

**Studi Docking Senyawa dalam Jeruk Pahit (*Citrus aurantium*) dan Adas Bintang (*Anisi stellati*) terhadap Sitokrom P450 51 (CYP51) *Mycobacterium tuberculosis* Menggunakan PyRx-vina**

**Andi Istiqomah Rukhmia<sup>1</sup>, Broto Santoso<sup>2</sup>**

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

<sup>1</sup>Email: istiqomah770@gmail.com

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

---

**Abstrak**

**Keywords:**  
Anti-tuberkulosis,  
Molecular  
Docking, PyRx-  
vina,  
Citrus  
aurantium, Anisi  
stellati

*Tuberkulosis (TB) merupakan penyebab kematian kesembilan di seluruh dunia. Ekstrak jeruk pahit memiliki efek antibakteri tinggi, dan minyak esensial neroli dari ekstrak bunga jeruk pahit memiliki aktivitas anti-mikroba. Sama halnya dengan adas bintang yang juga memiliki aktivitas anti-bakteri, dan anti-jamur. Enzim CYP51B1 (homolog jamur sterol 14 $\alpha$ -demethylase) dari *M. tuberculosis* merupakan target pengobatan tuberkulosis dengan mekanisme anti-jamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran mengenai interaksi antara CYP51 dengan senyawa dalam kedua tanaman. Docking molekular kandungan senyawa dalam kedua tanaman telah selesai dilakukan dengan menggunakan PyRx-vina didukung dengan PyMOL dan PLIP (Protein Ligand Interaction Profiler) untuk membuat profil visual interaksi ligan-protein. Terapan dari docking molekuler yaitu akan mempercepat proses penemuan obat dengan melakukan penyaringan awal yang sangat cepat terhadap senyawa-senyawa kimia tertentu, terutama yang belum diketahui aktivitasnya dalam tanaman tradisional. Binding affinity senyawa mairin dan honokiol (adas bintang) dengan target protein 2w0a dan 2w09 adalah -8,5 dan -8,9 kkal/mol, sedangkan untuk senyawa hesperidin dan limonin (jeruk pahit) secara urut untuk kedua protein target adalah -8,6 dan -9,0 kkal/mol. Interaksi ligan-protein melibatkan residu GLN-72 dan LEU-321. Hasil docking menunjukkan nilai binding affinity senyawa dalam kedua tanaman lebih baik dari ligan native, sehingga diprediksi memiliki potensi inhibisi pada CYP51B1.*

---

**1. PENDAHULUAN**

Tuberkulosis (TB) adalah suatu penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *micro tuberculosis* yang dapat menular melalui percikan dahak (Depkes RI, 2016). Menurut WHO, TB merupakan penyebab kematian kesembilan di seluruh dunia dan penyebab utama dari satu agen infeksi, berada di atas HIV/AIDS. Faktor risiko penderita TB: jenis kelamin, status, gizi, sosioekonomi, pendidikan dan faktor-faktor Toksis seperti merokok, minuman keras, yang merupakan faktor penting dapat menurunkan daya tahan tubuh. Pengobatan TB dilakukan berdasarkan beberapa kriteria parameter klinis yang ada, namun lini pertama pengobatan TB yaitu: INH, Rifampisin, Etambutol, Streptomisin, dan Pirazinamid (Nurjana, 2015).

Semakin berkembangnya zaman, tuberkulosis dapat mengalami resistensi terhadap obat dan hal ini merupakan ancaman yang terus berlanjut. Seperti yang diketahui bahwa Indonesia memiliki berbagai jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai pengobatan. Pada penelitian ini digunakan tanaman jeruk pahit (*Citrus aurantium*) dan adas bintang (*Anisi stellati*) yang

diketahui memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa minyak esensial neroli dari ekstrak bunga pohon jeruk pahit memiliki aktivitas antimikroba. Minyak neroli menunjukkan aktivitas antibakteri yang ditandai terutama terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Ammar, AH *et al.*, 2012).

