

Profil *in silico* Interaksi Senyawa Alam ketumbar dan Adas Bintang sebagai Inhibitor Peptida Deformilase *Mycobacterium tuberculosis* (3SVJ dan 1WS1) menggunakan Bantuan PyRx-Vina

Sri Aulia Akbar Edy Prabowo^{1*}, Broto Santoso^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*Email: Akbarprabowo21@gmail.com

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

Abstrak

Keywords:
ketumbar;
adas bintang;
3SVJ;
1WS1;
PyRx-vina;
docking;
tuberculosis

Pencarian profil interaksi molekular senyawa alam ketumbar dan adas bintang secara *in silico* telah dilakukan terhadap protein peptida deformilase bakteri TB (3SVJ; 1WS1). Tujuan dari penelitian adalah untuk menganalisis potensi tanaman herbal sebagai anti tuberculosis melalui docking molekular. Langkah yang dikerjakan adalah preparasi ligan-protein, docking, visualisasi, dan analisis hasil. Afinitas ikatan antara adas bintang dengan *lws1*_protein (Heriguard), adas bintang dengan *3svj*_protein (Heriguard), ketumbar dengan *lws1*_protein (*alpha* humulene) dan ketumbar dengan *3svj*_protein (2-methylene cyclopentanone) menghasilkan binding affinity dengan nilai berturut-turut -7,9; -7,5; -6,4 dan -6,8 kkal/mol sedangkan ligan native pada 3SVJ dan 1WS1 binding affinitynya ditunjukkan dengan nilai -7,3 hingga -8,7 kkal/mol. Mengacu pada nilai binding affinity tersebut, hanya Adas bintang yang berpotensi sebagai anti tuberculosis karena nilai yang hampir sama dibandingkan dengan ligan native. Nilai binding affinity yang paling kecil menunjukkan bahwasanya energi dari senyawa aktif untuk mengikat protein lebih kecil sehingga diharapkan dapat lebih efektif sebagai anti tuberculosis. Sedangkan ketumbar interaksinya mirip dengan native, sehingga bisa dijadikan sebagai ligan penuntun. Namun semuanya perlu diujikan kembali dengan berbagai kondisi komputasi virtual lainnya untuk memastikan dugaan pertama ini.

1. PENDAHULUAN

Mycobacterium tuberculosis (MTB) merupakan bakteri yang menyebabkan penyakit tuberculosis (TBC) pada tubuh manusia dan merupakan penyakit menular. Penyebaran tersebut dapat melalui udara: ketika Orang yang terinfeksi batuk, bersin, berbicara atau meludah, tetesan air liur yang mengandung basil tuberkulum yang diproyeksikan ke udara dan bisa dihirup oleh orang terdekat (Sanou *et al.*, 2015). Selama kurang dari 10 tahun, tercatat telah lebih dari 100.000 orang meninggal karena serangan TBC ini (Frieden *et al.*, 2003).

Pemanfaatan antibakteri alami adalah salah satu cara alternatif menggunakan tanaman yang berpotensi untuk menghambat atau membunuh bakteri, semisal tanaman ketumbar (*Coriandrum sativum* L). Beberapa kandungan senyawa yang ada pada buah ketumbar yaitu minyak atsiri, senyawa monoterpen asiklik berupa linalool dengan jumlah 0-75% merupakan salah satu senyawa aktifnya (Lehrstuhl *et al.*, 2004: 150). Khasiat yang dapat ditimbulkan dari ketumbar ini berupa untuk pengobatan diare, nyeri saat haid, gangguan lambung, nyeri perut akibat kembung, dan berpotensi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Lalitha *et al.*, 2011: 3038).

Metode komputasi seperti docking molekular yang diinginkan merupakan solusi dalam penentuan mode pengikatan dan afinitas antara molekul konstituen dalam pengenalan

molekuler. Disebabkan karena adanya kesulitan dan biaya ekonomis dari metode eksperimental untuk menentukan struktur kompleks. Adanya metode ini penting untuk memahami mekanisme interaksi dan untuk merancang intervensi terapeutik (Huang and Zou, 2010).

