

HASIL CEK_Tirosinase, Ipomoea batatas L. Lam, protein (pdb:2Y9X), Docking molekuler, Autodock-4.

by Ryan Syahputra, Dwi Utami, Wahyu Widyaningsih Studi Docking
Molekuler Aktivitas

Submission date: 07-Oct-2023 09:36AM (UTC+0700)

Submission ID: 2188139140

File name: Pharmacon.pdf (639.27K)

Word count: 5562

Character count: 34222

STUDI DOCKING MOLEKULER AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM TIROSINASE UBI JALAR (*Ipomoea batatas* L. Lam)

MOLECULAR DOCKING STUDY OF TYROSINASE ENZYME INHIBITION ACTIVITY OF SWEET POTATOES (*Ipomoea batatas* L. Lam)

Ryan Syahputra¹, Dwi Utami^{2*}, Wahyu Widyaningsih³

¹Program Studi Magister Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H. Janturan, Yogyakarta, Indonesia

²Departemen Kimia Analisis dan Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H. Janturan, Yogyakarta, Indonesia

³Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H. Janturan, Yogyakarta, Indonesia

*E-mail: dwi.utami@pharm.uad.ac.id

Received: 15 Mei 2022; Accepted: 24 Juni 2022; Published: 25 Juni 2022

Abstrak

Tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas* L. Lam) merupakan tanaman sumber karbohidrat dengan kandungan kimia seperti katekin, kuersetin, asam klorogenat, antosianin, beta-karoten. Senyawa fitokimia tersebut telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang berhubungan erat dengan tirosinase melalui jalur stress oksidatif. Tujuan dari penelitian ini untuk mengembangkan tanaman ubi jalar sebagai kandidat anti-tirosinase untuk sediaan kosmetika, dengan pendekatan docking molekuler 5 senyawa tersebut terhadap protein tirosinase (pdb:2Y9X) dengan kontrol asam kojat. Penelitian dilakukan dalam 3 tahap meliputi: (1) Preparasi protein (reseptor) dan ligan dengan Biovia Discovery Studio (2) Optimasi geometri dengan Avogadro dan Chem 3D (3) Validasi metode docking dan docking molekuler terhadap protein (2Y9X) dengan Autodock-4 dan (4) Studi ADMET dengan website pkCSM dan SwissADME. Hasil uji diperoleh afinitas tertinggi pada 2 senyawa aktif yakni beta-karoten dengan (ΔG) -6,05 kcal/mol (IC) 36,72 μ M dan kuersetin memiliki (ΔG) -5,87 kcal/mol (IC) 45,30 μ M. Sedangkan kontrol asam kojat memiliki afinitas yang lebih rendah sebesar (ΔG) -5,27 kcal/mol (IC) 380,37 μ M. Prediksi ADMET memberikan informasi bahwa keempat senyawa aktif *Ipomoea batatas* L. Lam tersebut memenuhi persyaratan untuk dikembangkan sebagai inhibitor alami tirosinase berdasarkan lipofilisitas (logP), topology polar surface area (TPSA), permeabilitas kulit, sensitifitas kulit, logKP, inhibitor CYP1A2, aturan Lipinski dan bioavailabilitas. Hasil kajian docking molekuler dan prediksi ADMET menunjukkan bahwa senyawa aktif ubi jalar (*Ipomoea batatas* L. Lam) berpotensi untuk dikembangkan sebagai kosmetika bahan alami.

Kata Kunci: Tirosinase, *Ipomoea batatas* L. Lam, protein (pdb:2Y9X), Docking molekuler, Autodock-4.

Abstract

Sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) is a plant source of carbohydrates with chemical content of catechins, quercetin, asam klorogenat, anthocyanins, beta-carotene. These phytochemical compounds have been shown to have antioxidant activity that is closely related to tyrosinase through the oxidative stress pathway. The purpose of this study was to develop sweet potato plants as anti-tyrosinase candidates for cosmetic preparations by molecular docking of these 4 compounds to tyrosinase protein (pdb:2Y9X) with kojic acid control. The research was done in 4 stages: (1) Preparation of proteins (receptors) and ligands with Biovia Discovery Studio (2) Optimization of geometry with Avogadro and Chem 3D (3) Validation of docking and molecular docking methods for proteins (2Y9X) with Autodock-4 (5) and (4) ADMET study with pkCSM and SwissADME websites. The test results obtained the highest affinity for 3 active compounds, namely beta-carotene with (ΔG) -6.05 kcal/mol (IC) 36.72 M and quercetin has (ΔG) -5.87 kcal/mol (IC) 45.30 M. While the control kojic acid has a lower affinity of (ΔG) -5.27 kcal/mol (IC) 380.37 M. ADMET predictions provide information that the four active compounds *Ipomoea batatas* L. Lam meet the requirements to be developed as natural tyrosinase inhibitors based on lipophilicity (logP), topology polar surface area (TPSA), skin permeability, skin sensitivity, logKP, CYP1A2 inhibitor, lipinski rule. and bioavailability. The molecular docking study and ADMET prediction indicate that the active compound of sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) has the potential to be developed as a natural cosmetic ingredient.

Keywords: Tyrosinase, *Ipomoea batatas* L. Lam, protein (pdb:2Y9X), Molecular docking, Autodock-4.

PENDAHULUAN

Dalam pengembangan kosmetika alami, beberapa tumbuhan telah terbukti berpotensi menunda proses penuaan dan pigmentasi kulit (Masaki, 2010) dengan melawan ROS dan melindungi kulit dari UV (Mukherjee et al., 2011). Ubi jalar merupakan salah satu sumber tanaman dengan komponen pro-vitamin A terpenting dalam makanan yang kaya karotenoid (Eluagu Ester et al., 2010). Ubi jalar (*Ipomoea batatas* L.Lam) memiliki nilai gizi tinggi dan memiliki tekstur yang menarik dalam hal daging, warna, dan rasa. *Ipomoea batatas* L. Lam digunakan sebagai pangan fungsional di banyak negara dengan kandungan utama katekin, kuersetin, asam klorogenat (Zengin et al., 2017), antosianin (S Islam, 2016), dan beta-karoten (Mohanraj & Sivasankar, 2014). Senyawa-senyawa tersebut telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang baik (Lourenco et al, 2019). Aktivitas antioksidan melalui penghambatan stress oksidatif berkorelasi erat dengan penghambatan enzim tirosinase (Zolghadri et al, 2019).

Tirosinase merupakan enzim yang bertanggung jawab pada proses pigmentasi kulit. Enzim ini terdistribusi luas di organisme yang berbeda dan memainkan peran penting dalam melanogenesis dan penggelapan enzimatik pada kulit (Zolghadri et al., 2019). Tirosinase mengkatalis langkah pertama dalam dua reaksi sintesis melanin, yaitu hidrosilasi L-tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon yang merupakan senyawa reaktif yang dapat mengalami polarisasi secara spontan membentuk melanin (Nguyen et al., 2016). Hiperpigmentasi merupakan gangguan pada pigmen kulit yang disebabkan oleh peningkatan proses melanogenesis sehingga menyebabkan penggelapan warna pada kulit (Jiang et al., 2017). Melanin merupakan senyawa yang bertanggung jawab untuk pigmentasi kulit, mata dan rambut (Lai et al., 2017). Dalam pengembangan kosmetika, salah satu cara untuk mencegah atau

menghambat pembentukan melanin adalah dengan melakukan penghambatan aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam pembentukan pigmen kulit atau dikenal dengan proses melanogenesis (Woolery-Lloyd & Kammer, 2011).

Dalam penelitian ini dilakukan studi komputasi *docking* molekular dan prediksi ADMET (Adsorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas) sebagai pendahuluan untuk pengujian aktivitas farmakologi lebih lanjut. Studi komputasi dapat dijadikan sebagai pijakan dasar potensi senyawa aktif terhadap reseptor yang terlibat dalam efek farmakologi yang dituju (Pinzi & Rastelli, 2019). Hasil dari studi komputasi ini merupakan bagian dari dasar ilmiah pengembangan tanaman ubi jalar sebagai kandidat sediaan kosmetika mendukung uji farmakologi dan formulasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat komputer dengan spesifikasi ASUS X441B CPU : AMD Dual Core (A6-9225, up to 3.0 GHz) Memori RAM : 4GB. *Software* (Perangkat lunak) Autodock 4.2.3 from Script Research Institute, Biovia Discovey Studio (BDS), Avogadro, Pymol, website SwissADME dan pKCSM dan *software* Chem office 2010.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur kristal PPO3, sebuah tirosinase dari *Agaricus bisporus* dalam bentuk deoksi yang mengandung sub unit mirip seperti lektin dengan inhibitor tropolone (pdb:2Y9X) yang diperoleh dari <http://rcsb.org/pdb/>. Struktur beta-karoten, kuersetin, katekin, antosianin, asam klorogenat dan kontrol asam kojat dalam bentuk 3D diperoleh dari <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

Preparasi Protein dan Native Ligan

Data struktur 3D kristal reseptor yang digunakan untuk analisis molekuler *docking* diperoleh dari protein data bank (PDB) pada situs <http://rcsb.org/pdb/>. Reseptor yang

digunakan adalah struktur kristal tirosinase dari *Agaricus bisporus* dengan inhibitor tropolone pada sisi aktif protein. Reseptor berupa makromolekul dipisahkan dari molekul lain seperti molekul air dan ligan alaminya. Proses preparasi *native* ligan pada protein tirosinase dengan cara ligan dipisahkan dari beberapa molekul lain seperti molekul air, ko-faktor dan reseptornya. Pemisahan dilakukan menggunakan *software* Biovia Discovery Studio.

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* molekuler dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan *native* ligan alami dari protein tirosinase. Pembuatan *grid box* pada proses ini bertujuan untuk mendapatkan koordinat dari *native* ligan yang nantinya akan digunakan sebagai koordinat ligan uji. Proses validasi tersebut akan memberikan hasil yang lebih mendekati hasil eksperimental jika memiliki nilai RMSD kurang dari 3 Å (Jain & Nicholls, 2008). Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan posisi ligan hasil *redocking* akan mendekati posisi ligan hasil kristalografi (Kontoyianni et al., 2004).

Preparasi Ligan Uji

Struktur ligan uji dibangun dengan menggunakan *software* Chem Draw Ultra. Selanjutnya dilakukan optimasi geometri menggunakan *software* Avogadro dengan penambahan atom hidrogen pada struktur ligan uji dan kemudian dilakukan minimalisasi energi menggunakan metode MM2 pada *software* Chem 3D yang bertujuan untuk memperoleh struktur yang lebih stabil. Hasil optimasi tersebut kemudian dikonversi menjadi file PDB untuk dapat digunakan dalam proses *docking* molekuler pada *software* Autodock-4.

Docking Molekuler Ligan Uji Terhadap Protein

Pengaturan parameter *grid box* dilakukan menggunakan Autodock-4. Koordinat X,Y,Z pada *grid box* ditentukan berdasarkan koordinat *native* ligan ko-kristal dari file reseptor yang digunakan pada saat validasi, kemudian dilakukan proses penambatan antara ligan uji dan reseptor menggunakan Autodock-4.

Analisis dan Visualisasi Hasil Docking Molekuler

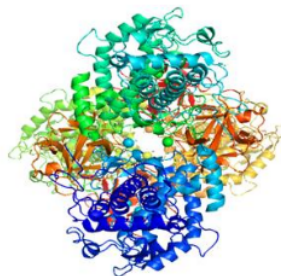
Penentuan konformasi ligan hasil *docking* (pose terbaik) dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan paling rendah. Hasil *docking* dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan Biovia Discovery Studio. Parameter yang dianalisis meliputi besar binding energy (ΔG), konstanta inhibisi (IC), residu asam amino dan jumlah interaksi ikatan yang terbentuk. *Software* Biovia Discovery Studio kemudian digunakan untuk visualisasi hasil dari penambatan senyawa uji terhadap protein dengan melihat adanya ikatan yang terjadi antara ligan dan protein secara 2D dan 3D *software* Pymol untuk melihat *surface* area ligan uji dalam protein.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Hasil Docking Molekuler

Docking molekuler merupakan suatu interaksi penambatan antara ligan dan protein yang digunakan untuk memprediksi posisi dan orientasi ligan ketika terikat pada reseptor protein. Interaksi terbaik adalah interaksi yang memiliki energi paling rendah (Girija et al., 2010).

Gambar 1 menunjukkan struktur kristal protein tirosinase yang telah melalui proses preparasi penghilangan molekul air, ko-faktor dan beberapa *native* ligan.



Gambar 1. Struktur kristal PPO3 tirosinase (2Y9X)

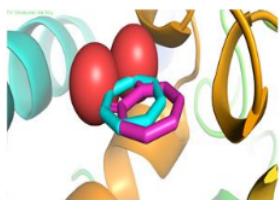
Struktur kristal tirosinase dari *Agaricus bisporus* dengan resolusi 2,3 Å merupakan struktur kompleks pertama tirosinase dari jamur yang terdiri dari dua subunit H terdiri dari 392 residu dan dua subunit L terdiri dari

Tabel 1. Ukuran *grid box* koordinat X,Y,Z *native* ligan pada protein tirosinase sebagai parameter validasi metode *docking* molekuler ligan uji pada Autodock

Native Ligand	Number Grid Point			Coordinat Grid Point			Spasing Grid Point	RMSI
	X	Y	Z	X	Y	Z		
OTR	40	40	40	22,548	2,483	-93,071	0,375	0,99 Å

150 residu. Subunit H berasal dari gen PPO3 dan memiliki lipatan yang mirip dengan tirosinase lainnya, tetapi 100 residunya lebih besar. Subunit L memiliki lipatan seperti lekti² (Ismaya et al., 2011).

Validasi proses *docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan Autodock-4 pada sisi aktif dari ligan *co-crystal* yaitu (OTR) yang merupakan ligan hasil kristalografi. Pada pembuatan *grid box* dengan besaran sumbu X,Y,Z yang dibuat adalah (40,40,40) dengan koordinat (22,548, 2,483, -93,071) dan *grid point spacing* 0,375 Å seperti ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil *redocking* menunjukkan nilai RMSD adalah 0,99 Å < 3 yang menunjukkan bahwa konformasi dari ligan hasil *redocking* tidak berbeda jauh dengan hasil kristalografi seperti pada Gambar 2. Visualisasi struktur *native* ligan (OTR), katekin, kuersetin, beta-karoten, antosianin, asam klorogenat dan asam kojat, dalam bentuk 2D dibangun menggunakan *software* Chem Draw Ultra.

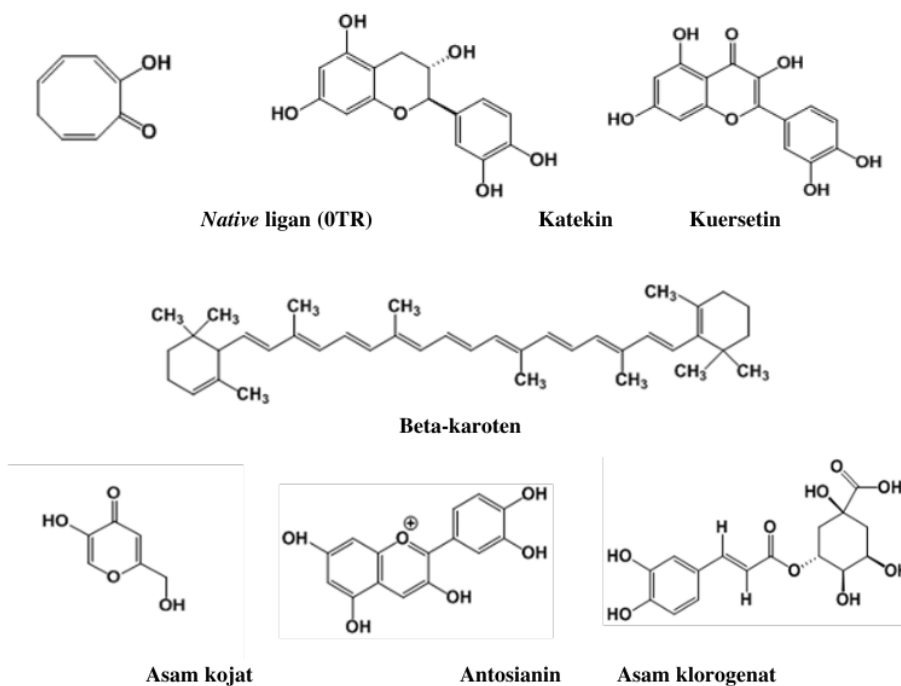


Gambar 2. Hasil validasi *redocking* antara *native* ligan dan protein tirosinase

Optimasi geometri dilakukan terhadap struktur senyawa uji menggunakan *software* Avogadro dan minimisasi energi menggunakan *software* Chem 3D dengan metode (MM2) yang bertujuan untuk mendapatkan konformasi struktur molekul yang lebih baik dan stabil seperti pada Gambar 3.

Hasil pengamatan *docking* molekuler antara senyawa yang terkandung dalam *Ipomoea batatas* L. Lam dan enzim tirosinase menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki afinitas *binding energy* (ΔG) dan konstanta inhibisi (IC) lebih tinggi yang diperoleh dari penambatan terhadap struktur kristal protein tirosinase dari *Agaricus bisporus* (pdb:2Y9X) berdasarkan genetika algoritma (GA) dengan 100 jumlah konformasi yang dilakukan sehingga didapatkan model konformasi terbaik (*lowest energy*) bila dibandingkan dengan *native* ligan 2-Hydroxycyclohepta-2,4,6-Trien-1-One (OTR) dan kontrol asam kojat yang masing-masing memiliki afinitas *binding energy* (ΔG) -5,00 kcal/mol dan -5,27 kcal/mol. Kelima senyawa tersebut mengikat banyak residu asam amino seperti His61, His85, His263, Cys83, Val283, Met280, Ala286 dan Phe264 yang selalu ada pada setiap interaksi dengan protein tirosinase yang ditandai terbentuknya ikatan hidrogen, hidrofobik dan elektrostatik seperti pada seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2, yang memungkinkan penggunaan ubi jalar sebagai inhibitor alami enzim tirosinase sudah cukup baik.

Hasil *docking* molekuler antara beta-karoten dan tirosinase memberikan *binding energy* sebesar (ΔG) -6,05 kcal/mol dan (IC) 36,72 μM . Hal ini menunjukkan bahwa afinitas beta karoten terhadap tirosinase lebih kuat dibandingkan dengan *native* ligan dan asam kojat. Akan tetapi, penambatan tersebut tidak menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terbentuk dimana beta-karoten membentuk interaksi hidrofobik dengan banyak residu melalui ikatan π -sigma pada residu His85 dan ikatan π -alkyl pada residu



Gambar 3. Struktur senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam katekin, kuersetin, beta-karoten, antosianin, asam klorogenat (Zenginet al., 2017), native ligan 2-Hydroxycyclohepta-2,4,6-Trien-1-One(0TR), asam kojat (Pubchem)

Phe90, Phe264, His244, His259, His263, Val283, Pro277.

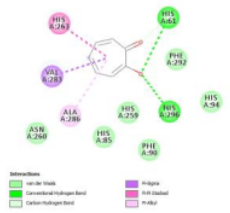
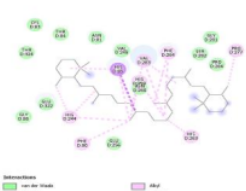
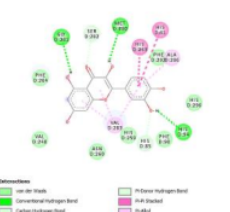
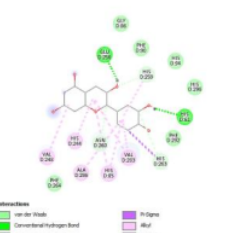
Selain beta-karoten, hasil penambatan senyawa kuersetin terhadap tirosinase menunjukkan pengikatan yang baik terhadap residu asam amino pada pada sisi aktif protein yang ditandai dengan terbentuknya ikatan hidrogen pada residu His94, Met280, Gly281 menunjukkan afinitas kuersetin yang baik terhadap protein tirosinase. Selain ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik juga terbentuk melalui ikatan π -stacked dan π -alkyl pada residu His61, His263, Val283, Ala286 dan ikatan karbon-hidrogen pada residu His85, Ser282. Hal tersebut dikarenakan kuersetin mempunyai afinitas *binding energy* (ΔG) -5,87 kcal/mol dan (IC) 45,30 μM yang secara afinitas kuersetin lebih baik jika dibandingkan dengan *native ligan* dan asam kojat.

Ipomoea batatas L. Lam memiliki beberapa senyawa seperti katekin yang

mempunyai aktivitas inhibisi melalui aktivitas monofenolase dari tirosinase menunjukkan pengikatan senyawa ini cukup baik dengan afinitas (ΔG) -5,77 kcal/mol dan (IC) 59,38 μM apabila dibandingkan dengan *native ligan* dan asam kojat. Interaksi yang terjadi melalui terbentuknya ikatan hidrogen pada residu His61. Selain itu, interaksi hidrofobik juga terbentuk melalui ikatan π -sigma pada residu His263, ikatan π -alkyl pada residu Val248, His85, His244, Val283, Ala286 dan ikatan karbon-hidrogen pada residu His259, His263, Asn260.

Antosianin merupakan kelompok utama senyawa polifenol yang telah terbukti memiliki beberapa sifat terapeutik dan fisiologis yang berharga sebagai agen antineoplastik agen penangkal radiasi (M. S. Islam et al., 2005).

Tabel 2. Analisis hasil *docking* molekuler antara *native* ligan, senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam dan asam kojat(kontrol) terhadap protein tirosinase

No.	Senyawa /Ligan	Afinitas Energi (ΔG) (Kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (IC) (μM)	Residu Asam Amino	Interaksi Ikatan
1.	Native Ligan (OTR)	-5,00	214,89	HIS263, HIS61, HIS296 VAL283, ALA286	 <p>Ikatan hidrogen : 2</p>
2.	Beta-karoten	-6,05	36,72	HIS85, VAL283, HIS259, HIS244, HIS263, PHE90, PHE264, PRO277	 <p>Ikatan hidrogen : 0</p>
3.	Kuersetin	-5,87	45,30	SER282, HIS61, HIS85, HIS263 HIS94, MET280, GLY281, VAL283, ALA286	 <p>Ikatan hidrogen : 3</p>
4.	Katekin	-5,77	59,38	VAL248, VAL283, HIS61, HIS85, HIS244, HIS259, HIS263, ALA286, GLU256	 <p>Ikatan hidrogen : 2</p>

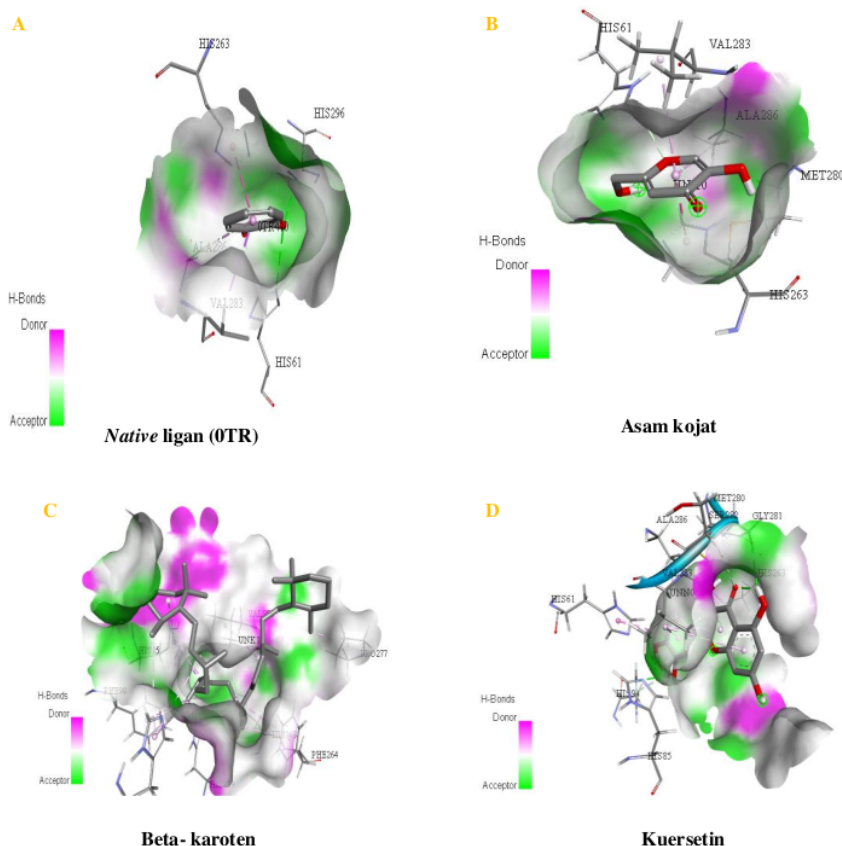
Tabel 2 (lanjutan). Analisis hasil *docking* molekuler antara *native* ligan, senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam dan asam kojat(kontrol) terhadap protein tirosinase

No.	Senyawa /Ligan	Afinitas Energi (ΔG) (Kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (IC) (μM)	Residu Asam Amino	Interaksi Ikatan
5.	Antosianin	-5,70	66,55	HIS85, HIS244, VAL283, ASN81, ASN260, CYS83	<p>Ikatan hidrogen : 4</p>
6.	Asam klorogenat	-6,05	36,90	CYS83, HIS85, HIS244, HIS263, ASN81, GLU256, MET280, PHE264, VAL283	<p>Ikatan hidrogen : 9</p>
7.	Asam Kojat (Kontrol)	-5,27	380,37	HIS263, HIS61, VAL283, ALA286, MET280	<p>Ikatan hidrogen : 1</p>

Aktivitas antosianin melalui penghilangan spesies oksigen reaktif (ROS) produksi dan kerusakan DNA yang dihasilkan yang bertanggung jawab untuk aktivasi p53 disinari UV-B (Bae et al., 2009). Hasil *docking* molekuler antosianin menunjukkan afinitas dari senyawa ini terhadap tirosinase adalah (ΔG) -5,70 kcal/mol dan (IC) 66,55 μM yang kemudian ditandai dengan terbentuknya ikatan hidrogen pada residu His85, Asn81, Asn260 dan Cys83. Selain itu, penambatan pada antosianin terhadap tirosinase juga terjadi interaksi hidrofobik dengan

terbentuknya ikatan π -alkyl pada residu His244 dan Val283. Hal ini memungkinkan antosianin memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan *native* ligan dan asam kojat.

Hasil *docking* molekuler asam klorogenat menunjukkan afinitas yang baik dengan afinitas *binding energy* (ΔG) -6,05 kcal/mol dan (IC) 36,90 μM apabila dibandingkan dengan *native* ligan dan asam kojat. Interaksi yang terbentuk melalui ikatan hidrogen pada residu Asn81, His85, Cys83, Glu256, His244, Met280. Selain interaksi ikatan hidrogen,



Gambar 4. Visualisasi analisis hasil *docking* molekuler antara *native* ligan dan protein tirosinase berdasarkan *surface area* ikatan hidrogen senyawa (A) *native* ligan, (B) asam kojat, (C) beta-karoten dan (D) kuersetin

interaksi hidrofobik juga terbentuk terbentuk melalui ikatan π -alkyl pada residu His85, Val283, Phe264, His263.

Hasil pengamatan *docking* molekuler antara senyawa asam kojat dan protein tirosinase menunjukkan nilai afinitas binding energy (ΔG) -5,27 kcal/mol dan (IC) 380,37 μ M. Dengan demikian menunjukkan pengikatan yang cukup baik terhadap protein jika dibandingkan dengan *native* ligan tirosinase. Interaksi asam kojat pada sisi aktif protein membentuk ikatan hidrogen pada residu Met280 seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2. Interaksi hidrofobik juga terbentuk di sisi aktif protein pada residu Val283 melalui ikatan π -sigma, ikatan π -stacked dan π -alkyl

terbentuk pada residu His263 dan Ala286 dan ikatan karbon-hidrogen terbentuk pada residu His61.

Visualisasi Hasil *Docking* Molekuler

Protein tirosinase (2Y9X) memiliki subunit H dari AbTYR mengandung situs tembaga *binuclear* dengan setiap ion tembaga dikoordinasikan oleh residu histidin, His263 dan His61. Analisis hasil *docking* molekuler antara *native* ligan dan protein tirosinase, seperti pada Tabel 2 memiliki nilai afinitas *binding energy* (ΔG) -5,00 kcal/mol dan (IC) 214,89 μ M yang menunjukkan bahwa pengikatan yang cukup baik dengan tirosinase. Pengamat⁵ yang dilakukan terhadap senyawa 2-Hydroxycyclohepta-

2,4,6-Trien-1-One (OTR) berdasarkan surface area pada binding pocket disisi aktif protein menunjukkan kemampuannya dalam menembus sel cukup baik. Selanjutnya akan membentuk interaksi ikatan hidrogen pada residu His61 dan His296, interaksi hidrofobik pada residu Val283 melalui ikatan π -sigma yang merupakan jenis ikatan kovalen paling kuat. Nilai afinitas (ΔG) mempengaruhi interaksi *native* ligan terhadap tirosinase sehingga memiliki jarak antar-atom pada interaksi ikatan hidrogen 2,8 Å, 3,1 Å. Residu Val283 dan His263 memiliki interaksi aromatik *edge-to-face* dengan rantai samping protein (Ismaya et al., 2011). Ikatan π -sigma terbentuk karena adanya tumpang tindih pada orbital-orbital atom. Ikatan lain yang terbentuk pada residu His263, Ala286 berupa ikatan π -stacked dan π -alkyl.

Senyawa 2-Hydroxycyclohepta-2,4,6-Trien-1-One (OTR) memiliki interaksi pada residu His61 melalui ikatan karbon-hidrogen yang merupakan jenis ikatan yang lemah seperti pada Gambar 4a. Kedua ikatan hidrogen pada *native* ligan ini terbentuk pada atom (O) yang terjadi akibat adanya proses transfer donor-aseptor elektron pada sisi aktif protein meskipun interaksi ikatannya dikategorikan sebagai ikatan yang lemah.

Asam kojat merupakan senyawa yang dapat mengurangi hiperpigmentasi dengan cara menghambat aktivitas tirosinase, tirosin hidroksilase, DOPA oksidase, *copper chelation* dan juga sebagai antioksidan dengan potensial yang memiliki struktur sangat baik karena aktivitas biologisnya yang luas (Saeedi et al., 2019). Dalam beberapa penelitian yang dilakukan untuk menemukan senyawa baru inhibitor tirosinase, asam kojat sering digunakan sebagai kontrol untuk membandingkan kekuatan inhibisinya (Chang, 2012). Analisis hasil pengamatan yang dilakukan, berdasarkan *surface area* menunjukkan bahwa asam kojat disimpan dalam kantong yang mirip dengan *native* ligan pada sisi aktif protein tirosinase di area yang bersifat polar seperti pada Gambar 4b yang menunjukkan interaksi asam kojat pada sisi aktif protein membentuk ikatan hidrogen pada residu Met280. Hal ini telah dijelaskan

pada penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa residu tersebut bertanggung jawab terhadap pembentukan ikatan hidrogen pada tirosinase (Fan et al., 2017). Interaksi ikatan hidrogen antara asam kojat dan tirosinase dengan jarak ikatan 2,2 Å, 2,8 Å, 3,0-3,5 Å, yang dikategorikan berdasarkan jarak antar-atom seperti pada. Selain ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik juga terbentuk di sisi aktif protein pada residu Val283 melalui ikatan π -sigma, ikatan π -stacked dan π -alkyl terbentuk pada residu His263 dan Ala286 dan ikatan karbon-hidrogen terbentuk pada residu His61 yang diukur berdasarkan transfer donor-aseptor yang terjadi antara asam kojat dan tirosinase.

Beta-karoten merupakan senyawa hidrokarbon tetraterpena turunan dari isoprena yang memiliki rantai karbon berjumlah 40 dan bersifat non-polar (Zeb & Murkovic, 2013). Dalam tubuh manusia, beta-karoten mendukung komunikasi antar sel, menghambat proliferasi sel dan memodulasi diferensiasinya hal ini juga memperkuat sistem kekebalan, antara lain dengan mengaktifkan interferon, bagian dari beta-karoten yang disimpan dalam jaringan lemak berperan sebagai bentuk stok vitamin A dan jika terjadi defisiensi dapat dipecah menjadi vitamin ini (Rutkowski & Grzegorzcyk, 2012). Hasil pengamatan *docking* molekuler antara beta-karoten dan menunjukkan bahwa afinitas yang kuat terhadap tirosinase jika dibandingkan dengan *native* ligan dan asam kojat. Analisis hasil berdasarkan *surface area* pada *binding pocket* menunjukkan beta-karoten berada di area non-polar pada sisi aktif protein. Pada penelitian sebelumnya dengan menggunakan protein tirosinase menunjukkan bahwa residu asam amino His259, His263, Phe264 berperan dalam interaksi ikatan kovalen dan non-kovalen (Xin et al., 2021). Meskipun demikian, tetap memungkinkan beta-karoten dapat dijadikan sebagai kandidat inhibitor alami pengganti asam kojat terhadap tirosinase. Penambatan antara beta-karoten dan tirosinase menunjukkan residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk dua ikatan sekaligus pada residu

His85 yang membentuk ikatan π -sigma dan π -alkyl yang merupakan ikatan paling kuat yang dapat meningkatkan energi bebas dan menstabilkan molekul air sehingga tidak terjadi kontak pada daerah non-polar dikarenakan hidrofobisitas yang tinggi dari beta-karoten seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4c.

Kuersetin merupakan golongan senyawa flavonoid, dapat menghambat aktivitas monofenolase dan difenolase dari tirosinase, penghambatannya terhadap aktivitas difenolase secara reversibel dan kompetitif (Fan et al., 2017). Visualisasi hasil *docking* molekuler kuersetin berdasarkan *surface area* seperti pada yang menunjukkan kemampuannya untuk masuk kedalam sel cukup baik dikarenakan kuersetin tersimpan pada *binding pocket* yang sama seperti *native* ligan pada sisi aktif protein tirosinase. Berbeda dengan asam kojat, ikatan hidrogen kuersetin juga terbentuk pada residu Gly281 dan His94. Jarak interaksi ikatan hidrogen yang terjadi antara kuersetin dan tirosinase adalah 2,2-2,8 Å, 2,9-3,1 Å dikategorikan berdasarkan jarak antar-atom pada donor-aseptor. Jarak interaksi ikatan hidrogen diukur berdasarkan potensial ionisasinya yang merupakan energi yang diperlukan untuk melepaskan elektron dari orbital molekul terisi yang paling tinggi, sehingga terjadi transfer donor-aseptor elektron antara kuersetin dan tirosinase seperti pada Gambar 4d.

Analisis Parameter ADMET hasil *docking* molekuler

Pembahasan prediksi ADMET merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh (Huang et al., 2019). *In silico* adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan pendekatan toksisitas (ADMET) meningkatkan peluang proses penemuan obat dengan memprediksi berbagai sifat farmakokinetik senyawa bioaktif. Analisis farmakokinetika ADMET umumnya dimulai dengan identifikasi kemudian berlanjut melalui tahap pengoptimalan prospek, pemilihan, dan pengembangan. Sebagian besar hasil dari program pengembangan obat telah ditentukan sebelumnya pada titik pemilihan kandidat.

rentang fenomena yang dipelajari harus sangat komprehensif dan bahkan satu parameter saja mungkin bertanggung jawab atas kegagalan obat (Singh, 2006). Hasil prediksi ADMET menunjukkan bahwa senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam cukup baik sebagai kandidat inhibitor alami tirosinase berdasarkan lipofilitas (logP), *topologi polar surface area* (TPSA), permeabilitas kulit, sensitifitas kulit, logKP, inhibitor CYP1A2, aturan lipinski dan bioavailabilitas. Beta-carotene secara aturan Lipinski tidak memenuhi syarat dikarenakan berat molekulnya >500 serta tidak memiliki (TPSA) dikarenakan sifatnya sangat non-polar dan asam klorogenat memiliki *rotatable bonds* >5.

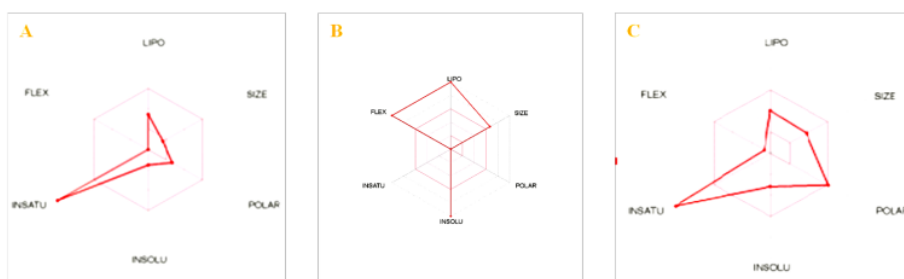
Afinitas kedua senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam seperti beta-karoten dan kuersetin mempengaruhi interaksinya terhadap tirosinase, interaksi tersebut melalui proses transfer donor-aseptor pada atom (H) sehingga pengikatannya terjadi secara terus menerus. Secara bioavailabilitas, kuersetin memiliki bioavailabilitas yang sama seperti kontrol asam kojat yaitu 0,55. Berbeda dengan beta-karoten yang memiliki bioavailabilitas cukup rendah yaitu 0,17 seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3. Akan tetapi, hal tersebut masih dapat diterima dengan melihat parameter yang lain.

Analisis prediksi ADMET dari kelima senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam menunjukkan bahwa salah satu senyawanya memiliki efek penghambatan pada sitokrom CYP1A2 yaitu senyawa kuersetin. Selain itu, nilai logKp senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam seperti beta-karoten dan kuersetin lebih baik jika dibandingkan dengan kontrol asam kojat menunjukkan bahwa kedua tersebut memiliki permeabilitas yang lebih baik pada kulit sehingga dapat dengan mudah menembus jaringan kulit dan tidak menyebabkan iritasi ketika dibuat menjadi sediaan topikal sesuai dengan aturan Lipinski tentang obat-obatan.

Dalam kimia medisinal ADMET digunakan untuk menganalisis kemampuan obat untuk masuk kedalam sel. Senyawa-senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam menunjukkan afinitas yang cukup baik, tetapi

Tabel 3. Prediksi parameter ADMET senyawa *Ipomea batatas* L. Lam dan kontrol asam kojat hasil docking molekuler

ADMET Parameter	Beta-Karoten	Kuersetin	Katekin	Antosianin	Asam klorogenat	Asam kojat (Kontrol)
Log P	8,31	1,98	-0,84	-0,84	-2,45	-0,16
TPSA (Å ²)	-	131,36	110,38	110,38	171,07	70,67
Log S	-6,13	-2,96	-2,93	-3,48	-1,94	-1,17
Num.Rotatable Bonds	19	1	1	1	6	1
Num.H-bond acceptors	-	7	6	6	9	4
Num.H-bond donors	-	5	5	5	8	2
Skin Permeability	-2,73	-2,73	-3,35	-3,21	-2,75	-3,12
Skin Sensitisation	No	No	No	No	No	No
Log Kp (cm/s)	-7,62	-7,05	-8,78	-8,78	-10,35	-7,62
CYP1A2 Inhibition	No	Yes	No	No	No	No
Lipinski Rules	MW >500 MLOGP >4.15	Yes	Yes	Yes	NH or OH >5	Yes
Bioavailabilitas score	0,17	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55



Gambar 5. Visualisasi radar bioavailabilitas senyawa (A) Asam kojat dan senyawa *Ipomea batatas* L. Lam (B) Beta-karoten (C) Kuersetin

dua diantaranya seperti beta-karoten dan kuersetin, memiliki bioaktivitas yang tinggi dibandingkan dengan *native* ligan dan asam kojat. Radar bioavailabilitas dari kedua senyawa dianalisis secara intuitif, terdapat area merah muda menunjukkan kisaran optimal enam sifat yaitu lipofilisitas, ukuran,

polaritas, ketidaklarutan, insaturasi dan fleksibilitas. Beta-karoten menunjukkan fleksibilitas dan lipofilisitas yang tinggi, tetapi memiliki polaritas yang sangat rendah, akan tetapi sifat farmakokinetik dari beta-karoten masih dapat diterima untuk penggunaan topikal.

Senyawa kuersetin menunjukkan sifat polaritas yang lebih baik jika dibandingkan dengan asam kojat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5c. Secara *in silico* beberapa senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam seperti beta-karoten dan kuersetin menunjukkan hasil yang cukup baik terhadap tirosinase sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat inhibitor alami pengganti asam kojat berdasarkan parameter ADMET dan radar bioavailabilitasnya.

KESIMPULAN

Berdasarkan studi docking molekuler dari beberapa senyawa *Ipomoea batatas* L. Lam, diperoleh dua senyawa yang memiliki afinitas yang baik terhadap protein tirosinase yaitu beta-karoten dan kuersetin. Beta-karoten memiliki afinitas (ΔG) -6,05 kcal/mol dan (IC) 36,72 μM , interaksi hidrofobik pada beta-karoten terbentuk melalui ikatan π -sigma dan π -alkyl pada residu His85, Val283, His259, His244, His263, Phe90, Phe264,

Pro277 dan kuersetin memiliki afinitas (ΔG) -5,87 kcal/mol dan (IC) 45,30 μM , berbeda dengan beta-karoten, pada kuersetin interaksi ikatan hidrogen terbentuk pada residu His94, Met280, Gly281, selain itu, interaksi hidrofobik juga terbentuk melalui ikatan π -stacked dan π -alkyl pada residu His61, His263, Val283, Ala286. Jika dibandingkan dengan asam kojat, kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang cukup baik dalam proses inhibisi aktivitas monofenolase dan difenolase dari tirosinase berdasarkan afinitasnya. Berdasarkan hasil studi docking molekuler dan prediksi ADMET secara *in silico*, senyawa yang terkandung dalam *Ipomoea batatas* L. Lam menunjukkan afinitas penghambatan yang cukup baik terhadap enzim tirosinase. Dengan demikian, *Ipomoea batatas* L. Lam dengan kandungan senyawa aktifnya berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat inhibitor alami pengganti asam kojat.

Daftar Pustaka

- Allouche, A., 2012. Software news and updates gab edit - A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of computational chemistry*, 32, 174-182.
- Bae, J. Y., Lim, S. S., Kim, S. J., Choi, J. S., Park, J., Ju, S. M., