

Hasil Komputasi Vina untuk Kandungan Bawang Putih dan Adas Bintang Terhadap Protein Dehidrogenase Piruvat *Mycobacterium tuberculosis*

Nur Cholis Endriyatno^{1*}, Broto Santoso^{1*}

¹Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: cholis.jutsu@gmail.com

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

Abstrak

Keywords:

Bawang Putih;
4MP2;
4MP7;
PyRx Docking,
Antituberkulosis.

Tuberculosis merupakan salah satu penyebab kematian terbanyak di dunia. Penyakit ini disebabkan oleh Mycobacterium tuberculosis. Inovasi perlu dilakukan melihat potensi tuberculosis multi-drug resistant (TB MDR) yang meningkat. Molecular docking dilakukan terhadap target jalur Pyruvate dehydrogenase (PDH) dengan varian protein 4MP2 dan 4MP7, senyawa aktif yang digunakan adalah turunan bawang putih (Allium sativum). Penelitian ini bertujuan untuk mencari senyawa alam yang dapat menghambat pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis. Protein dipisahkan dari residu dan diambil unique-ligand (PVI dan TLA) dari protein tersebut menggunakan Chimera. Perolehan binding affinity sebagai kuantifikasi interaksi antara protein-ligan dilakukan dengan PyRx metode Vina Autodock. Visualisasi interaksi ligan-protein dihasilkan dengan Protein-ligand Interaction Profiler (PLIP) dan PyMol. Senyawa aktif dan ikatan ligan dengan protein adas bintang dengan 4MP2 (kaempferol), bawang putih dengan 4MP2 (quercetin), adas bintang dengan 4MP7 (Benzaldoxime), dan bawang putih dengan 4MP7 (Benzaldoxime) berturut-turut memiliki binding affinity sebesar -7,4; -5,9; -7,3; dan -5,8 sedangkan ligan native pada 4MP2 dan 4MP7 memiliki binding affinity -4,2 sampai -4,5. Nilai binding affinity yang paling kecil menunjukkan efektifitas sebagai anti tuberkulosis, disimpulkan bahwa dengan adanya kesamaan residu dan nilai binding affinity yang kecil senyawa alam dalam adas bintang lebih berpotensi dibanding bawang putih, adas bintang dapat dikembangkan menjadi salah satu obat tuberculosis

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TB) adalah salah satu dari 10 penyebab kematian terbanyak di dunia. Pada tahun 2016 dengan 10,4 juta orang terinfeksi TB dan 1,7 juta meninggal karena penyakit ini (termasuk 0,4 juta di antara orang dengan HIV). Lebih dari 95% kematian akibat TB terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. Tujuh negara terbesar penyebaran penyakit ini yaitu India, Indonesia, China, Filipina, Pakistan, Nigeria, dan Afrika Selatan. TB adalah pembunuh utama orang HIV-positif: pada tahun 2016, 40% kematian akibat HIV disebabkan oleh TB. TB yang tahan terhadap multidrug (MDR-TB) tetap merupakan krisis kesehatan masyarakat dan ancaman keamanan kesehatan. WHO memperkirakan bahwa ada 600.000 kasus baru dengan ketahanan terhadap rifampisin, dimana 490.000 memiliki TB-MDR. Secara global, kejadian TB turun sekitar 2% per tahun. Hal ini perlu dipercepat ke penurunan tahunan 4-5% untuk mencapai target 2020 (WHO, 2017). Di Indonesia pada tahun 2016 penyakit tuberculosis tercatat sebanyak 156.723 kasus dengan persentase laki-laki 61% dan perempuan 39% (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Tuberkulosis (TBC atau TB) adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri Mikobakterium tuberkulosa. Penyebab penyakit ini adalah bakteri kompleks

Mycobacterium tuberculosis. Mikrobakterium *tuberculosis* merupakan jenis yang terpenting dan paling sering dijumpai. Bakteri ini merupakan bakteri basil yang sangat kuat sehingga memerlukan waktu lama untuk mengobatinya. Bakteri ini lebih sering menginfeksi organ paru-paru (90%) dibandingkan bagian lain tubuh manusia (Masrin, 2008).

Bawang putih (*Allium sativum*) sebenarnya berasal dari Asia Tengah, diantaranya Cina dan Jepang yang beriklim subtropik. Dari sini bawang putih menyebar ke seluruh Asia, Eropa, dan akhirnya ke seluruh dunia. Di Indonesia, bawang putih dibawa oleh pedagang Cina dan Arab, kemudian dibudidayakan di daerah pesisir atau daerah pantai. Seiring dengan berjalannya waktu kemudian masuk ke daerah pedalaman dan akhirnya bawang putih akrab dengan kehidupan masyarakat Indonesia. Perannya sebagai bumbu penyedap masakan modern sampai sekarang tidak tergoyahkan oleh penyedap masakan buatan yang banyak kita temui di pasaran yang dikemas sedemikian menariknya (Syamsiah dan Tajudin, 2003).

