

HASIL CEK_DOCKING MOLEKULER SENYAWA B- KAROTEN DALAM TANAMAN KELOR

by Dwi Utami Bayu Herdi, Nining Sugihartini, Hari S, Dwi Utami

Submission date: 26-Feb-2022 11:10AM (UTC+0700)

Submission ID: 1771198971

File name: Jurnal_Insan_Farmasi_Indonesia.pdf (451.43K)

Word count: 2671

Character count: 16356

DOCKING MOLEKULER SENYAWA β -KAROTEN DALAM TANAMAN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*, L) SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE DENGAN AUTODOCK – VINA

Bayu Herdi Al Huda¹, Nining Sugihartini², Hari Susanti³, Dwi Utami⁴

¹Mahasiswa Pascasarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

²Laboratorium Kimia Analisis, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

³Laboratorium Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

⁴Laboratorium Kimia Organik, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan

*: bayucapatra@gmail.com

ABSTRAK

Hidrokuinon telah digunakan dalam kosmetik karena memiliki aktivitas sebagai pemutih. Pada penelitian sebelumnya, β -Karoten dalam tanaman Kelor juga diketahui memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim *tirosinase*. Perlu diketahui bagaimana mekanisme interaksi senyawa β -Karoten terhadap *tirosinase* (5M8N) dan senyawa manakah antara hidrokuinon dan β -karoten yang memberikan aktivitas sebagai pemutih yang lebih baik secara komputasi. *Tirosinase* dipreparasi menggunakan *Discovery Studio Visualizer*. Ligan dipreparasi dengan menggunakan *Autodock 4.2*. *Autodock-Vina* digunakan untuk docking antara protein dengan ligan. Tolok ukur yang menjadi hasil adalah nilai *binding affinity* (kcal/mol) ligan terhadap protein. Visualisasi docking antara ligan dan protein menggunakan Program *Ligplot+* dengan lisensi 1 tahun. Media yang digunakan untuk proses docking adalah komputer berspesifikasi Intel Core i7-3770 CPU dengan kecepatan 3.40 GHz 8 cores, resolusi monitor 1920x1080p, VGA NVIDIA GeForce GTX 750, Memori RAM 8 gb, Windows 8 64-bit sebagai sistem operasi. Hasil docking didapatkan bahwa nilai *binding affinity* β karoten terhadap *tirosinase* yaitu -11.2 sedangkan hidrokuinon dengan *tirosinase* yaitu -5.4 dengan RMSD 0. Hasil visualisasi didapatkan bahwa β -karoten lebih banyak mengikat asam amino reseptor daripada hidrokuinon. β -karoten dalam tanaman kelor terbukti secara aktif tidak hanya dalam uji *in vitro* di laboratorium basah, tapi juga aktif *terapeutik* sebagai pemutih secara komputasi pada laboratorium kering.

Kata Kunci : Pemutih, β -karoten, kelor, *docking Molekular*, *Autodock*

ABSTRACT

Hydroquinone has been used in cosmetics because of its whitening activity. In previous studies, β -carotene in Moringa plants was also known as an inhibitor of the tyrosinase enzyme. It is necessary to know how the interaction mechanism of β -carotene with tyrosinase (5M8N) and which compounds between hydroquinone and β -carotene provide computationally better activity as whitening.

Tyrosinase was prepared using Discovery Studio Visualizer. Ligands were prepared using Autodock 4.2. Autodock-Vina is used for ligand docking between proteins. The result is the binding affinity (kcal/mol) of the ligand to protein. Visualization of docking between ligands and proteins using the Ligplot + Program with a 1 year license. Media used for the docking process is a computer with an Intel Core i7-3770 CPU with a speed of 3.40 GHz 8 cores, 1920x1080p resolution,

3

VGA NVIDIA GeForce GTX 750, 8 GB RAM, Windows 8 64-bit. The docking results showed that the binding affinity of β -carotene to tyrosinase was -11.2 while hydroquinone with tyrosinase was -5.4 with RMSD 0. The results of visualization showed that β -carotene binds more amino acid receptors than hydroquinone. β -carotene in moringa has been shown to be active not only in wet laboratories, but also in dry laboratories.