Menurut Dadashi (2015), ekstrak jeruk pahit ditemukan memiliki efek antibakteri tinggi pada bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. *Anisi stellati fructus* (ASF), umumnya dikenal sebagai adas bintang, telah lama digunakan sebagai obat tradisional Cina untuk mengobati peradangan, kegelisahan, insomnia dan rasa sakit. Penelitian terbaru telah melaporkan bahwa ASF memiliki aktivitas anti-bakteri, anti jamur dan anti-oksidan (Kim *et al.*, 2014).

Sequencing genom *M. tuberculosis* mengungkapkan adanya dua puluh enzim sitokrom P450. Dari jumlah tersebut yang merupakan kandidat potensial untuk penargetan obat hanya CYP51B1 yang secara fungsional berdasarkan kesamaan urutannya yang signifikan dengan enzim eukariotik CYP51 dan aktivitas katalitik sterol 14 $\alpha$ -demetilasinya (Ouellet *et al.*, 2011). Maka dari itu terus dilakukan pengembangan obat-obat baru. *Docking* molekul adalah perancah yang menarik untuk memahami interaksi obat-obatan biomolekuler untuk desain dan penemuan obat yang rasional..

Terapan dari *docking* molekul yaitu akan mempercepat proses penemuan obat dengan melakukan penyaringan awal yang sangat cepat terhadap senyawa-senyawa kimia tertentu, terutama yang belum diketahui aktivitasnya dalam tanaman tradisional, serta dapat pula digunakan untuk senyawa turunan atau senyawa baru hasil sintesis. Teknik ini juga bisa menjembatani awal pencarian aktivitas baru dari suatu senyawa kimia yang telah mempunyai aktivitas tertentu tetapi tidak aktif/poten.

Keuntungan dari *docking* molekul jika dibandingkan dengan metode konvensional yaitu memangkas waktu, energi, serta biaya yang dibutuhkan (Rizky Arcintha rachmania., Supandi., 2016). Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi antara CYP51 dengan senyawa dalam jeruk pahit dan adas bintang serta memprediksi aktivitas senyawa tersebut yang akan dikembangkan sebagai antituberkulosis.

## 2. METODE

**Alat dan Bahan:** Perangkat keras yang digunakan Komputer windows 10-32 bit sebagai sistem operasi. Perangkat lunak yang digunakan: PyRx (Dallakyan S, and Olson., 2015)-Vina (Trot. O., 2010) Chimera (Pettersn *et al.*, 2010), PyMOL (Version 1.8 Schrödinger) , Openbabel (O'boyle NM *et al.*, 2011) PDBest dan PLIP (Salentin S *et al.*, 2015).

### 1. Preparasi Protein dan Ligan

Protein dan ligan natif dipisahkan menggunakan program Chimera, sehingga didapatkan protein yang terbebas dari ligan natif ataupun ligan natif yang terbebas dari protein dan residu air. Protein dan ligan dipersiapkan untuk menjadi berkas siap pakai dengan menggunakan fasilitas konversi AutoDock dan openbabel di dalam PyRx (Saputri *et al.*, 2016)

### 2. Docking Molekuler

Proses docking dilakukan menggunakan program PyRx-Vina-AutoDock dengan hasil berupa konformasi 3D dan nilai energy bebas (*binding affinity*). Ketika nilai *binding affinity* minus 12 maka kekuatan ikatan dapat dipastikan terjadi. Masing masing data yang diujikan diambil 2 data terbaik (Saputri *et al.*, 2016). Visualisasi senyawa hasil docking dapat menggunakan PyMOL dan untuk melihat interaksi yang terjadi didalam senyawa hasil docking dapat menggunakan program PLIP (Farid *et al.*, 2016)

