

## *Molecular Docking of Natural Product in Achyranthes aspera and Anisi stellati on Mycobacterium tuberculosis Protein (5IBD and 5IBE)*

Ana Akrima Dzurida<sup>1\*</sup>, Broto Santoso<sup>2\*</sup>

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>1\*</sup>Email: anaakrima.dz@gmail.com

<sup>2\*</sup>Email: broto.santoso@ums.ac.id

### Abstrak

**Keywords:**  
Docking;  
Mycobacterium  
tuberculosis;  
Achyranthes  
aspera; Anisi  
stellati

Penyakit TBC merupakan salah satu penyakit infeksi berbahaya dalam penyebarannya dikarenakan mudah menular. Kekayaan senyawa alam diharapkan dapat mengatasi resistensi pengobatan TBC. Bakteri Mycobacterium tuberculosis melalui Sitokrom P450-121 (5IBD; 5IBE) telah dijadikan protein target docking secara molekular untuk senyawa alam yang terdapat dalam Achyranthes aspera dan Anisi stellati menggunakan PyRx-vina. Penelitian ini bertujuan untuk mencari senyawa alam yang dapat menghambat pertumbuhan Mycobacterium tuberculosis. Nilai binding affinity terbaik Copaene dan MOL008479 dari Anisi stellati serta Ardisiacrispin A dan B dari Achyranthes aspera terhadap 5IBD dan 5IBE secara berurutan yaitu -7,9; -8,6 dan -8,7; -9,2 kkal/mol. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai senyawa native dari masing-masing protein. Terdapat kesamaan residu Asn74 dan Thr77 pada jenis interaksi ikatan hidrogen antara senyawa native dengan Anisi stellati. Dengan adanya kesamaan residu dan nilai binding affinity yang kecil senyawa alam dalam Achyranthes aspera dan Anisi stellati dapat dikembangkan menjadi salah satu obat TBC.

## 1. PENDAHULUAN

Penyakit TBC disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. Mekanisme penyakit TBC, manusia yang terkena *droplet nuclei* berisi *M. tuberculosis* dari penderita kemungkinan besar terjangkit TBC. Hal ini dikarenakan bakteri akan masuk ke paru-paru dan menyerang makrofag, apabila makrofag gagal menghambat bakteri, maka bakteri akan berkembang biak dan menyebabkan TBC (Dipiro, 2008). Pengobatan TBC meliputi empat regimen obat, yaitu isoniazid, pyrazinamid, rifampisin, dan etambutol minimal enam bulan. Pengobatan yang lama, pemakaian yang tidak teratur, dan kemampuan bakteri dalam menyesuaikan lingkungan menyebabkan peningkatan resistensi terhadap bakteri *M. tuberculosis* (Babajanet *et al*, 2009). Dengan meningkatnya resistensi TB, pengobatan menjadi lebih sulit. Meskipun ada beberapa obat yang masih bisa digunakan dalam regimen terapi, namun efek samping dan evolusi bakteri yang menjadi lebih resisten membutuhkan penemuan obat baru. Terlebih ketika pasien mengidap HIV dan TB menyebabkan terapi lebih sulit (Nunn *et al*, 2005).

Bakteri penyebab penyakit TB yaitu *Mycobacterium tuberculosis*. Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan target *Cytochrome* P450 121 memiliki protein 5IBD dan 5IBE. Protein 5IBD memiliki ligan unik sebagai penanda, yaitu GGJ (4-(3'-amino[1,1'-biphenyl]-3-yl)-3-(4-methoxyphenyl)-1H-pyrazol-5-amine). Protein ini memiliki resolusi sebesar 1.77 Å. Protein 5IBE memiliki resolusi 1.62 Å, dengan ligan unik yaitu 69M (4-[5-amino-4-(3'-amino[1,1'-biphenyl]-3-yl)-1H-pyrazol-3-yl]phenol). Pemilihan protein ini berdasarkan data pada rcsb.org dengan kriteria resolusi kurang dari 2.5 Å (rcsb.org).