Keywords: Whitening, β -carotene, Moringa, Molecular docking, Autodock

PENDAHULUAN

Untuk menjadi bahan baku pemutih alami, maka dicari senyawa yang berperan aktif terhadap penghambatan enzim *tirosinase*. Tanaman kelor mengandung vitamin C, β -karoten, asam tokoferol, flavonoid, fenolat, asam *hidroksinamit*, karotenoid, derivat, dan flavonoid¹. Kandungan senyawa-senyawa antioksidan tersebut membuat daun kelor bisa dikembangkan sebagai bahan alam untuk pemutih. Bentuk daun kelor disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Daun kelor (2).

Melanin merupakan pigmen warna kulit, yang diproduksi pada sel *melanosit* dan didistribusikan di antara keranosit pada lapisan dasar epidermis kulit. Pembentukan melanin akan lebih

cepat apabila enzim *tirosinase* dalam keadaan aktif, akan tetapi keberadaan dan jumlah melanin pada kulit sangat mempengaruhi warna kulit⁴.

Sintesis melanin dimulai dengan adanya enzim *tirosinase* yang mengoksidasi asam amino *L-Tirosin* diubah membentuk *L-DOPA* oleh enzim *tirosinase* lalu enzim ini melalui reaksi oksidasi mengubah *L-DOPA* menjadi *dopaquinon*. *Dopaquinon* berubah langsung membentuk *dopakrom* dan produk akhirnya adalah melanin. Enzim tersebut dapat dihambat dengan penghambat *tirosinase*, di mana inhibitor ini dikatalis oleh *tirosinase* dan membentuk ikatan kovalen sehingga enzim menjadi tidak aktif selama reaksi *katalitik* berlangsung⁴.

Telah dilakukan penelitian tentang aktivitas *tirosinase* ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Kelor mengandung senyawa flavonoid dan β karoten golongan

senyawa terpen yang merupakan senyawa yang dapat berpotensi untuk menghambat adanya *tirosinase*. Adanya inhibitor akan mengurangi dan menghentikan aktivitas *tirosinase* dalam memproduksi melanin yang nantinya akan mempengaruhi warna kulit.

Docking molekular merupakan metode penelitian yang dilakukan di laboratorium kering menggunakan perangkat komputer untuk menilai ikatan dan kemungkinan apakah senyawa tersebut bisa berikatan dan memberikan aktivitas sebelum diujikan. *Docking* molekul dilakukan untuk melihat senyawa aktif pemutih dalam daun kelor yaitu β -karoten yang mempunyai aktivitas memblok enzim *tirosinase*. *Molecular docking* dapat dilakukan dengan berbagai macam perangkat lunak gratis maupun berbayar. Penelitian ini menggunakan perangkat lunak *Autodock*, untuk *docking* menggunakan program *Vina*, untuk preparasi ligan maupun reseptor menggunakan program *Discovery Studio Visualizer* dan untuk visualisasi hasil menggunakan program *Ligplot+*.

Program *Autodock-Vina*, *Discovery Studio Visualizer* dan

Ligplot+ dipilih karena tidak berbayar (gratis), mudah dioperasikan, akurat, memiliki tingkat error yang rendah dan hasilnya dapat dipercaya³. Metode *Vina* sendiri merupakan salah satu metode yang terdapat di program *Autodock*. Jika dibandingkan dengan program gratis lainnya, *Vina* memiliki keunggulan dalam melakukan *docking* yang cepat dan akurat. Proses *docking* dibutuhkan adanya senyawa pembanding dan senyawa yang kita uji terhadap reseptor yang ada di dalam tubuh.

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah hidrokuinon. Dengan adanya senyawa pembanding-pembanding kita dapat melihat senyawa obat yang kita ujikan apakah benar - benar mempunyai aktivitas sebagai pemutih dalam kosmetik. Percobaan ini bertujuan untuk membandingkan senyawa yang digunakan sebagai pemutih dalam produk kosmetik di pasaran yaitu hidrokuinon dengan senyawa β -karoten yang ada dalam daun Kelor dan untuk mengetahui perbandingan interaksi ligan protein antara β -karoten dengan *tirosinase* dan hidrokuinon dengan *tirosinase* sebagai kontrol

positif senyawa aktif pemutih pada kosmetik.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Perangkat keras yang digunakan yaitu perangkat komputer lengkap dengan spesifikasi prosesor Intel Core i7-3770 CPU kecepatan 3.40 GHz 8 cores, resolusi monitor 1920x1080p, RAM 16 GB, VGA NVIDIA GeForce GTX 750, Windows 8 64-bit. Perangkat lunak yang digunakan adalah *AutoDock 4.2*, *Biovia Discovery Studio Visualizer*, *Ligplot 4.5.3*, *MGL Tools*, *Autodock Vina*, *Command Window*.

