

Interaksi Molekuler secara 3D Senyawa dalam Kemenyan Jawa dan Adas Bintang sebagai Inhibitor Protein Sintase 2 dari 3-Oksosasil-[Protein-Pembawa-Asil] *Mycobacterium tuberculosis*

Dina Octavia¹, Broto Santoso²

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

¹Email: octaviadina925@gmail.com

²Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Keywords:
Kemenyan Jawa;
Adas Bintang;
Sintase 2 Dari 3-
Oksoasil;
PyRx-vina;
Anti-tuberkulosis.

*Komputasi, salah satunya adalah docking, mendorong penemuan obat baru menjadi lebih cepat dan mengurangi faktor ketidakpastian dalam uji laboratorium. Metode docking telah dilakukan untuk senyawa dalam kemenyan jawa dan adas bintang terhadap sintase 2 dari 3-oksoasil-[Protein-Pembawa-Asil] *Mycobacterium tuberculosis*. Protein dipisahkan dari residu dan diambil ligan uniknya menggunakan Chimera. Kemudian proses dilanjutkan dengan docking menggunakan PyRx Vina autodock. Hasil docking dievaluasi dan dianalisis nilai kedekatan afinitas ikatan dan keterlibatan residu dalam interaksi ligan-protein dibandingkan dengan hasil ligan native. Penggambaran interaksi antara ligan dengan protein dapat dilihat menggunakan PyMol dan PLIP (Protein-Ligand Interaction Profiler). Senyawa dalam adas bintang dan kemenyan jawa terbukti memiliki kedekatan afinitas yang lebih baik dibandingkan ligan natif itu sendiri. Senyawa yang aktif ini terdapat dalam adas bintang maupun kemenyan jawa. Senyawa aktif dalam kemenyan jawa yang memiliki aktivitas terhadap protein target 4C6W dan 4C70 adalah asam oleanolat dan 5,5 bivanilin dengan nilai afinitas (-6,6) dan (-8,8), sedangkan pada adas bintang berupa senyawa hinokiol dan mairin dengan nilai afinitas (-6,2) dan (-8,9). Residu dari senyawa yang dihasilkan berupa interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen, dalam senyawa asam oleanolat, dan interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen, dalam 5,5 bivanilin. Dalam ligan natif, terdapat residu berupa interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen, jembatan air, dan jembatan garam. Sehingga, belum ditemukan kesamaan residu antara ligan natif dengan senyawa yang dituju. Hal ini dapat disimpulkan bahwa belum ada potensi senyawa sebagai inhibitor dari protein sintase 2 dari 3-oksoasil dalam bakteri *Mycobacterium tuberculosis*.*

1. PENDAHULUAN

Dahulu, sebelum ditemukannya teknologi yang maju, penemuan obat baru dilakukan hanya dengan usaha coba-coba atau biasa dikatakan *trial and error* (Firdayani et al, 2012). Usaha coba-coba ini tentunya kurang menguntungkan bagi peneliti. Hal ini disebabkan oleh mahalnya biaya yang harus dikeluarkan dan belum tentu didapatkan hasil yang poten maupun maksimal. Ada hampir lebih dari 8000 senyawa baru yang didapatkan dari alam maupun hasil sintesis. Senyawa baru ini tentunya diperlukan uji lebih lanjut seperti uji fisika, uji kimia, uji aktivitas, uji farmakokinetik, hingga uji klinik. Permasalahan penemuan obat baru ini mulai dapat diatasi dengan adanya teknik komputasi. Teknik komputasi ini membantu dalam penemuan obat baru dengan cara menghitung antara sifat dan perubahan

terhadap molekul maupun makromolekul yang dituju. Hal ini mencakup kajian konformasi molekul serta perubahannya, perubahan fase, dan memperkirakan sifat-sifat makroskopik berdasarkan perilaku di tingkat atom dan molekul (Siswandono, 2010). Teknik komputasi ini cukup berguna karena tidak hanya memudahkan dalam proses *drug discovery* tetapi juga hampir semua aspek kimia dapat digambarkan dalam skema komputasi kualitatif maupun kuantitatif. Salah satunya yaitu makromolekul yang terdapat dalam tanaman kemenyan jawa.

