

Kemampuan Ikatan 3D Molekular Suket Gajahan dan Adas Bintang terhadap Sintetase Pantotenat *Mycobacterium tuberculosis*

Rosana Dhian Pinasthi¹, Broto Santoso²

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

¹Email: ¹rosanapinasthi.rdp@gmail.com, ²Broto.santoso@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
tuberkulosis;
sintetase
pantotenat; suket
gajahan; adas
bintang; docking

Protein pantothenate synthetase dari *M. tuberculosis*(4MUE; 4MUF) merupakan target potensial untuk pengobatan tuberkulosis melalui mekanisme inhibisi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mencari molekul dari alam yang dapat menghambat *M. tuberculosis*. Ligan yang berasal dari alam (suket gajahan dan adas bintang) dilakukan skrining untuk diperoleh kemampuan ikatan 3D molekularnya menggunakan Pyrx-vina. Analisis pendukung hasil docking dilakukan dengan PLIP dan PyMOL. Afinitas ikatan ligan uji terbaik suket gajahan (mol005751 dan rutin) dan adas bintang (terragon dan mol008479) terhadap protein 4MUE dan 4MUF berturut-turut adalah sebesar -9,4; -9,6 dan -8,9; -8,7 kkal/mol. Hal ini menunjukkan bahwa afinitas pada ikatan ligan uji sama besar dibandingkan dengan afinitas ligan native dari masing-masing protein target, namun didapati residu yang bertanggung jawab terhadap interaksi ligan-protein yang terjadi pada ligan uji tidak sama dengan native.

1. PENDAHULUAN

Tuberkulosis (Tuberculosis, disingkat Tbc), atau Tb (singkatan dari "Tubercle bacillus") merupakan penyakit menular yang umum, dan dalam banyak kasus bersifat mematikan (Kumar et al, 2007). Penyakit ini disebabkan oleh berbagai strain mikobakteria, umumnya *Mycobacterium tuberculosis* (disingkat "MTb" atau "MTbc"). Tuberkulosis resisten obat (multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB) merupakan masalah yang terus berkembang dan mengancam kesehatan masyarakat di seluruh dunia (WHO, 2011). Sehingga perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh antibiotik baru yang poten terhadap *Mycobacterium tuberculosis*.

Pantothenate synthetase (PS) dari *M. tuberculosis* merupakan target potensial untuk pengobatan TB (Wang and Eisenberg, 2006). Pantothenate merupakan prekursor penting untuk biosintesis protein koenzim A dan asil, yang keduanya memainkan peran penting dalam sel, termasuk metabolisme energi dan metabolisme asam lemak (Jackowski, 2006). Pantothenat memiliki beberapa kode PDB yang berikatan dengan *unique ligand*. Pertumbuhan *M. tuberculosis* dapat dihambat melalui penggantian *unique ligand* pada *site binding* protein dengan senyawa baru.

Adas bintang (*Illicium verum*) merupakan salah satu tumbuhan obat yang telah digunakan di seluruh dunia dalam pengobatan, termasuk ke dalam famili Illiciaceae. Bunga lawang dapat dikunyah untuk mengharumkan nafas, mempunyai bau aromatik, rasa manis sedikit pahit dan pedas, sehingga sering digunakan sebagai bahan penyedap dalam kembang gula, permen, minuman keras, parfum dan sabun (Anerjee, et al., 2001). Ekstrak buah ini mempunyai efek farmakologi yang luas terutama sebagai antimikroba, antioksidan, insektisida, sedativ dan konvulsi (Wang, et al., 2011). Minyak bunga iawang digunakan sebagai antirematik, antiseptik, mengobati demam, kudis, sembelit dan insomnia. Kandungan kimia bunga lawang dapat bersifat antibakteri yaitu minyak atsiri (anetoI85-90%), tanin, flavonoida (Ali, et al., 2010).

Suket gajahan (*Artemisia vulgaris* L) telah diteliti dimana diperoleh melalui hidrodestilasi dan dianalisis secara GC-MS ternyata dijumpai berbagai jenis komponen senyawa kimia yang terdiri dari monoterpen teroksigenasi, sesquiterpen dan senyawa sesquiterpen teroksigenasi (Bunrathep, dkk, 2005). Delapan puluh satu komponen diidentifikasi terbentuk sampai 81,9% - 96,8% dari total kandungan minyak. Senyawa monoterpen teroksigenasi sebanyak 17,1% dari hasil total kandungan minyak. Senyawa monoterpen teroksigenasi sebanyak 17,1% -48,7% sedangkan sesquiterpen 17,1% - 44,1% dari total kandungan minyak (Judzentiene dan Buzelyte, 2006). Kandungan senyawa daun *Artemisia vulgaris* vul. Indica dari hasil destilasi bersama air adalah : monoterpen : 2,99%, monoterpen teroksigenasi : 10,46%, sesquiterpen : 6,70%, sesquiterpen teroksigenasi : 74,26%, dan yang lainnya 5,42% (Bunrathep, dkk, 2005).