Pengobatan TB dengan senyawa alam diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi anti TB yaitu sangketan. Daun sangketan (*Achyranthes aspera*) merupakan tanaman yang memiliki banyak aktivitas farmakologis, di antaranya: antiparasit, hipoglikemi, pencegahan kanker, hepatoprotektif, analgesik, antipiretik, anti-inflamasi, anti artritis, antimikroba, antioksidan, nefroprotektif, antidepresan, diuretic, bronkoprotektif, dll. Daun sangketan mengandung dysterone, achyranthine, betaine, pentatriacontane, 6-pentatriacontanone, hexatriacontane dan tritriacontane (Srivastav, *et al*, 2011). Ekstrak methanol *Achyranthes aspera* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, dan *Pseudomonas aeruginosa*, namun tidak pada *Mycobacterium tuberculosis* (Gupta *et al*, 2013). Pada penelitian *in vivo* pada mencit yang dilakukan oleh (Meles, *et al*, 2014) menunjukkan bahwa alkaloid *Achyranthes aspera* menyebabkan penghambatan terbentuknya sel karbunkel dan penurunan sel paru yang mengalami apoptosis pada sel paru yang terinfeksi tuberculosis. Penelitian lain menunjukkan bahwa *Achyranthes aspera* memiliki kadar hambat terhadap *E. coli* (17 mm), *Pseudomonas sp.* (14 mm), *Citrobacter sp.* (12 mm), *Bacillus sp.* (12 mm), dan *Micrococcus sp.* (12 mm). Kandungan dalam *Achyranthes aspera* menunjukkan adanya alkaloid dan tannin (Manjula, *et al*, 2009).

*Achyranthes aspera* dan *Anisi stellati* (adas bintang) diharapkan menjadi salah satu solusi dari antimikroba terutama antituberkulosis. Untuk mengetahui hal tersebut, dilakukan penelitian *in silico* antara protein 5IBD dan 5IBE dari *Mycobacterium tuberculosis* dengan senyawa dari *Achyranthes aspera* dan *Anisi stellati*. *Binding affinity* terbaik menunjukkan energi yang dibutuhkan ligan untuk berikatan dengan protein 5IBD dan 5IBE rendah sehingga berpotensi menjadi antituberkulosis.

## 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 N *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 *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 5IBD (ligan unik: GGJ) dan 5IBE (ligan unik: 49M) pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan protein pada tanaman adas bintang (*Pimpinella anisum*) dan sangketan (*Achyranthes aspera*). Protein 5IBD dan 5IBE didapat dari pencarian di rcsb.org untuk bakteri *Mycobacterium tuberculosis*. 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.

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

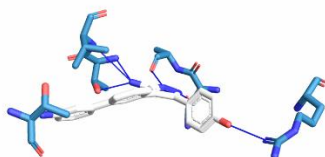
Protein 5IBD dan 5IBE merupakan salah satu protein yang memiliki mekanisme aksi oksidoreduktase Mycocyclusin sintase. Protein yang digunakan bersumber dari organisme *Mycobacterium tuberculosis* dengan resolusi 1,77 angstrom (5IBD) dan 1,62 angstrom (5IBE).

Ligan terbaik yang didapat dari protein target 5IBD dengan tanaman adas bintang yaitu Copaene, dengan nilai *binding affinity* -7,9 kkal/mol dan nilai RMSD 0. Terdapat interaksi hidrofobik yang tidak dimiliki oleh ligan *native*. RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan *native* hasil *docking* mendekati konformasi sesungguhnya. Sedangkan protein target 5IBE dengan tanaman adas bintang memiliki ligan terbaik yaitu MOL008479, dengan nilai *binding affinity* -8,6 kkal/mol dan nilai RMSD 0. Terdapat interaksi ikatan hidrogen dengan residu terlibat yaitu Asn74 dan Thr77 yang sama dengan residu dari ligan *native*.