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

*Docking* molekular dilakukan menggunakan protein yang tersedia pada database, seperti rcsb.org. Protein yang digunakan pada umumnya protein hasil pengukuran kristalografi Xray dengan resolusi setidaknya kurang dari 2,5Å (Santoso, 2017). Protein target yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari database dengan organisme *M. tuberculosis*. Protein target yang dipilih yaitu memiliki mekanisme penghambatan pada CYP51B1 *M. tuberculosis*. Dipilih dua protein target, masing-masing 2w0a dan 2w09. Untuk validasi dilakukan *docking* menggunakan ligan native dan adas bintang. Setelah itu, dilanjutkan dengan mengkaji ikatan 3D kelompok ligan, dalam hal ini jeruk pahit. Pada Tabel 1 menunjukkan nilai *binding affinity* dari masing-masing kategori ligan dengan kedua protein.

**Tabel 1.** Nilai binding affinity berdasarkan kelompok ligan

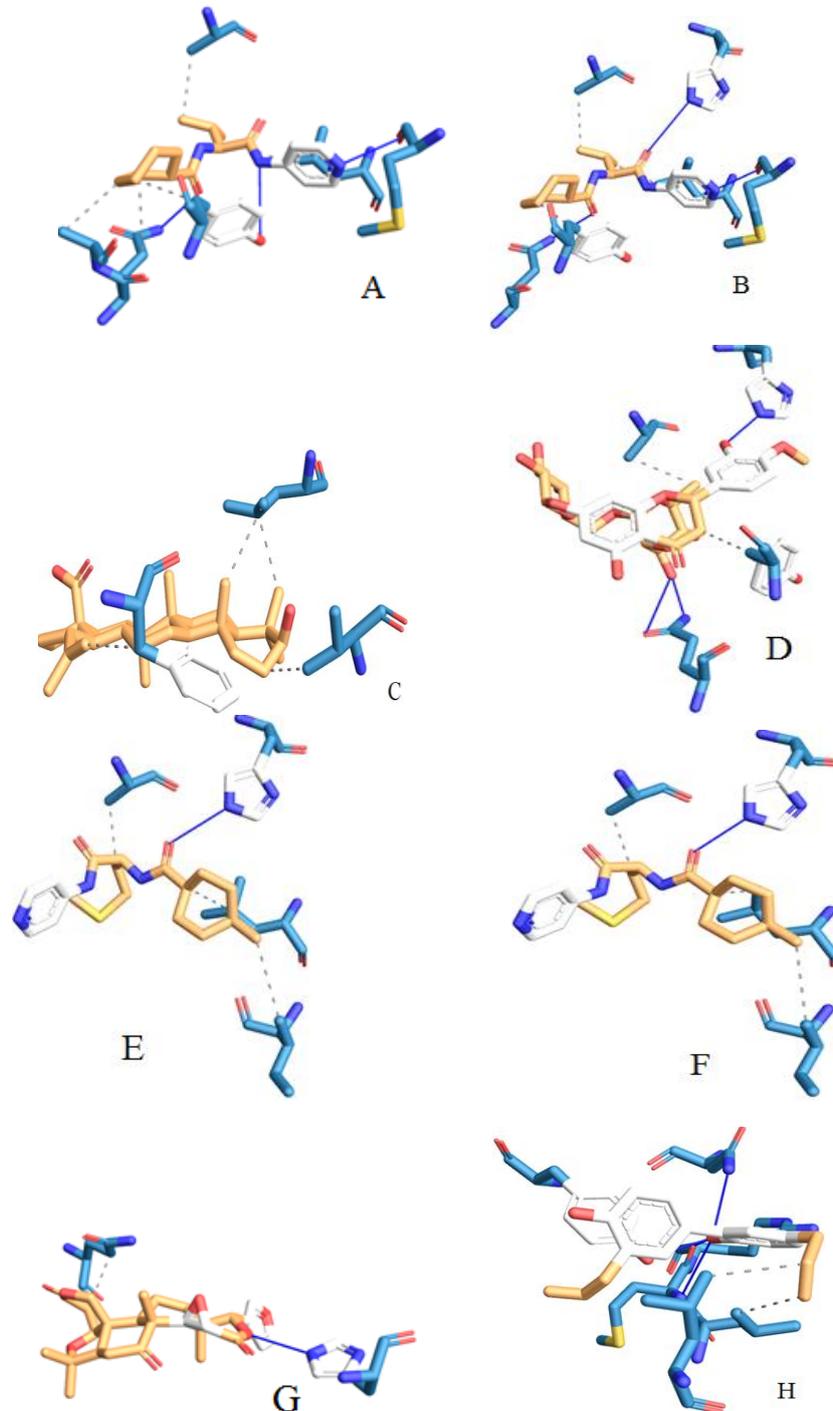
Ligand Category	Protein target	Ligand Code	Binding Affinity
Ligan native	2w0a <sup>1</sup>	CII <sup>1</sup>	-8.7
Ligan native	2w09 <sup>2</sup>	CII <sup>1</sup>	-7.0
Ligan native	2w0a <sup>1</sup>	CM9 <sup>2</sup>	-7.5
Ligan native	2w09 <sup>2</sup>	CM9 <sup>2</sup>	-6.7
adas bintang	2w0a <sup>1</sup>	mairin	-8.5
adas bintang	2w09 <sup>2</sup>	honokiol	-8.9
jeruk pahit	2w0a <sup>1</sup>	hesperidin	-8.6
jeruk pahit	2w09 <sup>2</sup>	limonin	-9.0