Pada pemodelan molekular, *docking* adalah metode yang digunakan untuk memprediksi orientasi suatu molekul yang terikat dengan suatu senyawa dan membentuk kompleks yang stabil (Lengauer and Rarey, 1996). Cara ini dilakukan untuk memprediksi kekuatan ikatan dan afinitas antara dua molekul yang digunakan. *Molecular docking* adalah salah satu metode yang paling sering digunakan dalam perancangan obat berbasis struktur, karena kemampuannya untuk memprediksi konjugat pengikatan ligan molekul kecil ke lokasi pengikatan target yang sesuai (Kitchen, 2004).

Pada penelitian ini, dilakukan analisis terhadap ikatan antara protein Pantothenate synthetase dengan senyawa yang berasal dari alam. Tempat ikatan senyawa yang digunakan adalah 4MUE dan 4MUF yang memiliki *unique ligand*. Sedangkan senyawa yang digunakan berasal dari tanaman adas bintang dan suket gajahan. Metode *docking* yang digunakan adalah *Pyrx vina wizard autodock*.

2. METODE

Penelitian ini menggunakan metode *pyrx vina wizard autodock*. Langkah pertama yang dilakukan adalah memilih struktur protein yang memiliki *unique ligand* sebagai target ikatan. Struktur protein yang dipilih adalah 4MUE dan 4MUF (Berman *et al.*, 2000). Protein target diambil dari *database www.rcsb.org* yang diunduh dengan format pdb. Selanjutnya adalah memisahkan antara molekul protein dan ligan serta menghilangkan residu yang terdapat dalam struktur protein menggunakan aplikasi *Chimera* (Pettersen *et al.*, 2004).

Ligan yang telah dipisahkan, dilihat pusat massanya menggunakan aplikasi *editplus* dan menentukan dimensi *gridbox* yang akan digunakan sebagai tempat ikatan. Kemudian dilakukan analisis menggunakan *vina* (Trott O, 2010) yang terdapat dalam program PyRx (Dallakyan and Olson, 2015) untuk mengetahui afinitas antara protein dengan ligan. Dimensi *gridbox* yang digunakan dibuat sedikit lebih besar dari ukuran massa ligan agar memungkinkan untuk senyawa lain dapat berikatan dengan protein target. Langkah berikutnya adalah melakukan *running vina wizard* terhadap protein target dengan molekul-molekul yang berasal dari tanaman adas bintang dan suket gajahan. Sebelum dilakukan *run vina* antara protein target dengan molekul ligan dari adas bintang dan suket gajahan, molekul ligan tersebut terlebih dahulu diubah menjadi bentuk pdb menggunakan *open babel* (O'Boyle *et al.*, 2011) yang terdapat dalam aplikasi PyRx. Diambil 2 molekul yang memiliki afinitas paling kecil terhadap masing-masing protein target, kemudian dianalisis menggunakan PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.8 Schrödinger, LLC) dan PLIP (Salentin *et al.*, 2015). Dilihat interaksi yang terjadi antara kompleks protein-ligan yang terpilih kemudian dibandingkan dengan interaksi yang terjadi pada protein-ligan native.

Validasi metode: pemisahan antara ligan dengan protein target, protein hasil kristalografi Bcl-2 dipisahkan antara komponen protein dan ligan yang ada dengan menggunakan aplikasi *Chimera*. Konversi format ligan dan protein target hasil kristalografi menggunakan program PyRx-Autodock-Vina (.pdbqt). validasi *docking* molekular masih menggunakan program yang sama yaitu PyRx-Autodock-Vina. Analisis hasil validasi