Subjek Penelitian

Protein / Reseptor target yang digunakan yaitu *tirosinase* pada manusia. Reseptor / protein ini bisa didapatkan dari www.pdb.org dengan kata kunci PDB 5M8N : *Crystal structure of human tyrosinase related protein 1 in complex with mimosine* yang terdapat pada organisme *homo sapiens* dengan *X-Ray diffraction* yang berada pada resolusi pengukuran adalah 2.60 Å. Nilai R kerja 0.219, nilai R bebas 0.275, dan nilai R pengamatan 0.222 dimana tidak terjadi mutasi.

Gambar reseptor 5M8N disajikan pada Gambar 2.

Ligan yang digunakan adalah β -karoten sebagai senyawa aktif pemutih dan antioksidan pada daun kelor dan hidrokuinon sebagai kontrol positif. Ligan β -karoten disajikan pada Gambar 4.

Pengunduhan Protein dan Ligan

Protein 5M8N diunduh dari www.pdb.org dan disimpan dalam bentuk .pdb. Ligan hidrokuinon dan ligan β -karoten diunduh dari dalam bentuk 3D dan disimpan dalam *file type* .sdf kemudian diubah *file type* nya menjadi .pdb dengan program *Discovery Studio Visualizer* lalu dilakukan *preparasi* pada *Autodock 4.2*⁵. Ligan hidrokuinon disajikan pada Gambar 5.

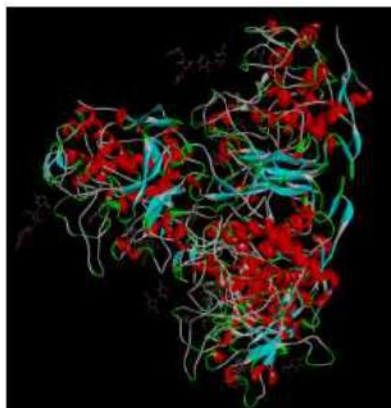
Proses Preparasi Ligan dan Protein

Software *Discovery Studio Visualizer* dipakai untuk menghapus ikatan protein dari ligan yang terikat di dalamnya dan membuang molekul air kemudian disimpan dalam ekstensi .pdb. Berkas reseptor di *preparasi* dengan program *Autodock 4.2* untuk menambah ikatan hidrogen kemudian di gabung lalu diikat dengan ligan untuk selanjutnya dipersiapkan untuk

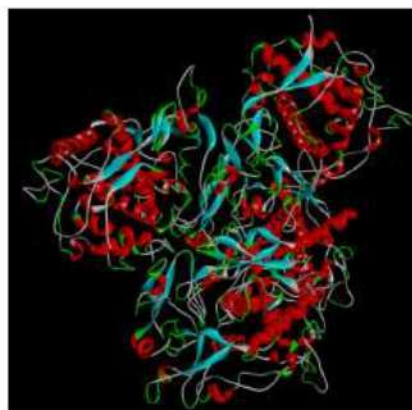
dimasukkan ke dalam *grid box*. Berkas reseptor *tirosinase* 5M8N disajikan pada Gambar 3.

Ligan β -karoten di preparasi dengan program *Autodock 4.2* dengan menambah ikatan hidrogen serta mengubah ikatan aktif menjadi tidak berotasi. Berkas ligan kemudian disimpan dalam bentuk *.pdbqt*.

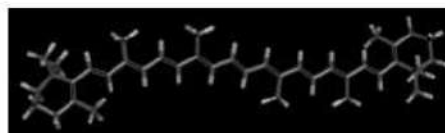
Protein dan ligan diubah menjadi berkas siap pakai berekstensi *.pdb* dengan program *Discovery Studio Visualizer*.



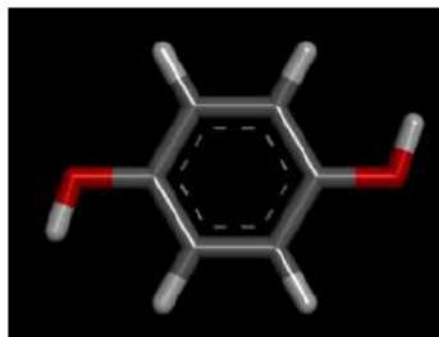
Gambar 2. Tirosinase (kode 5M8N) hasil unduhan dari www.pdb.org sebelum di preparasi



Gambar 3. Tirosinase (5) Setelah dipreparasi (dihilangkan molekul air dan ligan-ligannya).



