting dalam perencanaan, perancangan, dan penemuan obat baru. Tujuan dari penelitian adalah untuk menganalisis potensi tanaman herbal sebagai anti tuberkulosis melalui docking molekuler. Docking molekuler dilakukan dengan program PyRx-vina terhadap protein target sintase 6,7-dimetil-8-ribitillumazin (2VI5, 2C92) *Mycobacterium tuberculosis* untuk ligan dari ketumbar (*Coriandrum sativum*) dan adas bintang (*Anisi stellati*) dan ligan native masing-masing protein, TP6 dan Y19. Hasil yang didapat dilihat dari nilai binding affinity. Semakin kecil nilai binding affinity semakin kecil juga energi yang dibutuhkan untuk berikatan dengan protein sehingga lebih efektif sebagai anti TBC. Sebelum dilakukan docking molekuler dilakukan validasi terlebih dahulu terhadap ligan native TP6 dan Y19 untuk menilai kelayakan metode yang digunakan. Ligan terbaik yang didapat dari ketumbar dari hasil docking protein 2VI5 adalah ligla (binding affinity -4) dan 2C92 adalah EIC (binding affinity -6,4). Sedangkan untuk adas bintang, hasil docking protein 2VI5 didapatkan ligan terbaik kaemferol (binding affinity -7,3) dan ligan terbaik 2C92 adalah 5,7-dihidroxy-2-(4-hydroxyphenil)-3-[(2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-trihidroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one (binding affinity -9). Terdapat residu dalam interaksi antara ligan uji dari adas bintang dengan protein 2C92 yang mempunyai kemiripan dengan residu dari interaksi antara ligan native TP6 dengan protein 2C92 yaitu ALA 59 dan TRP 27. Hal ini berarti ada kemungkinan adas bintang bisa digunakan sebagai obat TBC.*

1. PENDAHULUAN

Metode docking molekuler sangat penting dalam perencanaan dan perancangan obat baru. Metode ini bertujuan untuk memprediksi ikatan dan afinitas molekul berukuran kecil termasuk ikatan reseptor target (Guedes *et al.*, 2014). Identifikasi konformasi ikatan memerlukan dua langkah: eksplorasi luas jarak konformasi mewakili macam mode potensial ikatan; prediksi yang akurat ikatan energi dihubungkan dengan setiap ikatan konformasi yang diprediksi (Ferreira *et al.*, 2015). Metode docking yang sukses harus dapat memprediksi dengan benar pose native ligan dalam ikatan reseptor dan interaksi fisika kimia molekuler (Guedes *et al.*, 2014). Penerapan praktis docking molekul membutuhkan data

bank untuk mencari target dengan format PDB yang tepat dan metode untuk menyiapkan ligan sebagai file PDB (Dar and Mir, 2017).

Tuberculosis (TB) merupakan satu dari top 10 penyebab kematian di dunia. Pada tahun 2016, 10.4 juta orang terkena TB, dan 1.7 juta meninggal karena penyakit tersebut. Lebih dari 95% kematian akibat TB terjadi pada negara berpenghasilan rendah sampai menengah (WHO, 2017). Perkiraan wabah TB pada tahun 2016 oleh WHO menyertakan Indonesia dalam 30 negara dengan beban TB tinggi yaitu sebesar 261000 populasi (World Health Organization, 2017). Tuberculosis (TB) merupakan penyakit menular pada manusia yang terutama disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). MTB menyebar melalui udara pada saat orang batuk, bersin, dapat juga melalui ludah, tetesan air liur yang kemudian dapat terhirup oleh orang yang berada didekatnya (Sanou *et al.*, 2015).

Permintaan antimikroba untuk mencegah pembusukan makanan dan infeksi bakteri semakin meningkat sehingga digunakanlah tanaman obat sebagai alternatif pengawet sintesis dan juga sebagai antibiotik. Minyak essential ketumbar telah dilaporkan sebagai antimikroba yang mampu menghambat mikroorganisme berspektrum luas. *B. cereus* merupakan strain yang paling sensitif terhadap minyak essential tanaman herbal ini dengan (MIC50.1%, v / v), sedangkan *P. Aeruginosa* paling tahan terhadap penghambatan oleh minyak yang diuji dengan MIC (1,6%, v / v) (Silva *et al.*, 2011). Aktivitas antibakteri terhadap sebagian besar strain bakteri dari *Coriandrum sativum* lebih tinggi daripada *Foeniculum vulgare*. Secara khusus minyak ketumbar menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *B. megaterium* (Cantore *et al.*, 2004). Diantara bakteri gram negatif, minyak essential dari *Coriandrum sativum* sangat aktif melawan *K. Pneumoniae*, dan *P. Mirabilis*. Aktivitas terbaik ditemukan untuk bakteri gram positif *S. Aureus* dan *Bacillus spp* yaitu ($65 \times 10^2 \mu\text{g}$) setara dengan ($30 \mu\text{g}$) kloramfenikol (Matasyoh *et al.*, 2009).