docking molekular ligan dilakukan dengan mengamati konformasi dan posisi 3D yang ditunjukkan oleh hasil *docking* molekular antara ligan dan protein target dengan konformasi ligan kristalografi dan protein target. Serta dinilai kedekatan struktur ligan sebelum dan setelah dilakukan *docking* molekular menggunakan parameter RMSD (*Root-Mean-Square Deviation*) dengan menggunakan program PyMOL. Hasil RMSD kurang dari 2 menunjukkan metode tersebut dapat digunakan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada mikroorganisme *Mycobacterium tuberculosis* memiliki protein pantothenat synthetase, pada protein tersebut terdapat tempat ikatan 4MUE dan 4MUF yang masing-masing memiliki ligan unik yaitu 2DH dan 2DJ (Ru *et al.*, 2014). Alasan dipilihnya protein target tersebut adalah karena spesifik terdapat dalam organisme *Mycobacterium tuberculosis* dan resolusi yang dimiliki kurang dari 2,5 Å. Ligan unik yang terdapat pada protein dapat digunakan sebagai target *docking* untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis*. Data protein diperoleh dari database www.rcsb.org dalam format pdb. Pada masing-masing reseptor protein target, rantai yang terpotret berjumlah 2 sehingga perlu dilakukan pemisahan rantai dengan menghapus salah satu rantai yang terpotret menggunakan aplikasi *Chimera* sebelum dipisahkan antara protein dengan ligan serta menghilangkan residunya.

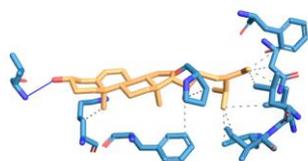
Pada proses *run vina* dibutuhkan data pusat massa masing-masing protein target untuk mengetahui letak ikatannya dengan ligan serta penentuan dimensi *gridbox* untuk menentukan besarnya tempat ikatan protein-ligan. Pusat massa ligan untuk protein 4MUE adalah $x=1,051645161$, $y=-10,72941935$, $z=35,94654839$ dan untuk protein 4MUF adalah $x=15,52158065$, $y=10,27303226$, $z=1,553290323$. Dimensi *gridbox* untuk kedua protein adalah 20x20x20. Dimensi *gridbox* tidak boleh terlalu besar maupun terlalu kecil karena jika terlalu besar maka banyak residu yang akan ikut berikatan sehingga menyebabkan meningkatkan *binding affinity* antara protein dengan ligan uji, sedangkan jika terlalu kecil maka molekul yang memiliki ukuran sedikit lebih besar dari ligan *native* akan sulit berikatan dengan protein target.

Berdasarkan data *binding affinity* dari *run vina*, diperoleh molekul ligan yang memiliki afinitas yang hampir sama dengan ligan *native* dari masing-masing tanaman terhadap dua protein target. Molekul dari adas bintang yang memiliki afinitas terkecil terhadap protein 4MUE adalah terragon (-8,9) dan terhadap 4MUF adalah mol008479 (-8,7). Sedangkan molekul dari suket gajahan yang memiliki afinitas terkecil terhadap protein 4MUE adalah mol005751 (-9,4) serta terhadap 4MUF adalah rutin (-9,6).

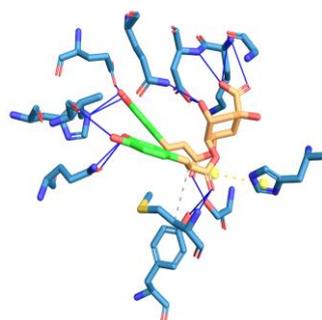
Hasil analisis menggunakan PLIP menunjukkan bahwa terjadi interaksi pada masing-masing ikatan baik antara protein-ligan uji maupun pada protein-ligan *native*. Interaksi antara protein dengan molekul ligan tanaman adas bintang dan suket gajahan serta ligan *native* dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1. Jenis interaksi yang terjadi pada protein 4MUE dan 4MUF dengan masing-masing ligan tidak memiliki kemiripan. Hal tersebut menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk antara protein-ligan *native* tidak bisa dihambat dengan molekul ligan yang bersal dari tanaman adas bintang dan suket gajahan.