Secara klinis, bawang putih telah dievaluasi manfaatnya dalam berbagai hal, termasuk sebagai pengobatan untuk hipertensi, hiperkolesterolemia, diabetes, rheumatoid arthritis, demam atau sebagai obat pencegahan atherosclerosis, dan juga sebagai penghambat tumbuhnya tumor. Banyak juga terdapat publikasi yang menunjukkan bahwa bawang putih memiliki potensi farmakologis sebagai agen antibakteri, antihipertensi dan antitrombotik (Majewski, 2014).

Ekstrak etanol bawang putih memiliki efek antibakteri terhadap *Mycobacterium tuberculosis* strain H37RV dengan kadar bunuh minimal sebesar 2% dan efek antibakteri terhadap *Multidrug Resistant Mycobacterium tuberculosis* dengan kadar bunuh minimal sebesar 4% (Ramsif *et al.*, 2012).

Bawang putih dan adas bintang diharapkan menjadi salah satu solusi dari antituberkulosis. Untuk mengetahui hal tersebut, dilakukan penelitian komputasi antara protein 4MP2 dan 4MP7 dari *Mycobacterium tuberculosis*, *Binding affinity* terbaik menunjukkan energi yang dibutuhkan ligan untuk berikatan dengan protein 4MP2 dan 4MP7 semakin rendah nilai *binding affinity* maka semakin bagus, serta potensi atau tidaknya bawang putih dan adas bintang dapat dilihat dari kesamaan residu yang terlibat.

2. METODE

Penelitian ini menggunakan metode *in silico* (penelitian berdasarkan komputasi). Aplikasi yang digunakan meliputi Microsoft Excel 2007, PyRx 0.9.7 (Dallakyan S, 2015), Vina-AutoDock (Trott O, 2010), OpenBabel (O'Boyle NM *et al.*, 2011), Chimera 1.12 (Pettersen EF, 2014), EditPlus 4.0.631, PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8 Schrödinger, LLC), Plip (Salentin S, 2015) dan PDBest. PDBest digunakan untuk menghilangkan *anisou* pada struktur senyawa. *Anisou* dapat menyebabkan kerancuan dalam penelitian karena struktur senyawa menjadi berbayang, sehingga harus dihilangkan. Aplikasi EditPlus berguna untuk menentukan dimensi dari suatu struktur. Struktur dibuka di EditPlus, dicari HETAM, dan disalin bagian HETAM. Salinan HETAM ditempel pada aplikasi Excel. Salinan HETAM pada Excel dicari bagian X, Y, Z dan masing-masing reratanya untuk menentukan pusat massa ligan. Aplikasi Chimera digunakan untuk memilih rantai pada suatu senyawa. Apabila suatu senyawa memiliki 2 rantai atau lebih, maka dipisahkan dengan Chimera. Dipilih salah satu rantai dari suatu senyawa agar dapat dilakukan *docking* dengan PyRx. Aplikasi PyRx berguna untuk men-*docking* senyawa dengan senyawa lain.

Validasi metode dilakukan dengan memisahkan komponen protein dengan ligan menggunakan Chimera. Kemudian, validasi *docking* molekular dan protein target menggunakan aplikasi PyRx-AutoDock-Vina. Analisis hasil validasi dilakukan dengan mengamati kedekatan struktur ligan sebelum dan setelah dilakukan *molecular docking* menggunakan parameter RMSD (*Root-Mean-Square Deviation*). RMSD yang diperoleh bernilai 0 yang menunjukkan metode tersebut dapat digunakan.

Pada penelitian ini, target berupa protein 4MP2 (ligan unik: PV1) dan 4MP7 (ligan unik: TLA) pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan protein pada tanaman adas bintang (*Pimpinella anisum*) dan sangketan (*Achyranthes aspera*). Pencarian protein pada *rcsb.org* didapatkan target protein 4MP2 beresolusi 1,75 Å dan 4MP7 beresolusi 1,8 Å untuk organisme *Mycobacterium tuberculosis* dengan target Pyruvate dehydrogenase (PDH). Senyawa dilihat pada EditPlus untuk melihat adanya *anisou*, apabila ada *anisou* dihilangkan dengan PDBest. Kemudian dicari pusat massa ligan dan mulai dipreparasi menggunakan PyRx. *Docking* dilakukan dengan metode Vina Autodock hingga hasil muncul.