Docking molekul merupakan scaffold yang menarik untuk memahami interaksi obat-obatan biomolekuler untuk rancangan dan penemuan obat yang rasional. Begitu juga dalam studi mekanistik dengan meletakkan sebuah molekul (ligan) ke dalam tempat pengikatan yang lebih disenangi dari daerah spesifik DNA / protein (reseptor) terutama dalam mode nonkovalen untuk membentuk kompleks yang stabil dari potensi efikasi dan lebih spesifisitas (Dar and Mir, 2017).

Sampling dan penilaian merupakan 2 komponen penting dari program docking protein-ligan. Pengambilan sampel mengacu pada generasi konformasi pengikatan ligan yang putatif di dekat tempat pengikatan protein dan dapat dibagi lagi menjadi dua aspek, sampling ligan dan kelenturan protein. Scoring adalah prediksi dari ketatnya ikatan untuk konformasi ligan tunggal dengan fungsi energi fisik atau empiris. Konformasi atas, yaitu yang memiliki nilai energi terendah, diprediksi sebagai mode pengikatan (Huang and Zou, 2010).

2. METODE

2.1. Alat

Perangkat komputer. PyRx 0.9.7. Chimera 1.12. Microsoft Office Excel 2007. Edit Plus 4.0.631. PDBest.

2.2. Bahan

Struktur kimia yang diuji yaitu dari ketumbar (*Coriandrum sativum* L). Protein target yakni 3SVJ dengan *unique ligand* 4LI; 1WS1 dengan *unique ligand* BB2.

2.3. Tahap Pengerjaan

Langkah awal tentukan organisme yang akan di docking pada bindingdb.org, dan pilih target dari bindingdb organisme tersebut (*Mycobacterium tuberculosis*= peptide deformylase). Pencarian protein pada *rcsb.org* didapatkan target protein 3SVJ beresolusi 1,55 Å dan 1WS1 beresolusi 2,00 Å untuk organisme *Mycobacterium tuberculosis* dengan target peptide deformylase. Pilihlah ligand unique yang terdapat pada target protein tersebut (3SVJ= 4LI dan 1WSI= BB2). Kemudian protein dilihat terlebih dahulu menggunakan EditPlus apakah terdapat ANISOU atau tidak, jika terdapat ANISOU, maka protein dihilangkan terlebih dahulu ANISOU-nya menggunakan PDBest.

Protein 3SVJ dan 1WS1 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. Protein 3SVJ dan 1WS1, COM diatur koordinat x, y, dan z dan dimensi gridbox.

Docking dilakukan dengan metode Vina Autodock untuk melihat bagaimana interaksi antara protein dan ligan. Data hasil atau *output* yang dihasilkan.

2.4. Validasi metode docking

Konformasi 3D ligan native terhadap reseptor dapat dicari menggunakan docking terhadap ligan native dengan memperhatikan koordinat pusat massa struktur dan besaran gridbox dari binding site pocket dalam satuan angstrom (vina) atau number of points (AutoDock). Konformasi ligan native hasil pengukuran kristalografi disejajarkan dengan konformasi hasil docking yang diperoleh dan dinyatakan dalam RMSD. Keberterimaan RMSD yaitu kurang dari , dan nilai kesejajaran akan semakin baik bila mendekati 0 (Saputri *et al.*, 2016).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Peptide deformylase merupakan salah satu mekanisme aksi dalam penghambatan Protein 3SVJ dan 1WS1 pada *Mycobacterium tuberculosis*. Blokade peptide deformylase bakteri menghasilkan penghambatan sintesis protein (mirip dengan mekanisme tetracyclines, macrolides, streptogramins, lincosamides, dan kloramfenikol) (Guay, 2007). Protein yang digunakan berupa 3SVJ beresolusi 1,55 Å dan 1WS1 beresolusi 2,00 Å. Sedangkan ligand unique yang terdapat pada target protein tersebut (3SVJ= 4LI dan 1WSI= BB2). Tabel 1 dibawah ini merupakan data untuk pusat massa ligand an dimensi untuk grid box.