Tabel 1. Intaraksi protein-ligan

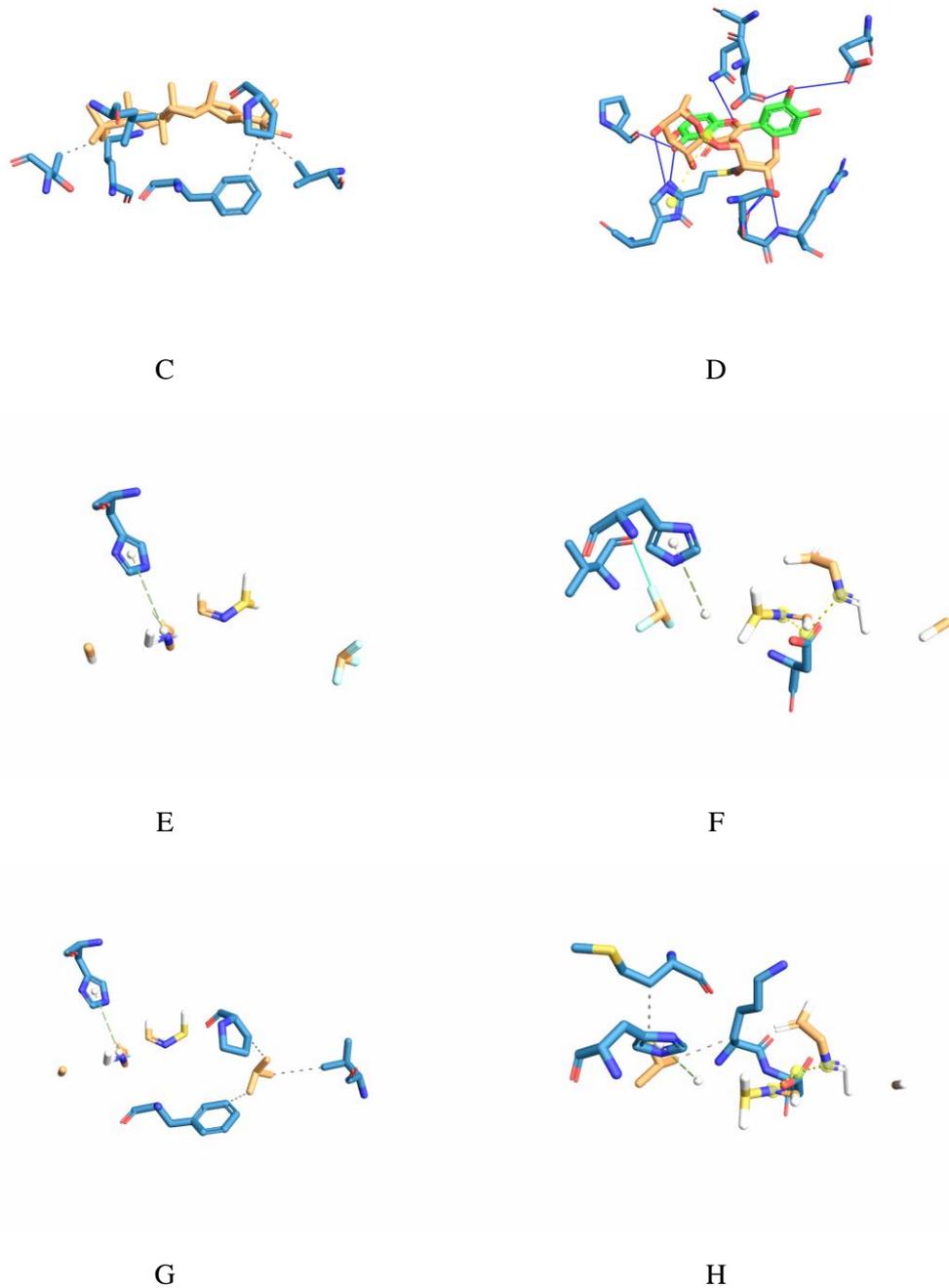
Protein target	Ligan	Jenis interaksi	Residu yang terlibat
4MUE	Terragon	Interaksi hidrofobik	38Pro, 67Phe, 69Asn, 139Val, 142Val, 143Val, 146Leu, 157Phe, 160Lys
		Ikatan hidrogen	187Val
		Interaksi hidrofobik	40Met
4MUF	Mol008479	Ikatan hidrogen	40Met, 72Gln, 82Tyr, 128Glu, 135His, 139Val, 158Gly, 160Lys, 161Asp, 164Gln, 197Ser
		Jembatan garam	47His
4MUE	Mol005751	Interaksi hidrofobik	38Pro, 50Leu, 139Val, 157Phe, 160Lys, 186Thr
4MUF	Rutin	Ikatan hidrogen	38Pro, 40Met, 44His, 128Glu, 161Asp, 164Gln, 196Ser, 197Ser, 198Arg
		Jembatan garam	44His
4MUE	2DH	pi-Stacking	44His
		Jembatan garam	161Asp
4MUF	2DH	pi-Stacking	44His
		Ikatan halogen	187Val
4MUE	2DJ	Interaksi hidrofobik	38Pro, 142Val, 157Phe
		pi-Stacking	44His
		Interaksi hidrofobik	160Lys, 195Met
4MUF	2DJ	Jembatan garam	161Asp
		pi-Stacking	44His