Kemenyan (*Styrax spp.*) adalah getah atau eksudat kering yang dihasilkan dengan menoreh batang pohon kemenyan. Kemenyan termasuk dalam famili *Styraceae*. Genus kemenyan memiliki jumlah lebih dari 20 jenis. Jumlah spesies kemenyan pun bervariasi menurut beberapa pakar, ada yang menyebutkan 5 spesies, 7 spesies dan 20 spesies. Jenis kemenyan yang umum dibudidayakan yaitu Toba (*Styrax paralleloneurum* PERK), Durame (*Styrax benzoin* DRYAND), Bulu (*Styrax benzoin* var. *hiliferum*) dan Siam (*Styrax tonkinensis*). Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa senyawa yang memungkinkan ada dalam kemenyan berupa asam sinamat, asam benzoat, *styrrol*, vanilin, *styracin*, *coniferil benzoate* dan *sinamate*, resin benzoeresinol, dan suma resinotanol (Jayusman, 2014). Dari banyak penelitian sebelumnya yang diacu, *Styrax spp* memiliki aktivitas berupa antimikroba atau antibakteri, antifungi, dan insektisida. Penelitian yang diacu menyatakan bahwa *Styrax* yang dikombinasi dengan AgNPs terbukti memiliki aktivitas antimikroba. Aktivitas antimikroba diuji pada bakteri yang berbeda: *P. aeruginosa*, *S. auerus*, *E. coli*, dan *C. tropicalis* (Du et al, 2016). Minyak atsiri dari *Styrax* cukup efektif dalam peningkatan angka mortalitas dari larva sehingga cukup efektif sebagai insektisida (Singh & Maurya, 2005). Oleh karena itu, simulasi penambatan molekuler ini dilakukan dari senyawa dalam kemenyan dengan protein *binding* pada bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dengan harapan dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* merupakan bakteri penyebab penyakit TBC atau tuberkulosis. Bakteri ini sebagian besar akan menyerang paru, tetapi dapat juga mengenai organ tubuh lainnya. Bakteri ini juga dapat menular. Penularannya terjadi dari pasien TB BTA positif yang batuk ataupun bersin. Ketika pasien TB BTA positif bersin atau batuk, percikan dahak (*droplet nuclei*) dari pasien akan mengandung bakteri *Mycobacterium tuberculosis* dan menyebar ke orang lain. Diperkirakan sekitar sepertiga penduduk dunia telah terinfeksi oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Bahkan, pada tahun 1995 diperkirakan ada 9 juta pasien TB baru dan 3 juta kematian akibat TB di seluruh dunia (Kemenkes, 2011). Data terbaru dari laporan WHO menunjukkan, tahun 2013 diperkirakan terdapat 8,6 juta kasus TB. Bahkan, dari tahun ke tahun kasus TB terus meningkat, termasuk kasus koinfeksi TB HIV (Depkes RI, 2016).

Protein *binding* di dalam organisme *Mycobacterium tuberculosis* dipilih karena tidak hanya karena menyebabkan penyakit, yang kasusnya semakin banyak, tetapi juga karena TB membutuhkan antibakteri yang banyak dan bahkan seringkali terjadinya resisten antibiotik terhadap bakteri tersebut. Tidak hanya itu, pasien koinfeksi HIV TB pun semakin meningkat, bahkan lebih banyak pula yang resisten terhadap antibiotik. Pengobatan TB pun membutuhkan waktu yang lama dan regimen antibiotik yang tidak sedikit. Bahkan, tercatat pada tahun 2009, prevalensi HIV kelompok TB dengan resisten tipe MDR (*Multi Drug Resistance*) timbul sebanyak 20% dari jumlah total pengidap koinfeksi HIV TB di Indonesia (Kemenkes, 2011). Oleh karena itu, berdasarkan paparan diatas, yang menyatakan kemenyan atau *Styrax* dapat digunakan sebagai antimikroba, peneliti ingin membuktikan apakah kemenyan atau *Styrax* dapat digunakan sebagai inhibitor dari protein yang terkandung dalam bakteri *Mycobacterium tuberculosis* menggunakan teknik komputasi berupa *docking*.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, seperangkat komputer Acer dengan *operating system Windows 10* 64 bit. Perangkat lunak yang digunakan berupa PyRx0.9.7 (Vina dan Autodock), Chimera 1.12, Microsoft Excel 2013, Edit Plus 4.0.631, dan PDBest.

Protein *binding Mycobacterium tuberculosis (3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2)* didapatkan dari *bindingdb.org*, protein dengan resolusi di bawah 2,0Å tipe 4C70 dan 4C6W diperoleh dari *rscb.org* dengan format pdb (Berman et al, 2000). Ligan natif yang digunakan berupa EPE (*4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid*), yang berasal dari protein 4C6W, dan TLJ (*(5R)-4-hydroxy-5-methyl-5-[(1E)-2-methylbuta-1,3-dien-1-yl]-3-propylthiophen-2(5H)-one*), yang berasal dari protein 4C70.