Protein 4MP2 dan 4MP7 kemudian dipreparasi menggunakan Chimera 1.12. untuk menghilangkan residu, baik menyisakan asam aminonya saja ataupun ligan saja. PyRx merupakan perangkat lunak untuk simulasi *docking molecular*. Dalam *docking*, pengaturan COM (*Center of Mass*) atau pusat massa ligan sangatlah penting untuk mengatur *binding site pocket* dari protein dan target ligan.

Docking dilakukan dengan metode Vina Autodock untuk melihat bagaimana interaksi antara protein dan ligan. Nilai binding affinity yang paling kecil menunjukkan efektifitas sebagai anti tuberkulosis.

Hasil *docking* diurutkan nilai binding affinity terkecil dengan RMSD 0. Dilipih 4 interaksi terbaik. Kemudian masing-masing protein dipreparasi menggunakan PyMOL untuk direaksikan dengan protein target. Setelah itu, hasil dari PyMOL dipreparasi menggunakan PLIP secara *off line* hingga didapat hasil berupa folder berisi gambar protein dan informasi interaksi yang terjadi.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Molecular docking dilakukan terhadap target jalur Pyruvate dehydrogenase (PDH) dengan varian protein 4MP2 dan 4MP7 yang masing-masing mempunyai satu rantai protein. UCF chimera digunakan untuk mempreparasi ligan dan protein dengan hasil geometri molekul 3D. validasi ligan ligan dilakukan pada semua algoritma docking untuk mengetahui kemiripan struktur komformatif ligan natif kristalografi dan ligan natif hasil komputasi docking. Adas bintang dan bawang putih memiliki nilai RMSD 0. RMSD menyatakan kemiripan dan posisi struktur 3D ligan natif terhadap ligan kristalografi.

Hasil yang didapatkan dari docking antara ligan dan protein target menghasilkan nilai *binding affinity*. semakin kecil nilai *binding affinity* mempunyai arti bahwa kemampuan senyawa tersebut memiliki aktifitas yang semakin tinggi. *binding affinity* adalah kemampuan suatu senyawa dalam berikatan dengan protein target. Pada penelitian ini didapatkan binding affinity adas bintang dan bawang putih melebihi dari ligan natif, yang artinya kedua sampel tersebut sangat baik untuk berikatan dengan target, akan tetapi belum poten karena residu dari adas bintang dan bawang putih berbeda dengan ligan nativenya.

Hasil interaksi antara ligan native dan ligan tanaman uji dengan protein target yang divisualisasikan dengan plipf, visualisasi tersebut menghasilkan struktur, interaksi atau ikatan, dan residue yang dihasilkan. Residue dari adas bintang dan bawang putih sama dengan ligan nativenya yang dipaparkan pada table 3, jika dilihat dari binding affinity dan kesamaan residu, maka adas bintang lebih berpotensi sebagai antituberkulosis yaitu adas bintang dengan protein target 4mp2 dengan binding affinity -7,4 residu ASN255, GLU262, GLU262 kemudiandibawahnya adas bintang dengan protein target 4mp7 dengan binding affinity -7,3 residu ARG258, GLU262, GLU262, GLY294, kemudian bawang putih dengan protein target 4mp7 mempunyai binding affinity -5,8 dengan residu ARG258, GLU262, GLU262, GLY294 dan diurutkan terakhir yaitu bawang putih dengan 4mp2 mempunyai binding affinity 5,9 residu ASP290, ASP290, ALA356 (belum poten karena residunya berbeda dengan ligan native nya). Dari penjelasan tersebut maka adas bintang dapat dijadikan penuntun dalam pengobatan anti tuberkulosis.

Tabel 1. Pusat massa dan dimensi *gridbox* ligan 4MP2 dan 4MP7 jalur PDH

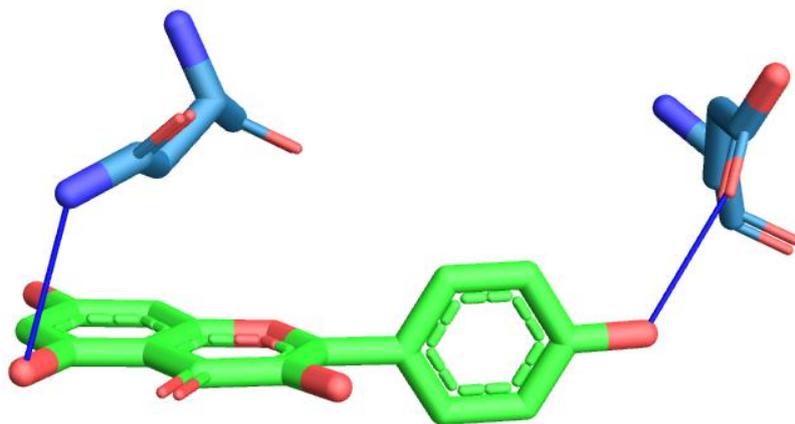
Ligan	Pusat massa (Å)			Dimensi <i>gridbox</i> (Å)		
	X	Y	Z	X	Y	Z
4MP2	16.39873	-0.2207	-40.6914	15	15	15
4MP7	16.43417	-0.24886	-40.4347	15	15	15