Tabel 1. Data Pusat massa dan grid box size

KODE PDB	Dimensi Grid Box (X:Y:Z)	Pusat Massa Ligan
3SVJ	33 Å:47 Å:30 Å	23,395:-9,382:-4,475
1WS1	25 Å:27 Å:24 Å	1,426: 45,062:55,893

3.1. Hasil Interaksi Tanaman Herbal dengan Protein Target

Binding affinity menunjukkan skala kekuatan obat untuk berikatan dengan reseptor. Binding Affinity yang semakin rendah mengakibatkan afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi dan sebaliknya. Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat, interaksi stabil dan ireversibel. Ikatan elektrostatis bisa menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversible. Hasil docking yang dipilih yaitu antara ligan dengan reseptor diperoleh konformasi ligan dengan energi terkecil.

Tabel 2. Hasil Penambatan Senyawa

Protein target	Ligan/senyawa	Ligan Hasil	Binding Affinity (Kkal/mol)
1WS1_protein	3SVJ_ligan		-8.7
3SVJ_protein	3SVJ_ligan		-8
1WS1_protein	1WS1_ligan		-7.4
3SVJ_protein	1WS1_ligan		-7.3
1WS1_protein	Adas bintang	Heriguard	-7.9
3SVJ_protein	Adas bintang	Heriguard	-7.5
1WS1_protein	Ketumbar	Alpha humulene	-6.4
3SVJ_protein	Ketumbar	2-methylene cyclohexanone	-6.8

Ligan terbaik yang didapat dari protein target 1WS1 dengan tanaman adas bintang yaitu Heriguard, dengan nilai *binding affinity* -7,9 kkal/mol dan nilai RMSD 0. RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan *native* hasil *docking* mendekati konformasi sesungguhnya.

Ligan terbaik yang didapat dari protein target 1WS1 dengan tanaman adas bintang yaitu Heriguard, dengan nilai *binding affinity* -7,5 kkal/mol dan nilai RMSD 0. RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan *native* hasil *docking* mendekati konformasi sesungguhnya.

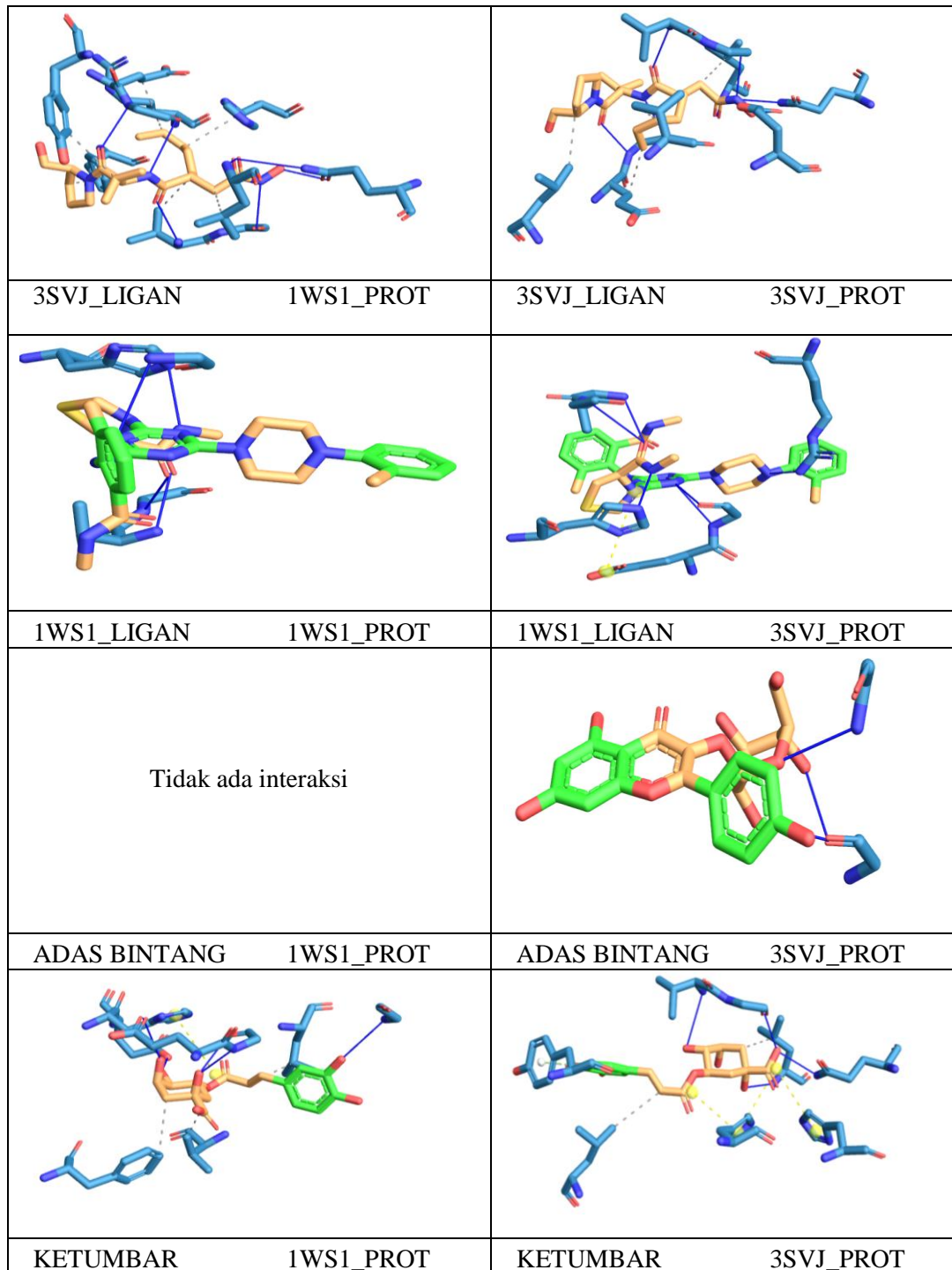
Ligan terbaik yang didapat dari protein target 1WS1 dengan tanaman adas bintang yaitu Alpha humulene, dengan nilai *binding affinity* -6,4 kkal/mol dan nilai RMSD 0. RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan *native* hasil *docking* mendekati konformasi sesungguhnya.