2.2. Prosedur Kerja

Sebelum dilakukan preparasi, bila protein telah didapatkan, dilihat adanya ANISOU dalam protein maupun ligan menggunakan perangkat lunak Edit Plus. ANISOU merupakan suatu bentuk pengganggu dari protein maupun ligan yang menciptakan *mirroring* dari struktur tersebut. Apabila terdapat adanya ANISOU dalam protein, ANISOU dihilangkan dengan menggunakan perangkat lunak PDBest.

Preparasi protein dan ligan dilakukan menggunakan perangkat lunak Chimera. Perangkat lunak Chimera dapat memisahkan antara protein dengan ligan natif yang dituju. Tidak hanya itu, pada Chimera juga dapat menghilangkan adanya residu lainnya misalnya air. Protein dipreparasi dengan cara memisahkan ligannya saja maupun proteinnya (makromolekul) saja. Kemudian, hasil dari preparasi disimpan dan digunakan untuk Autodock pada perangkat lunak PyRx.

Autodock dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx. Pada PyRx, ligan dan makromolekul yang telah dipreparasi dimasukkan dan dilakukan Vina Autodock. Docking ini dilakukan untuk mencari konformasi 3D ligan natif terhadap reseptor dengan memperhatikan pusat massa ligan dan *binding site pocket* dari ligan. Untuk pusat massa ligan pertama (TLJ) berupa -8,065; 14,965; -10,062 dengan dimensi 20-25-20. Pusat massa ligan kedua (EPE) berupa -6,542; -21,959; 7,462 dengan dimensi 20-25-25. Selanjutnya, autodock dilanjutkan dengan *Run Vina* dan ditunggu hasil *docking* yang telah dilakukan. Hasil *docking* diambil yang terbaik yang memiliki nilai paling kecil.

Data dari kemenyan jawa dan adas bintang kemudian dimasukkan ke dalam *docking* PyRx-Vina. Sebelumnya, data harus diubah menjadi makromolekul dan ligan menggunakan OpenBabel (O'Boyle et al, 2011). Selanjutnya, *docking* dilakukan dengan protein target awal hingga didapatkan hasil. Hasil dari docking kemudian dilakukan PLIP (Salentin et al, 2015) sehingga didapatkan residu. Residu yang telah didapatkan kemudian dibandingkan dengan residu dari ligan natif. Apabila terdapat banyak kesamaan, memungkinkan memiliki aktivitas yang sama dengan ligan natif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Makromolekul protein target, Sintase 2 dari 3-Oksosasil-[Protein-Pembawa-Asil], memiliki dua rantai protein yaitu rantai A dan rantai B. Namun ligan unik hanya terdapat di rantai B, sehingga protein hanya diambil pada rantai B. Ligan dan protein berhasil dipreparasi dan didapatkan protein tanpa ligan dan dengan ligan. Protein-ligan dilakukan preparasi dengan menggunakan program UCSF *Chimera* (Pettersen et al, 2004) untuk mendapatkan keutuhan geometri molekul 3D protein target dari rantai samping yang tidak lengkap.

Ligan dan protein yang telah didapatkan kemudian dilakukan validasi menggunakan *PyRx-Vina autodock* (Dallakyan et al, 2015). Validasi ligan asli dari protein target dilakukan setiap algoritma docking. Validasi tersebut dilakukan untuk mengetahui kemiripan konformatif antara ligan natif kristalografi dengan ligan natif hasil optimasi docking. Hasil

kemiripan konformasi 3D ligan natif dapat dinyatakan dengan RMSD. Nilai RSMD dapat menunjukkan bahwa ligan memiliki posisi 3D yang mendekati dengan ligan kristalografi. Hasil algoritma *docking* dipaparkan pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil algoritma *docking molecular* dari ligan natif

Kategori Ligan	Protein Target	Data <i>Gridbox</i> (Å)			Data <i>Gridscore</i> (Pusat Massa Ligan)		
		X	Y	Z	X	Y	Z
EPE	4C6W	20	25	20	-8,065	14,965	-10,062
TLJ	4C70	20	25	25	-6,542	-21,959	7,462

Hasil *docking* antara ligan dengan protein target akan diperoleh nilai *binding affinity*. Nilai *binding affinity* yang semakin kecil menandakan bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas semakin tinggi. *Binding affinity* adalah kemampuan suatu senyawa dalam berikatan dengan protein target. Nilai *binding affinity* dari masing-masing ligan terhadap protein yang didapatkan dari proses *molecular docking* terpapar pada tabel 2.