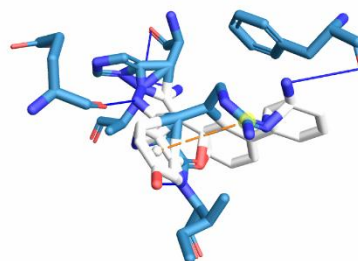
Ligan terbaik yang didapat dari protein target 5IBD dengan daun sangketan yaitu Ardisiacrispin A, dengan nilai *binding affinity* -8,7 kkal/mol dan nilai RMSD 0. Terdapat interaksi ikatan hidrogen dan jembatan garam yang juga dimiliki oleh ligan *native*, namun tidak ada residu terlibat yang sama. Ligan ini juga memiliki interaksi hidrofobik. Sedangkan protein target 5IBE dengan daun sangketan memiliki hasil *docking* terbaik yaitu Ardisiacrispin B, dengan nilai *binding affinity* -9,2 kkal/mol dan nilai RMSD 0. Terdapat interaksi ikatan hidrogen dan jembatan garam yang juga dimiliki oleh ligan *native*, namun tidak ada residu terlibat yang sama. Ligan ini juga memiliki interaksi hidrofobik.

Tabel 1. Pusat massa dan dimensi *gridbox* ligan

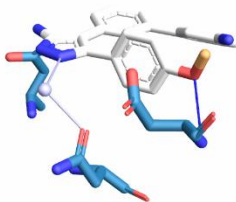
Ligan	Pusat massa (Å)			Dimensi <i>gridbox</i> (Å)		
	X	Y	Z	X	Y	Z
5IBD	-8,72793	18,32722	3,430963	100	100	110
5IBE	-8,52473	18,2155	3,440462	100	80	120



(A)

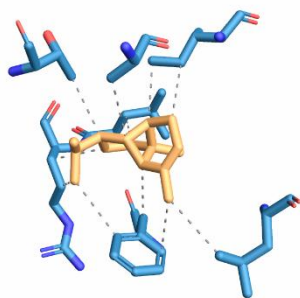


(B)

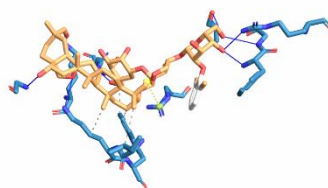


(C)

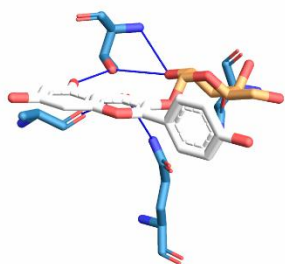
Gambar 1. Interaksi ligan *native*. Gambar (A) merupakan hasil 5IBE-5IBE, (B) merupakan 5IBD-5IBE, dan (C) merupakan 5IBD-5IBD



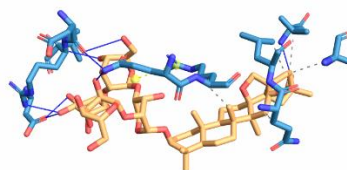
(A)



(B)



(C)



(D)

Gambar 2. Interaksi ligan hasil *docking*. (A) merupakan hasil adas bintang-5IBD, (B) merupakan daun sangketan-5IBD, (C) merupakan adas bintang-5IBE, dan (D) merupakan daun sangketan-5IBE

Nilai *binding affinity* yang kecil menunjukkan kekuatan yang dibutuhkan untuk berikatan antara protein target dengan ligan. Semakin kecil nilainya maka semakin baik. Senyawa yang memiliki residu sama berpotensi menjadi senyawa pengganti ligan *native*. Senyawa hasil *docking* yang memiliki nilai *binding affinity* kecil (lebih kecil daripada ligan asli) dan memiliki residu sama dapat menjadi senyawa poten. Interaksi ligan dengan protein target dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Interaksi residu asam amino dengan ligan