Tabel 2. Binding affinity yang didapatkan dari ligan dan proteien target

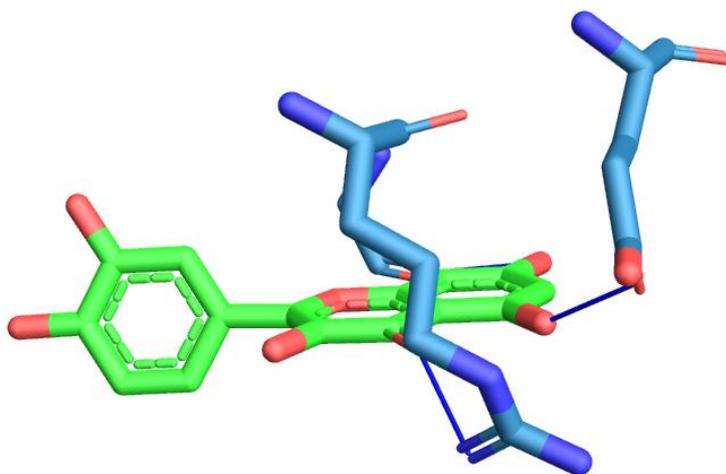
ligand category	protein target	ligand code	binding activity	senyawa aktif
4mp2_ligan	4mp2_prot	-	-4.5	-
4mp7_ligan	4mp2_prot	-	-4.4	-
4mp2_ligan	4mp7_prot	-	-4.4	-
4mp7_ligan	4mp7_prot	-	-4.2	-
adas bintang	4mp2_prot	mol000422	-7.4	kaempferol
adas bintang	4mp7_prot	mol000098	-7.3	quercetin
bawang putih	4mp2_prot	mol008356	-5.9	Benzaldoxime
bawang putih	4mp7_prot	mol008356	-5.8	Benzaldoxime

Tabel 3. Nilai RMSD, jenis interaksi dan residu yang terlibat dalam kategori ligan dengan protein target

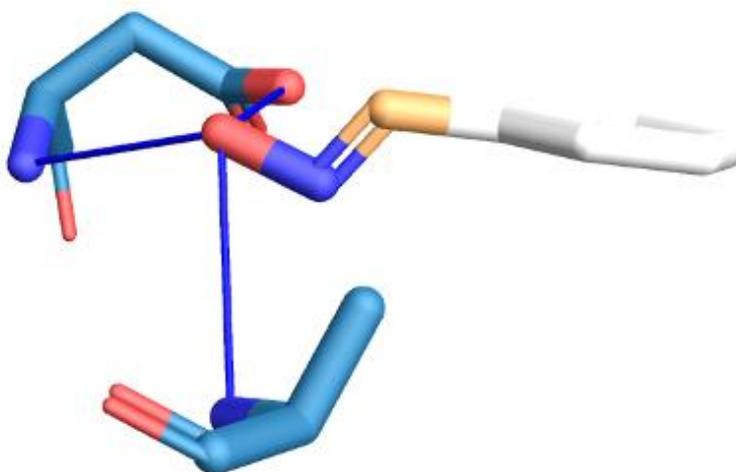
Ligand category	Protein target	RMS D	Jenis Interaksi	Residu yang terlibat
4mp2_ligan	4mp2_prot	-	interaksi hidrofobik	ASN255, ARG258, ALA259
			ikatan hidrogen	ASN255, GLY294, GLU262, GLU262, GLU265, SER266
4mp7_ligan	4mp2_prot	-	interaksi hidrofobik	ARG258, ALA259, LEU346, THR354
			ikatan hydrogen	ASN255, GLU262, GLU262, GLU265, SER266
4mp2_ligan	4mp7_prot	-	interaksi hidrofobik	ASN255, ARG258, ALA259, GLU262
			ikatan hidrogen	LEU252, ASN255, GLY294, GLU262, GLU265, SER266
4mp7_ligan	4mp7_prot	-	ikatan hidrofobik	ARG258, ALA259, GLU262, THR354
			ikatan hidrogen	ASN255, GLY294, GLU262, GLU262, GLU265, SER266
adas bintang	4mp2_prot	0	ikatan hidrogen	ASN255, GLU262, GLU262
adas bintang	4mp7_prot	0	interaksi hidrogen	ARG258, GLU262, GLU262, GLY294
bawang putih	4mp2_prot	0	ikatan hidrogen	ASP290, ASP290, ALA356
bawang putih	4mp7_prot	0	ikatan hidrogen	ASP290, THR354