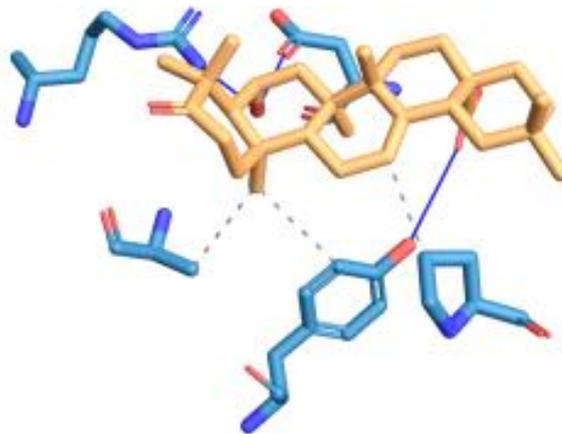
Tabel 2. Nilai *binding affinity* berdasarkan kelompok ligan

Kategori Ligan	Protein Target	Kode Ligan	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Senyawa Aktif
Ligan natif 4C6W	4C6W	EPE	(-4,0)	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid
Ligan natif 4C6W	4C70	EPE	(-3,7)	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazine ethanesulfonic acid
Ligan natif 4C70	4C6W	TLJ	(-7,8)	(5 <i>r</i>)-4-hydroxy-5-methyl-5-[(1 <i>e</i>)-2-methylbuta-1,3-dien-1-yl]-3-propylthiophen-2(5 <i>h</i>)-one
Ligan natif 4C70	4C70	TLJ	(-6,8)	(5 <i>r</i>)-4-hydroxy-5-methyl-5-[(1 <i>e</i>)-2-methylbuta-1,3-dien-1-yl]-3-propylthiophen-2(5 <i>h</i>)-one
Adas Bintang	4C6W	Mol000211	(-6,2)	Mairin
Adas Bintang	4C70	Mol005955	(-8,9)	Honokiol
Kemenyan Jawa	4C6W	Mol000263	(-6,5)	Asam oleanolat
Kemenyan Jawa	4C70	Mol012190	(-8,8)	5,5 bivanilin

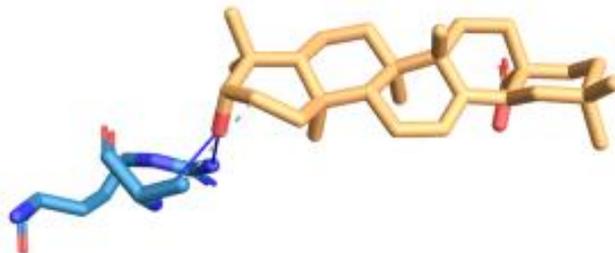
Hasil *docking* antara ligan dengan protein target juga dapat memberikan hasil residu. Hasil residu dari senyawa yang dipilih kemudian dibandingkan dengan hasil residu dari ligan natif protein target. Apabila hasil residu dari senyawa memiliki banyak kemiripan dengan hasil residu dari ligan natif, senyawa dari bahan alam tersebut dapat dikatakan sebagai senyawa yang poten terhadap protein target. Namun apabila hasil residu tidak banyak kemiripan, meskipun dengan nilai *binding affinity* yang kecil, senyawa tersebut belum bisa dikatakan sebagai senyawa yang poten terhadap protein target. Hasil residu dipaparkan dalam tabel 3.