Gambar 4. Struktur 3D β -karoten (5).

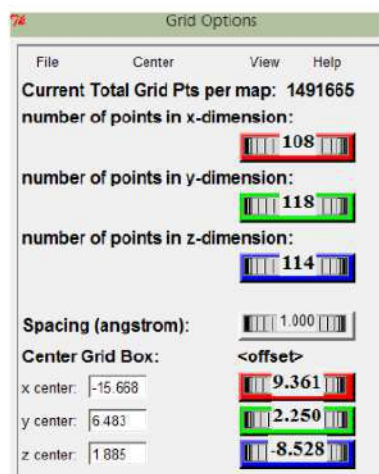


Gambar 5. Struktur 3D hidrokuinon (5).

Validasi Metode *Docking*

Tahapan selanjutnya adalah membuat *grid box* yang menutupi ikatan ligan dengan reseptor sebagai validasi *docking*. Bentuk *grid box*

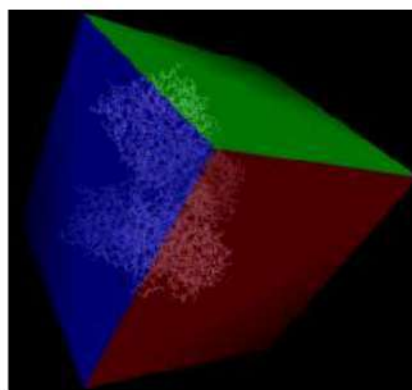
disajikan pada Gambar 7. Data hasil pembuatan *grid box* yang diperoleh berupa *spacing* dalam satuan *angstrom*, ukuran (x,y, dan z) dan nilai *center grid box* (x,y, dan z). Data kemudian disimpan dalam file *config.txt* untuk dasar ketika dijalankan *docking* menggunakan *vina* dan *command window*. Data hasil pembuatan *grid box* disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Data dalam grid box yang digunakan untuk memvalidasi proses docking

Penambatan protein pada ligan digunakan untuk mencari konformasi 3D ligan terhadap reseptor dengan melihat besaran grid box dan pusat massa dari tempat ikatan dalam satuan Angstrom. Nilai konformasi 3D

dinyatakan dengan nilai RMSD. Nilai RMSD itu sendiri adalah kurang dari 5, semakin mendekati 0 akan lebih baik dan dapat diterima.



Gambar 7. Grid Box sebagai validasi ikatan ligan dengan protein.

Docking Molekular dan Analisis Data

Docking ligan dilakukan untuk menghasilkan nilai *binding* energi dalam satuan kkal/mol. Nilai *binding energy* yang semakin baik adalah nilai yang semakin kecil mendekati nilai minus 12. Jika nilai mendekati minus 12, maka kekuatan ikatan secara hitungan bisa terjadi. Data ligan β -karoten yang sudah dikumpulkan dibandingkan dengan data ligan hidrokuinon. Data interaksi protein dengan ligan disajikan dengan menggunakan *Command Window* hasil

docking menggunakan vina atau dengan melihat berkas log.txt. Isi dari berkas log.txt disajikan pada Gambar 8.

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom^3 (See FAQ)
Detected 8 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: 1189426052
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1      -5.4      0.000      0.000
2      -5.2      58.657     59.929
3      -5.1      72.855     72.718
4      -5.1      2.926      3.452
5      -3.8      39.089     60.448
6      -5.8      59.717     59.877
7      -4.8      43.804     43.682
8      -4.8      13.378     14.495
9      -4.8      42.596     43.960

Writing output ... done.
```

Gambar 8. Laporan proses *docking* ligan dengan protein menggunakan Vina dan *Command Window*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Makromolekul protein target *tirosinase* menjadi target ikatan obat dengan reseptor. Ligan dan protein yang telah diunduh kemudian dipreparasi sehingga didapatkan protein tanpa ligan dan air dengan Perangkat lunak *Discovery Studio*. Berkas protein *dipreparasi* dengan program *Autodock 4.2* untuk menambah ikatan hidrogen polar kemudian di merge lalu diikat dengan

ligan untuk selanjutnya dipersiapkan untuk dimasukkan ke dalam *grid box*.

Ligan senyawa pemutih yaitu β -karoten dan hidrokuinon dipreparasi dengan program *Autodock 4.2* dengan menambah ikatan hidrogen serta mengubah ikatan aktif menjadi tidak berotasi. Validasi dengan menggunakan *gridbox* antara ligan dan protein dilakukan setiap *algoritma docking*³. Proses *docking* perlu membuat *gridbox* untuk menentukan nilai koordinat pusat serta besaran *gridbox* tempat interaksi ligan dan protein, sehingga *gridbox* harus menutupi semua ligan dan reseptor. Data *docking* kemudian disajikan dalam berkas config.txt. Nilai dimensi dan pusat massa diperoleh dari hasil pembuatan *gridbox* yang dioptimasi. Nilai Radius 3D dari grid box yang diperoleh disajikan pada Tabel 1. Nilai pusat massa yang diperoleh disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Besaran nilai dimensi *gridbox docking* molekuler

Ligan	X	Y	Z
β -Karoten	94	122	122
Hidrokuinon	106	118	114

Tabel 2. Besaran nilai pusat massa dari ligan

Ligan	X	Y	Z
β-Karoten	-	4,934	-
	11,151		2,818
Hidrokuinon	-	6,377	1,866
	15,377		

Hasil *docking* hidrokuinon dengan *tirosinase* dengan ligan di dalamnya disajikan pada Gambar 9. Hasil *docking* β-karoten dengan *tirosinase* dengan ligan di dalamnya disajikan pada Gambar 11. Dari proses *docking* didapat data bahwa β-karoten memiliki konformasi yang mirip dengan hidrokuinon yang menggunakan algoritma Vina. Sistem *docking* untuk pusat massa dan besaran volume *gridbox* sudah cocok dan valid. Kedekatan konformasi ligan 3D dinyatakan dengan nilai RMSD. Pengukuran dengan kristalografi diketahui bahwa RMSD bernilai di bawah 5. Pengujian sistem *docking* diperlukan sebagai pengujian aktivitas dan memprediksi hasil dan kemiripan interaksi antara β-karoten-*tirosinase* dengan hidrokuinon-*tirosinase*.

Penambatan antara ligan dengan reseptor diketahui kekuatannya dari bentuk ligan yang mempunyai energi terkecil. *Binding affinity* adalah

nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor. Jika semakin besar nilai afinitas ikatan, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin rendah. Semakin kecil nilai afinitas *binding*, maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi.

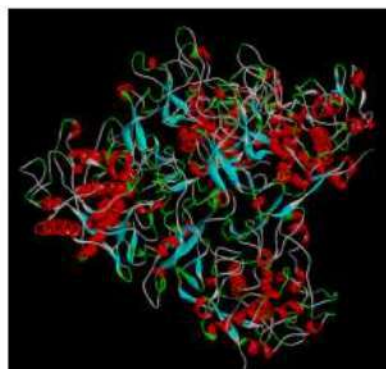
Nilai energi dari *tirosinase* dan β-karoten/hidrokuinon dengan program Autodock – Vina disajikan pada Tabel 3. Senyawa uji yang akan dibandingkan dengan ligan hidrokuinon. Hasil pada Tabel 3, nilai afinitas ikatan β-karoten tidak melebihi hidrokuinon. Sehingga afinitas ikatan antara reseptor *tirosinase* ke senyawa β-karoten cenderung rendah sehingga β-karoten lebih mudah mengikat *tirosinase* untuk menghambat aktivitasnya untuk memproduksi melanin.

Pada proses visualisasi hasil dengan menggunakan program Ligplot+, diketahui bahwa ligan β-karoten ternyata menghasilkan ikatan *hidrofobik* yang mirip dengan ligan hidrokuinon. Interaksi ligan protein β-karoten ditemukan sama dengan ikatan ligan protein hidrokuinon. Hasil visualisasi Ligplot+ juga menunjukkan

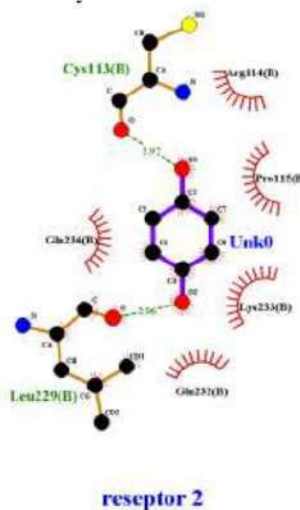
jumlah asam amino yang lebih banyak diikat oleh β -karoten daripada hidrokuinon. Hal tersebut menunjukkan semakin efektif β -karoten dalam berikatan dengan asam amino dalam *tirosinase* di tubuh. Senyawa β -karoten dalam tanaman kelor terbukti secara aktif tidak hanya dalam uji *in vitro* di laboratorium basah, tapi juga aktif *terapeutik* sebagai pemutih secara komputasi pada laboratorium kering. Hasil visualisasi antara hidrokuinon dan *tirosinase* disajikan pada Gambar 10, sedangkan visualisasi antara β -karoten dengan *tirosinase* disajikan pada Gambar 12.

Tabel 3. Nilai *Binding Affinity* antara *tirosinase* dengan β -karoten serta *tirosinase* dengan hidrokuinon

Algoritma	Binding Affinity (kkal/mol)		RMSD	
	β -Karo ten	Hidro k uinon	β -Karo ten	Hidro k uinon
Vina	-11,2	-5,4	0	0



Gambar 9. Hasil docking hidrokuinon dengan *tirosinase* dengan ligan di dalamnya.

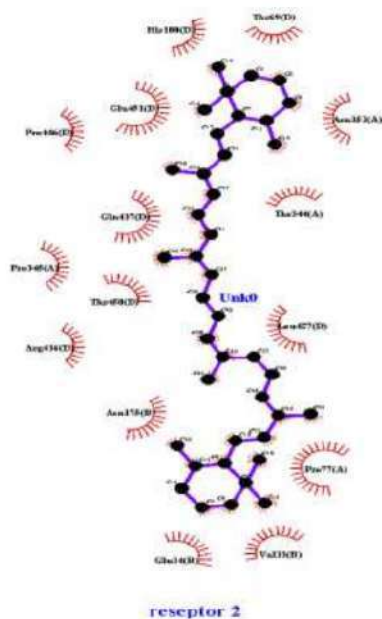


reseptor 2

Gambar 10. Visualisasi docking hidrokuinon dengan *tirosinase* sebagai whitening menggunakan autodock 4.2-Vina.



Gambar 11. Hasil docking β -karoten dengan tirosinase dengan ligan di dalamnya.



Gambar 12. Visualisasi docking β -karoten dengan tirosinase sebagai whitening menggunakan Autodock 4.2-Vina

KESIMPULAN

Berdasarkan uji coba docking di laboratorium kering, senyawa β -karoten mempunyai nilai afinitas ikatan lebih tinggi dibandingkan dengan hidrokuinon. Hal ini menunjukkan bahwa β -karoten lebih *poten* daripada hidrokuinon dalam menghambat aktivitas enzim *tirosinase*. B-karoten dalam tanaman kelor terbukti secara aktif tidak hanya dalam uji *in vitro* di laboratorium basah, tapi juga aktif *terapetik* sebagai pemutih secara komputasi pada laboratorium kering.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kami persembahkan kepada Universitas Ahmad Dahlan selaku fasilitator dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Putra, I., Dharmayudha, A., & Sudimartini, L. 2017. Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera*. L) di Bali. *Indonesia Medicus Veterinus*, 5(5), 464–473.
2. Emantipati.com. Diakses pada tanggal 29 November 2020
3. Trott, O. & Olson, A.J. 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, 31:

- 455-461.
4. Abidin, Z., Khaeriah, U., Zuhriana, Z., Pratama, M., & Baits, M. 2019. Tyrosinase Inhibitor Activity Measurement of Crude and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1).<https://doi.org/10.24198/IJPS.T.VIII.19152>.
5. Pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. Diakses pada 29 November 2020.
6. Luthfiyah Y. & Santoso B. (2014) Pemodelan Tiga Dimensi (3D) Ikatan Hasil Docking Molekular Turunan Diketopiperazin (DKP) Dengan Bcl-2 Pada Sel MCF-7. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta

HASIL CEK DOCKING MOLEKULER SENYAWA B-KAROTEN DALAM TANAMAN KELOR

ORIGINALITY REPORT

15%	16%	2%	6%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	www.scilit.net Internet Source	7%
2	Submitted to Surabaya University Student Paper	6%
3	www.sciencegate.app Internet Source	3%

Exclude quotes	On	Exclude matches	< 2%
Exclude bibliography	On		