Tabel 2. Residu-residu protein target yang berinteraksi dengan ligan uji (ikatan hidrogen=garis bawah, residu sama=ditebalkan, dan selainnya adalah interaksi hidrofobik)

Protein target	Ligan	Jenis Interaksi	Residu yang terlibat
2w0a <sup>1</sup>	CII <sup>1</sup>	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	<u>GLN72</u> , ALA73, <b>TYR76</b> , ALA256, LEU321, <u>MET433</u>
2w0a <sup>1</sup>	CM9 <sup>2</sup>	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	ALA256, LEU321, ILE323, <u>HIS259</u>
2w0a <sup>1</sup>	hesperidin	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	TYR76, ALA256, <u>GLN72</u> , <u>HIS259</u>
2w0a <sup>1</sup>	mairin	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	PHE255, <b>LEU321</b> , VAL434, <u>HIS259</u>
2w09 <sup>2</sup>	CII <sup>1</sup>	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	TYR76, ALA256, LEU321, <b>GLN72</b> , <b>HIS259</b> , <b>MET433</b>
2w09 <sup>2</sup>	CM9 <sup>2</sup>	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	ALA256, LEU321, ILE323, <u>HIS259</u>
2w09 <sup>2</sup>	limonin	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	<u>GLN72</u> , <u>HIS259</u>
2w09 <sup>2</sup>	honokiol	Ikatan Hidrogen, Interaksi hidrofobik	LEU321, LEU324, <u>TYR76</u> , <u>GLN72</u> , <u>ARG326</u> , <b>MET325</b>

Dari hasil *docking* di atas, dapat disimpulkan bahwa nilai *binding affinity* dari jeruk pahit (ligan uji) lebih kecil dari ligan native. Semakin kecil nilai *binding affinity* menandakan bahwa ligan tersebut memiliki ikatan yang lebih baik dengan reseptor. Jeruk pahit, yang mengandung senyawa limonin memiliki *binding affinity* yang lebih baik dengan protein 2w09 jika dibandingkan dengan ligan nativenya (CM9). *Binding affinity* protein 2w0a dengan senyawa hesperidin lebih besar jika dibandingkan dengan ligan native (CII), namun perbedaan nilai ini tidak signifikan.