Tabel 3. Nilai residu berdasarkan kelompok ligan

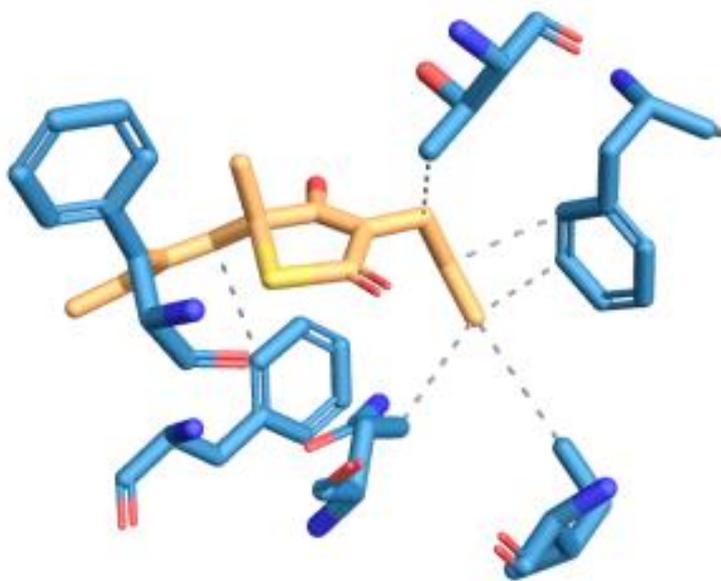
Protein Target	Ligan	Jenis Interaksi	Residu
4C6W	EPE	Ikatan Hidrogen Jembatan Garam	GLN333, TYR373 ASP381
4C70	EPE	Tidak Ada Interaksi	-
4C6W	TLJ	Tidak Ada Interaksi	-
4C70	TLJ	Interaksi Hidrofobik	GLN171, PHE237, PHE237, THR313, ILE347, PHE402, PHE404
4C6W-Adas Bintang	Mairin	Interaksi Hidrofobik Ikatan Hidrogen	TYR373, PRO376, ALA386 TYR373, ASP383, ARG390
4C70-Adas Bintang	Honokiol	Tidak Ada Interaksi	-
4C6W-Kemenyan Jawa	Asam Oleanolat	Interaksi Hidrofobik Ikatan Hidrogen	ALA386 ALA386, ARG390
4C70-Kemenyan Jawa	5,5 bivanilin	Tidak Ada Interaksi	-



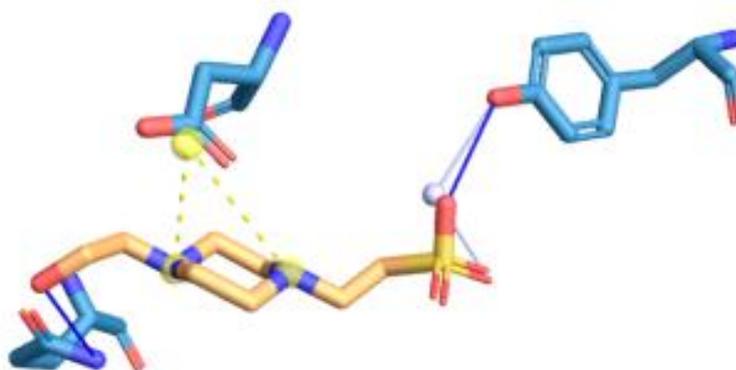
Gambar 1. Konformasi hasil *docking* dan PLIP yang menunjukkan adanya interaksi dan residu dari ligan Mairin-4C6W



Gambar 2. Konformasi hasil *docking* dan PLIP yang menunjukkan adanya interaksi dan residu dari ligan Asam Oleanolat-4C6W



Gambar 3. Konformasi hasil *docking* dan PLIP yang menunjukkan adanya interaksi dan residu dari ligan TLJ-4C70



Gambar 4. Konformasi hasil *docking* dan PLIP yang menunjukkan adanya interaksi dan residu dari ligan EPE-4C6W

4. KESIMPULAN

Berdasarkan *molecular docking*, turunan dari adas bintang (honokiol dan mairin) dan kemenyan jawa (asam oleanolat dan 5,5 bivanilin), belum ditemukan kemiripan residu antara residu dari ligan natif dengan residu dari senyawa dari bahan alam. Sehingga, dapat dikatakan bahwa belum ada potensi dari senyawa dalam adas bintang (honokiol dan mairin) dan kemenyan jawa (asam oleanolat dan 5,5 bivanilin).

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
- Depkes RI. (2016). *Tuberkulosis Temukan Obati Sampai Sembuh*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- Du, J., Singh, H., & Yi, T. H. (2016). *Antibacterial, anti-biofilm and anticancer potentials of green synthesized silver nanoparticles using benzoin gum (Styrax benzoin) extract*. Bioprocess and Biosystems Engineering, 39(12), 1923–1931.
- Jayusman. (2014). (*Styrax spp.*). Bogor: IPB Press.
- Kemenkes. (2011). *Pedoman Nasional Pengendalian Tuberkulosis*. Jakarta: Kementerian

- 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
- Singh, G., & Maurya, S. (2005). *Antimicrobial, antifungal and insecticidal investigations on essential oils: An overview*. Natural Product Radiance, 4(3), 179–192.
- Siswandono, Soekardjo B. (2000). *Kimia Medisinal Pengembangan Obat Jilid I*. Surabaya: Airlangga University Press.
- 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>