Ligan terbaik yang didapat dari protein target 1WS1 dengan tanaman adas bintang yaitu 2-methylene cyclohexanone, dengan nilai *binding affinity* -6,8 kkal/mol dan nilai RMSD 0.

RMSD bernilai 0 menunjukkan bahwa konformasi ligan *native* hasil *docking* mendekati konformasi sesungguhnya.

Nilai binding affinity dari tanaman uji dibandingkan dengan nilai binding affinity dari ligan native lebih besar, akan tetapi nilai dari adas bintang masih cukup setara dibandingkan dengan ligan native terutama untuk 3SVJ.

3.2. Interaksi Antara Residu Ligand Tanaman dengan Ligan Native



Gambar 1. Visualisasi Interaksi Antara Ligan dan Protein Target

Gambar hasil interaksi antara ligan native dan ligan tanaman uji dengan protein target dapat dilihat pada gambar 1 yang divisualisasikan menggunakan plipf.. Interaksi yang dihasilkan tiap tanaman menunjukkan hasil yang berbeda. Hasil interaksi antara residu ligan tanaman dengan ligan native dapat dilihat pada Tabel 3. Hasil interaksi menunjukkan pada Heriguard (1WS1_protein-Adas bintang) tidak terdapat residu dikarenakan tidak adanya reaksi. Sedangkan untuk Heriguard (3SVJ_protein-Adas bintang) interaksi yang dihasilkan yaitu Ikatan Hidrogen. Ikatan Hidrofobik dan Ikatan Hidrogen merupakan ikatan yang terdapat dalam Alpha humulene, dan yang terakhir 2-methylene cyclohexanone menghasilkan ikatan Ikatan Hidrofobik, Ikatan Hidrogen, Jembatan Garam, pi-Stacking. Beberapa residu dari tanaman yang sama terhadap residu dari ligan native menunjukkan adanya potensi yang sama atau lebih terhadap anti tuberkulosis.