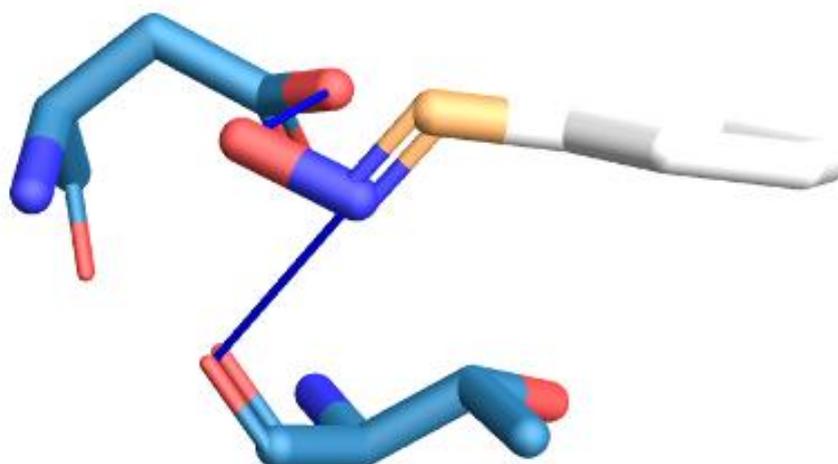
(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1. *Protein-ligand Interaction Profiler (PLIP)*(a) adas bintang dengan 4MP2 (b) adas bintang dengan 4MP7 (c) bawang putih dengan 4MP2 (d) bawang putih dengan 4MP7

4. KESIMPULAN

Senyawa aktif dan ikatan ligan dengan protein adas bintang dengan 4MP2 (kaempferol), bawang putih dengan 4MP2 (quercetin), adas bintang dengan 4MP7 (Benzaldoxime), dan bawang putih dengan 4MP7 (Benzaldoxime) berturut-turut memiliki binding affinity sebesar -7,4; -5,9; -7,3; dan -5,8. Sedangkan ligan native pada 4MP2 dan 4MP7 memiliki binding affinity -4,2 sampai -4,5. Nilai binding affinity yang paling kecil menunjukkan efektifitas sebagai anti tuberkulosis, disimpulkan bahwa dengan adanya kesamaan residu dan nilai binding affinity yang kecil senyawa alam dalam adas bintang lebih berpotensi dibanding bawang putih, adas bintang dapat dikembangkan menjadi salah satu obat tuberkulosis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Bapak Broto Santoso selaku dosen Rancangan Obat yang membimbing saya dalam menyelesaikan artikel ilmiah ini dan seluruh proses yang telah dilalui, seluruh teman-teman peminatan sains Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta yang turut juga memberikan semangat dalam mengerjakan artikel ini.

REFERENSI

- Kementerian Kesehatan RI, 2017, Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia 2016, *Kementerian Kesehatan RI*, 100. Terdapat di: [http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/lain-lain/Data dan Informasi Kesehatan Profil Kesehatan Indonesia 2016 - smaller size - web.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/pusdatin/lain-lain/Data%20dan%20Informasi%20Kesehatan%20Profil%20Kesehatan%20Indonesia%202016%20-%20smaller%20size%20-%20web.pdf).
- Majewski, 2014, *Allium sativum: facts and myths regarding human health*, *National Institute of Hygiene Poland*
- 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.

- 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>
- 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.
- 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
- Dallakyan S, and Olson AJ. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol.* 2015; 1263:243-50
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8 Schrödinger, LLC
- 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
- Masrin, 2008, Tuberkulosis Paru, *Universitas Muhamadiyah Semarang*
- Ramsif Y.B., Rizki L.P., Nurrokhman dan Rintiswati N., 2012, (*Allium sativum*) Terhadap *Mycobacterium Tuberculosis* Dan *Multidrug Resistant Mycobacterium Tuberculosis.*, Universitas Gadjah Mada.
- Syamsiah I. dan Tajudin, 2003, *Khasiat dan mManfaat Bawang Putih*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- WHO, 2017, Tuberculosis, Terdapat di: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/>.