Beberapa studi telah melakukan penelitian terhadap minyak essential ketumbar dan terbukti mampu berkhasiat sebagai antibakteri baik bakteri gram negatif maupun positif. Untuk membuktikan kemampuan *Coriandrum sativum* atau ketumbar dalam menghambat aktivitas suatu bakteri terutama bakteri dari tuberculosis yaitu *Mycobacterium tuberculosis*, dilakukan suatu pengujian melalui molecular docking. Protein target 2VI5 dan 2C92 dari makromolekul 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase pada *Mycobacterium tuberculosis* diuji apakah terdapat aktivitas dengan *Coriandrum sativum*. Dari penelitian ini diharapkan *Coriandrum sativum* dapat menjadi alternatif dalam pengobatan tuberculosis baik di masa sekarang maupun di masa yang akan datang.

2. METODE

2.1. Alat

Seperangkat komputer, PyRx 0.9.7, Chimera 1.12, Microsoft Office Excel 2007, Edit Plus 4.0.631, PDBest, PLIP, PyMol 1.05.03.

2.2. Bahan

Struktur kimia dari tanaman *Coriandrum sativum* atau ketumbar dengan protein target 2VI5 dan 2C92 dari makromolekul 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase pada *Mycobacterium tuberculosis* dengan ligan native masing-masing TP6 dan Y19.

2.3. Langkah kerja

Dilakukan pencarian protein pada website rcsb.org dengan target organisme *Mycobacterium tuberculosis* kemudian dipilih suatu makromolekul yang diinginkan, dalam penelitian ini makromolekul 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase. Dari makromolekul tersebut kemudian dipilih suatu protein target dengan resolusi x-ray dibawah 2,5 Å, didapatkan 2VI5 dan 2C92. Selanjutnya protein target dilihat pada EditPlus apakah terdapat ANISOU. Jika terdapat ANISOU harus dihilangkan terlebih dahulu menggunakan PDBest.

Langkah selanjutnya adalah melakukan preparasi menggunakan Chimera 1.12 untuk protein target 2VI5 dan 2C92. Protein target akan mengandung banyak rantai dalam senyawanya, sehingga perlu dilakukan pemilihan salah satu rantai untuk dilakukan pengujian. Dalam penelitian ini dipilih rantai A. Penghapusan juga dilakukan pada heteroatom yang tidak diperlukan kecuali ligan, juga molekul air yang akan mempengaruhi protein pada saat pengujian. Selanjutnya dilakukan pemisahan antara protein dan ligan. Pemisahan ini dilakukan dengan menggunakan PyRx Autodock Vina untuk selanjutnya dilakukan docking molecular antara protein target dengan tanaman uji. Pengaturan center of mass atau pusat massa ligan dilakukan untuk mengatur binding site pocket dari protein dan target ligan. protein target 2VI5 dan 2C92 diatur koordinat x, y, dan z dengan dimensi gridbox tertentu. Docking dilakukan untuk melihat interaksi antara protein dan ligan. Selanjutnya hasil yang didapatkan disimpan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Preparasi

Preparasi dilakukan dengan memilih protein dan ligan yang sesuai untuk digunakan dalam docking molecular melalui website rcsb.org. Pemilihan organisme berdasarkan penyakit yang ingin diteliti yang kemudian akan diuji untuk mendapatkan alternative pengobatan penyakit itu sendiri. Organisme yang dipilih adalah *Mycobacterium tuberculosis* yang merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit tuberculosis. Dari organisme tersebut dipilih salah satu makromolekul untuk diuji dalam penelitian ini dipilih 6,7-dimethyl-8-ribityllumazine synthase. Selanjutnya dipilih protein target yang memiliki nilai resolusi x-ray kurang dari 2,5 Å didapatkan protein target 2VI5 dan 2C92. Pemilihan protein target ini berdasarkan resolusi yang kurang dari 2,5 Å karena pada resolusi ini merupakan resolusi yang paling baik untuk dilakukan pengujian dalam hal ini docking molecular, selain itu protein target harus mempunyai unique ligand dan terdapat informasi 2D diagram dan interaksi dari ligan tersebut. Kemudian dilakukan preparasi menggunakan PyRx Autodock Vina untuk memisahkan antara ligan dan protein, lalu dilakukan docking molecular antara protein dan ligan target serta protein dengan ligan tanaman uji yaitu *Anisi stellati* dan *Coriandrum sativum*. Pengaturan pusat massa untuk protein target 2VI5 adalah x : 11,29596; y : 6,106261; z : -15,3393, dan dimensi gridboxnya x : 55; y : 70; z : 110. Sedangkan untuk protein target 2C92 adalah x : -23,0245; y : 1,03229; z : 5,257774 dengan dimensi gridbox x : 50; y : 70; z : 90.