Selain mengetahui nilai kekuatan ikatan antara ligan-protein target, dilihat juga residu asam amino yang memiliki interaksi dengan ligan uji menggunakan PLIP. Hasil dari PLIP (Tabel 2), menunjukkan bahwa residu yang terlibat interaksi dengan limonin yaitu GLN72, HIS259, sedangkan residu yang berinteraksi dengan hesperidin GLN72, TYR76 dan ALA256. Untuk memvisualisasikan interaksi antara protein, ligan uji dan residunya dapat digunakan PyMOL. Gambar 1 merupakan hasil visualisasi dari PLIP, interaksi antara ligan uji, protein dan residu asam amino.



**Gambar 1.** Konformasi hasil docking CII-2w0a (A), ligan native CII-2w09 (B), mairin-2w0a (C), hesperidin-2w0a (D), CM9-2w0a (E), CM9-2w09 (F), honokiol-2w09 (G), limonin-2w09 (H).

#### 4. KESIMPULAN

*Binding affinity* senyawa mairin dan honokiol (adas bintang) dengan target protein 2w0a dan 2w09 adalah -8,5 dan -8,9 kkal/mol, sedangkan untuk senyawa hesperidin dan limonin (jeruk pahit) secara urut untuk kedua protein target adalah -8,6 dan -9,0 kkal/mol. Interaksi ligan-protein melibatkan residu GLN-72 dan LEU-321. Hasil *docking* menunjukkan nilai *binding affinity* senyawa dalam kedua tanaman lebih baik dari ligan native, sehingga diprediksi memiliki potensi inhibisi pada CYP51B1.

#### 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.
- Dadashi M., Eslami G., Goudarzi H., Hashemi A., Fallah F., Dabiri H. and Taheri S., 2015, Research in Molecular Medicine Antibacterial Effects of Citrus aurantium on Bacteria Isolated from Urinary Tract Infection, , 3 (3), 47–50.
- Dallakyan S, and Olson AJ. Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. *Methods Mol Biol*. 2015; 1263:243-50
- Depkes RI, 2016, InfoDatin, *Tuberkulosis temukan obati sampai sembuh*, 2–10.
- Farid M., Pratama Y., Abidi S.R., Firdaus K.A., Aulia A.F. and Santoso B., 2016, KAJIAN DOCKING MOLEKULAR PADA BINDING SITE POCKET DARI FLAVOPIRIDOL DALAM MENGHAMBAT GLIKOGEN FOSFORILASE MENGGUNAKAN PyRx-AUTODOCK-VINA, , 154–158.
- Kim A., Im M. and Ma J.Y., 2014, Anisi stellati fructus extract attenuates the in vitro and in vivo metastatic and angiogenic potential of malignant cancer cells by downregulating proteolytic activity and pro-angiogenic factors, *International Journal of Oncology*, 45 (5), 1937–1948.
- Nurjana A. mad., 2015, faktor risiko terjadinya tuberculosis paru usia produktif ( 15-49 Tahun ) Di Indonesia, *Media Litbangkes*, 25 (3), 163–170.
- 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
- Ouellet H., Johnston J.B. and Montellano P.R.O. De, 2011, The Mycobacterium tuberculosis Cytochrome P450 System, *System*, 493 (1), 82–95.
- 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.
- Rizky Arcintha rachmania., Supandi. F.A.D.C., 2016, No Title ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA FLAVONOID BUAH MAHKOTA DEWA (Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl.) PADA RESEPTOR  $\alpha$ -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES, , 13 (2), 239–251.

Santoso B., 2017, Pengaruh Volume Gridbox pada Docking Senyawa dalam *Stelechocarpus burahol* terhadap Protein Homolog antiinflamasi TRPV1, *Univeristy Research Colloquium*, 321–328.

Saputri K.E., Fakhmi N., Kusumaningtyas E., Priyatama D. and Santoso B., 2016, Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina, *Chimica et Natura Acta*, 4 (1), 16.

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

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>