Tabel 3. Interaksi Antara Residu Ligan Tanaman Uji dengan Residu Ligan Native

Protein target	Ligan/senyawa	Ligan Hasil	Jenis Interaksi	Residu yang terlihat
1WS1_protein	3SVJ_ligan		Ikatan Hidrofobik, Ikatan Hidrogen	1. VAL46, GLU88 , LEU91 , TYR97, PHE125, ARG128, HIS132 2. VAL45 , GLY46, GLN51, GLN51, GLY89 , GLY89 , LEU91
3SVJ_protein	3SVJ_protein		Ikatan Hidrofobik, Ikatan Hidrogen	1. LEU124 , GLU128, LEU131 , VAL170 2. VAL71, GLY72 , GLN77 , GLY129 , GLY129 , LEU131 , GLU174
1WS1_protein	1WS1_ligan		Ikatan Hidrogen	1. VAL45 , GLY46, GLY89, HIS132
3SVJ_protein	1WS1_ligan		Ikatan Hidrogen, Jembatan Garam	1. ARG68, VAL71 , GLY72 , GLY129, GLY129, HIS173 2. GLU128
1WS1_protein	Adas bintang	Heriguard	Tidak ada interaksi	Tidak ada residu
3SVJ_protein	Adas bintang	Heriguard	Ikatan Hidrogen	1. GLY127, GLY127, GLY129
1WS1_protein	Ketumbar	Alpha humulene	Ikatan Hidrofobik, Ikatan Hidrogen	1. VAL45 , LEU91 , PHE125 2. GLU88 , GLY89 , GLY89 , GLY95, GLU133 3. HIS132
3SVJ_protein	Ketumbar	2-methylene cyclohexanone	Ikatan Hidrofobik, Ikatan Hidrogen, Jembatan Garam, pi-Stacking	1. LEU124 , LEU131 2. VAL71 , GLY72 , GLN77 , LEU131 , LEU131 3. HIS173, HIS173, HIS177 4. TYR166

4. KESIMPULAN

Berdasarkan dari penelitian ini didapat nilai *binding affinity* terbaik yaitu -7.9 dari hasil *docking* adas bintang dengan protein 1WS1. Mengacu pada nilai binding affinity tersebut, hanya Adas bintang yang berpotensi sebagai anti tuberkulosis karena nilai yang hampir sama dibandingkan dengan ligan native. Nilai binding affinity yang paling kecil menunjukkan bahwasanya energi dari senyawa aktif untuk mengikat protein lebih kecil sehingga diharapkan dapat lebih efektif sebagai anti tuberkulosis. Akan tetapi, meski ketumbar secara komputasi (*binding affinity*) nya tidak lebih baik, tetapi interaksinya mirip dengan native, sehingga bisa dijadikan sebagai ligan penuntun, dan dimungkinkan mempunyai aktivitas yang mirip dengan intensitas yang lebih rendah. Namun semuanya perlu diujikan kembali dengan berbagai kondisi komputasi virtual lainnya untuk memastikan dugaan pertama ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Bapak Broto Santoso selaku dosen Rancangan Obat yang membimbing saya dalam menyelesaikan artikel ilmiah ini mengenai kajian *in silico* 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

- 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
- 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), pp. 8–10. doi: 10.4172/2155-9872.1000356
- Frieden, T. R., Sterling, T. R., Munsiff, S. S., Watt, C. J. & Dye, C. (2003). Tuberculosis. *Lancet* 362, 887–899
- Guay, D. R. P. (2007) 'Drug forecast - The peptide deformylase inhibitors as antibacterial agents', *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 3(4), pp. 513–525.
- Huang, S. Y. and Zou, X. (2010) 'Advances and challenges in Protein-ligand docking', *International Journal of Molecular Sciences*, 11(8), pp. 3016–3034. doi: 10.3390/ijms11083016.
- Lalitha,V., Kiran, B., Raveesha, B. (2011). Antifungal and Antibacterial Potentiality of Six Essential Oils Extracted from Plant Source. *International Journal of Engineering Science and Technology (IJEST)*, Vol. 3, No. 4.
- Lehrstuhl, Franz., D. Frohne., H.R., K. Hiller. (2004). PDR for Herbal Medicines 4rd Edition. Medpharm GmbH Scientific Publishers, Germany.
- Petterson 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. *et al.* (2015) 'Mycobacterium tuberculosis: ecology and evolution of a human bacterium', *Journal of Medical Microbiology*, 64(11), pp. 1261–1269. doi: 10.1099/jmm.0.000171.

Saputri, K. E. *et al.* (2016) 'Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina', *Chimica et Natura Acta*, 4(1), p. 16. doi: 10.24198/cna.v4.n1.10443.

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>

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