3.2. Validasi

Sebelum melakukan docking molecular, dilakukan validasi terlebih dahulu terhadap ligan asli dari protein target. Tujuan dilakukannya validasi adalah untuk mengetahui apakah ada kemiripan hasil antara ligan hasil kristalografi dengan ligan yang telah dilakukan optimasi sehingga diketahui layak atau tidak layaknya metode docking molecular yang akan digunakan.

Hasil validasi dilihat dari konformasi dan posisi 3D dari hasil docking molecular antara ligan dan protein target dengan konformasi ligan kristalografi dan protein target. Selanjutnya dilakukan penilaian kedekatan sebelum dan sesudah dilakukan docking molecular struktur ligan dengan parameter RMSD (Root-Mean-Square Deviation) menggunakan program Pymol. Metode dapat digunakan bila hasilnya kurang dari 2,0 (Luthfiyah, 2014).

3.3. Hasil Interaksi Tanaman Herbal dengan Protein Target

Pencarian interaksi antara tanaman herbal terpilih dengan protein target dilakukan dengan program PLIP (Protein-Ligan Interaction Profiler) dan PyMol. Sebelumnya, dilakukan docking molecular terlebih dahulu menggunakan PyRx Autodock Vina untuk mendapatkan nilai binding afinity dari masing-masing ligan tanaman herbal uji yaitu adas

bintang dan ketumbar. Semakin besar afinitas suatu senyawa akan menghasilkan nilai binding afinity semakin kecil. Semakin kecil nilai binding afinity, semakin kecil pula energi yang dibutuhkan untuk berikatan dengan protein sehingga lebih efektif untuk digunakan sebagai pengobatan tuberculosis.

Nilai binding afinity dapat dilihat pada Tabel 1. Dari hasil tersebut didapatkan nilai binding afinity tanaman adas bintang dan ketumbar dari hasil docking ligan tanaman dengan protein target 2VI5 maupun 2C92, adas bintang masing-masing -7,3; dan -9 dari ligan terbaik kaempferol dan 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromen-4-one sedangkan untuk tanaman ketumbar, nilai binding afinitasnya adalah -4 dan -6,4 dari ligan terbaik ligla dan EIC. Jika nilai binding afinity dari tanaman uji dibandingkan dengan nilai binding afinity dari ligan native, nilai dari adas bintang unruk masing-masing protein target juga lebih kecil dibandingkan dengan ligand native.

Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwa adas bintang mempunyai nilai binding afinity yang lebih kecil dibandingkan dengan ketumbar maupun ligan native sehingga adas bintang lebih poten digunakan dalam pengobatan tuberculosis.

Tabel 1. Hasil Penambatan Senyawa

LIGAND CATEGORY	PROTEIN TRARGET	LIGAND CODE	BINDING AFINITY	CODING
2VI5_LIGAN	2VI5_PROT	TP6	-5,9	
2VI5_LIGAN	2C92_PROT	TP6	-5,8	
2C92_LIGAN	2VI5_PROT	Y19	-7,1	
2C92_LIGAN	2C92_PROT	Y19	-6,6	
ADAS BINTANG	2VI5_PROT	mol000422	-7,3	Kaempferol
ADAS BINTANG	2C92_PROT	mol008479	-9	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromen-4-one
KETUMBAR	2VI5_PROT	mol002683	-4	
KETUMBAR	2C92_PROT	mol000131	-6,4	Ligla EIC

3.4. Interaksi Antara Residu Ligand Tanaman dengan Ligan Native

Interaksi dilihat dari adanya residu pada ligand tanaman hasil PyMol dengan residu yang ada pada ligan native. Dengan adanya kemiripan residu, dapat dikatakan tanaman uji mempunyai potensi yang sama atau lebih dari ligan native untuk digunakan sebagai pengobatan dalam hal ini tuberculosis.