A



B



Gambar 1. A. 4MUE-terragon, B. 4MUF-mol008479, C. 4MUE-mol005751, D. 4MUF-rutin, E. 4MUE-2DH, F. 4MUF-2DH, G. 4MUE-2DJ, H. 4MUF-2DJ

4. KESIMPULAN

Docking menggunakan perangkat lunak PyRx menghasilkan afinitas ikatan antara protein target dengan molekul dari adas bintang dan suket gajahan. Molekul yang memiliki afinitas terkecil pada masing-masing tanaman untuk tiap protein target dilihat interaksinya. Afinitas ikatan ligan uji terbaik suket gajahan (mol005751 dan rutin) dan adas bintang (terragon dan mol008479) terhadap protein 4MUE dan 4MUF berturut-turut adalah sebesar -9,4; -9,6 dan -8,9; -8,7 kkal/mol. Interaksi yang terjadi pada protein 4MUE dan 4MUF

dengan molekul ligan dari adas bintang dan sukut gajah tidak sama dengan ikatan protein-ligan native, sehingga aktivitas yang dimiliki juga berbeda.

REFERENSI

- Ali, RM., Zainon, A.S., Nik, M.M., dan Norhar, H. (2010). *ASEAN Herbal and Medicinal Plants*. Jakarta: ASEAN Sekretariat. Halaman 325-326.
- Anerjee, M., dan Miro, M. (2001). Actividad Antimicrobiana de *Illicium verum* Hook. f. Spain: Granada. *Ars Pharmaceutica* 42(3A): 209-220.
- 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.
- Bunrathep, S, Songsak, T dan Ruangrunsi, N. (2005). *Terpenoid Constituents From Leaves and Cell Cultures Of Artemisia Vulgaris Var. Indica And Application Of Biotechnological techniques To Increase Davanone Level*. 12 (1). 147-153.
- Dallakyan S, and Olson AJ. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol*. 1263:243-50.
- Jackowski, S. (1996) *Biosynthesis of Pantothenic Acid and Coenzyme A in Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology, 2nd ed., Vol. 1*, (p. 687-694). Washington DC: American Society for Microbiology.
- Judzentiene, A dan Buzelyte, j. (2006). *Chemical Composition Of Essential Oils Of Artemisia Vulgaris L. (mugwort) Form North Lithuania*. 8 (1). 12-15
- Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J (2004). "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications". *Nature Reviews. Drug Discovery*. 3 (11): 935-49.
- Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N. and Mitchell, R.N. (2007). *Robbins Basic Pathology. 8th Edition*, (p. 516-522). Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Lengauer T, Rarey M (1996). "Computational methods for biomolecular docking". *Current Opinion in Structural Biology*. 6 (3): 402-6.
- O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, and Hutchison GR. (2011). Open Babel: An open chemical toolbox. *J. Cheminformatics*. 3: 33. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33.
- Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem*. 25(13): 1605-12.
- Ru, J., Li, P., Wang J., Zhou, W., Li, B., Huang, C., Li, P., Guo, Z., Tao, W., Yang, Y., Xu, X., Li, Y., Wang, Y., and Yang L. (2014) TCMSP: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. *J Cheminformatics*. 6(1):13. DOI: 10.1186/1758-2946-6-13

- Salentin S, Schreiber S, Haupt VJ, Adasme MF, and Schroeder M. (2015). PLIP: fully automated protein-ligand interaction profiler. *Nucl. Acids Res.* 43 (W1): W443-W447. DOI: 10.1093/nar/gkv315.
- 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>
- Wang, G.W., Wen, T.H., Bao, K.H., dan Lu, P.Q. (2011). *Illicium verum*: A Review On Its Botany, Traditional Use, Chemistry and Pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. 136(1): 10-20.
- Wang, S. Eisenberg, D. (2006). Crystal Structure of the Pantothenate Synthetase from *Mycobacterium tuberculosis*, Snapshots of the Enzyme in Action. *Biochemistry*. 4: 1554-1561.
- World Health Organization. (2012). *Global tuberculosis report 2012*. France: WHO Press.