Protein Target	Ligan	Ligan Hasil	Jenis Interaksi	Residu Terlibat
5IBD	5IBD		Ikatan Hidrogen Jembatan Garam	Asp808, Asp863 Asn850
5IBE	5IBD		Ikatan Hidrogen	Glu271, Ile276, Phe319, His335, Ala337
5IBD	5IBE		Interaksi Kation-II	Arg275
5IBE	5IBE		-	-
5IBE	5IBE		Ikatan Hidrogen	Asn74, Ala75, Thr77, Val78, Thr229, Arg286 Phe731, Leu755, Arg756, Thr759, Ala763, Ile767, Leu866
5IBD	Adas bintang	Copaene	Interaksi Hidrofobik	Asn74, Thr77, Ala167, Gln385
5IBE	Adas bintang	MOL008479	Ikatan Hidrogen	Ile886, Lys887, Trp888 Ser728, Phe731, Gly732, Arg756, Arg811, Lys887, Lys921, Gly925
5IBD	Daun Sangketan	Ardisiacrispin A.	Ikatan Hidrogen	Arg849
			Jembatan Garam	Arg252, Gln254, Leu255, Leu258, Leu327
			Interaksi Hidrofobik	Asp16, Arg17, Ile18, Asp20, Gln251, Leu327
5IBE	Daun Sangketan	B.	Ikatan Hidrogen	Arg252
			Jembatan Garam	

#### 4. KESIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini didapat nilai *binding affinity* terbaik yaitu -9,2 dari hasil *docking* daun sangketan dengan protein 5IBE. Adas bintang memiliki kesamaan residu asam amino dengan ligan *native*. Sehingga daun sangketan dan adas bintang dapat dijadikan salah satu alternatif terapi TB dengan penelitian lanjutan (*in vitro* maupun *in vivo*).

#### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Bapak Broto Santoso selaku Dosen Pengampu mata kuliah Rancangan Obat yang telah membimbing penulis melakukan kajian *in silico*.

#### REFERENSI

Babajan, B., Chaitanya, M., Rajsekhar, C., Gowsia, D., Madhusudhana, P., Naveen, M., et al, 2009, *Interdisciplinary Sciences Computational Life Sciences*, 3, 204–216

- Dallakyan S, and Olson AJ. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol.* 2015; 1263:243-50.
- Dipiro J. T., *et al*, 2008, *Pharmacotherapy, A Pathophysiology Approach 7th Edition*, T. Dipiro, New York, Mc Grow-Hill
- Gupta, Subha, *et al*, 2013, Antimicrobial Activity of *Achyranthes aspera* Against Some Human Pathogenic Bacteria and Fungi, *Int. J. Pharmacol. Bio. Sci*, Vol 7 (2):43-54
- M. Manjula, V. Indira, P. Dhasarathan, 2009, *Asian Journal of Microbiology, Biotechnology & Environmental Sciences*, 11(2), 365-368.
- Meles, Dewa Ketut, *et al*, 2014, Efek Antimitogenik Fraksi Alkaloid *Achyranthes aspera* Linn. Terhadap Induksi Apoptosis pada Mencit yang Terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*, *Acta Veterinaria Indonesiana*, Vol 3 (1): 8-15
- Nunn, P., Williams, B., Floyd, K., Dye, C., Elzinga, G., & Raviglione, M, 2005, Tuberculosis control in the era of HIV, *Nature Reviews Immunology*, 5, 819–826
- 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
- Research Collaboratory for Structural Bioinformatics. Diakses pada 23 Desember 2017. <https://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=5IBD>
- Research Collaboratory for Structural Bioinformatics. Diakses pada 23 Desember 2017. <https://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=5ibe>
- 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
- Srivastav, Saurabh, Pradeep Singh, Garina Mishra, K. K. Jha, R. L. Khosa, 2011, *Achyranthes aspera*-An Important Medicinal Plant: A Review, *J. Nat. Prod. Plant Resour.*, 1(1):1-14
- 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>