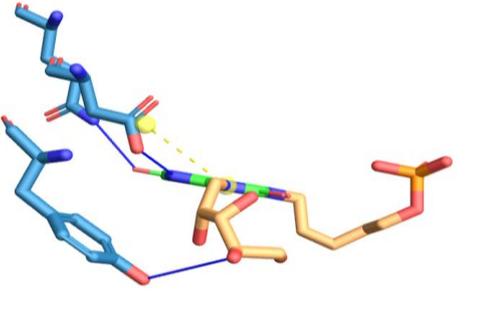
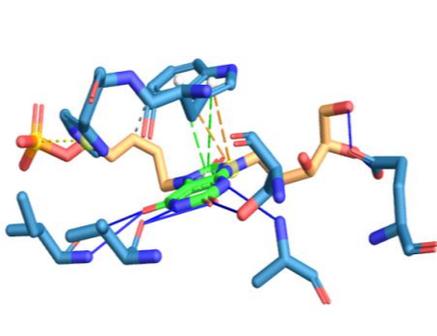
Interaksi yang terjadi dari setiap tanaman akan berbeda. Hasil interaksi antara residu ligand tanaman dengan ligan native dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil interaksi menunjukkan terdapat residu yang sama antara interaksi ligand adas bintang 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromen-4-one dengan protein 2C92 dan TP6 yang merupakan ligan native dengan protein 2C92. Interaksinya berupa interaksi pada ikatan hidrogen dengan residu ALA59 da pada pi-stacking dengan residu TRP27. Gambar hasil

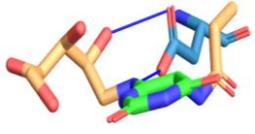
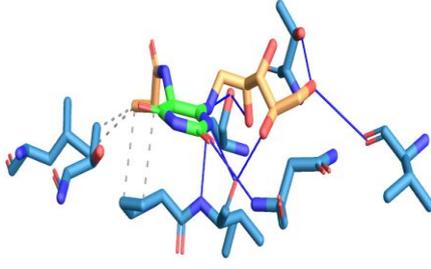
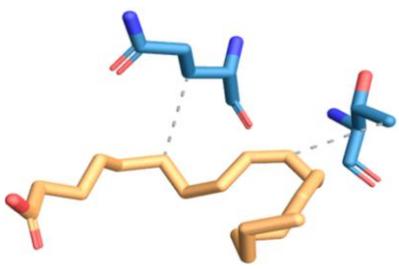
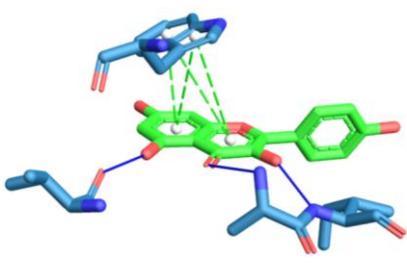
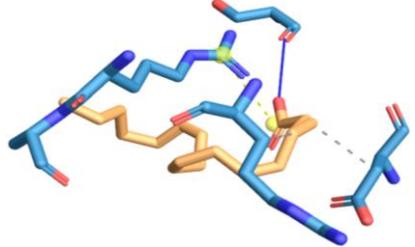
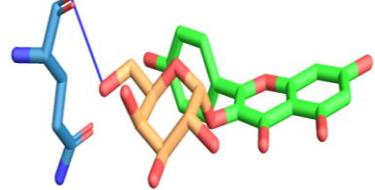
interaksi antara ligan native dan ligan tanaman uji dengan protein target dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 2. Interaksi Antara Residu Ligan Tanaman Uji dengan Residu Ligan Native

Protein Target	Ligan	Jenis Interaksi	Residu yang terlibat
2VI5	TP6	1.Ikatan Hidrogen 2.Jembatan Garam	1.TYR92; ASP95; GLN99 2.ASP95
2VI5	TP6	1.Interaksi Hidrofobik 2.Ikatan Hidrogen 3.Jembatan Garam 4.Pi-stacking 5.Pi-Cation Interaction	1.TRP27 2.SER25; ALA59; GLU61; VAL81; ILE83 3.HIS28 4.TRP27 5.TRP27
2C92	Y19	1.Ikatan Hidrogen	1.ASP95
2C92	Y19	1.Interaksi Hidrofobik 2.Ikatan Hidrogen	1.PRO111; THR149 2.VAL97; THR102; SER105; ILE112; ASN114
Adas Bintang	Kaempferol	1.Interaksi Hidrofobik	1.GLN99; THR102
Adas Bintang	5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxochromen-4-one	1.Ikatan Hidrogen 2.pi-stacking	1.ALA59; ILE60; VAL81 2.TRP27
Ketumbar	Ligla	1.Interaksi Hidrofobik 2.Ikatan Hidrogen 3.Jembatan Garam	1.ASP74; ARG154; ALA158 2.SER109 3.ARG157
Ketumbar	EIC	1.Ikatan Hidrogen	1.GLN99

Tabel 3. Interaksi Antara Ligan dan Protein Target

			
2VI5_LIGAN	2VI5_PROT	2VI5_LIGAN	2C92_PROT

	
2C92_LIGAN 2VI5_PROT	2C92_LIGAN 2C92_PROT
	
ADAS BINTANG 2VI5_PROT	ADAS BINTANG 2C92_PROT
	
KETUMBAR 2VI5_PROT	KETUMBAR 2C92_PROT

4. KESIMPULAN

Hasil docking molecular yang didapat dilihat dari nilai binding afinity. Ligan terbaik yang didapat dari ketumbar dari hasil docking protein 2VI5 adalah ligla (binding afinity -4) dan 2C92 adalah EIC (binding afinity -6,4). Sedangkan untuk adas bintang, hasil docking protein 2VI5 didapatkan ligan terbaik kaemferol (binding afinity -7,3) dan ligan terbaik 2C92 adalah 5,7-dihidroxy-2-(4-hydroxyphenil)-3-[(2R, 3R, 4S, 5R, 6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one (binding afinity -9). Semakin kecil nilai binding afinity semakin kecil juga energi yang dibutuhkan untuk berikatan dengan protein sehingga lebih efektif sebagai anti tuberculosis. Terdapat residu dalam interaksi antara ligan uji dari adas bintang dengan protein 2C92 yang mempunyai kemiripan dengan residu dari interaksi antara ligan native TP6 dengan protein 2C92 yaitu ALA 59 dan TRP 27. Hal ini berarti ada kemungkinan adas bintang bisa digunakan sebagai obat TBC.

REFERENSI

- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, and Bourne PE. (2000) The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000; 28: 235-242.
- Cantore P. LO, Iacobellis N.S., Marco A. DE, Capasso F., Senatore F., Lo Cantore P., Iacobellis N.S., De Marco A., Capasso F. and Senatore F., 2004, Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller Var. *vulgare* (Miller) essential oils., *Journal of agricultural and food chemistry*, 52 (26), 7862–7866.
- Dallakyan S, and Olson AJ. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol*. 2015; 1263:243-50
- Dar A.M. and Mir S., 2017, Molecular Docking: Approaches, Types, Applications and Basic Challenges, *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*, 8 (2), 8–10.
- Ferreira L.G., Dos Santos R.N., Oliva G. and Andricopulo A.D., 2015, *Molecular docking and structure-based drug design strategies*,
- Guedes I.A., de Magalhães C.S. and Dardenne L.E., 2014, Receptor-ligand molecular docking, *Biophysical Reviews*, 6 (1), 75–87.
- Luthfiyah Y., 2014, *PEMODELAN TIGA DIMENSI (3D) IKATAN HASIL DOCKING MOLEKULAR TURUNAN DIKETOPIPERAZIN (DKP) DENGAN Bcl-2 PADA SEL MCF-7*, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Matasyoh J.C., Maiyo Z.C., Ngure R.M. and Chepkorir R., 2009, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*, *Food Chemistry*, 113 (2), 526–529.
- O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, and Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox. *J. Cheminformatics*. 2011; 3: 33. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33
- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 2004; 25(13): 1605-12.
- Salentin S, Schreiber S, Haupt VJ, Adasme MF, and Schroeder M. PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucl. Acids Res*. 2015; 43 (W1): W443-W447. DOI: 10.1093/nar/gkv315
- Sanou A., Bañuls A.-L., Van Anh N.T. and Godreuil S., 2015, *Mycobacterium tuberculosis*: ecology and evolution of a human bacterium, *Journal of Medical Microbiology*, 64 (11), 1261–1269.
- Silva F., Ferreira S., Queiroz J.A. and Domingues F.C., 2011, Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry, *Journal of Medical Microbiology*, 60 (2), 1480.
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8 Schrödinger, LLC
- Trott O. The Molecular Graphics Lab at The Scripps Research Institute – AutoDock Vina is an open-source program for doing molecular docking. 2010. [cited 2017]. Dapat diakses pada laman: <http://vina.scripps.edu/index.html>

WHO, 2017, WHO | Tuberculosis, *WHO* Terdapat di: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/> [Diakses pada December 24, 2017].

World Health Organization, 2017, *Global Tuberculosis Report*,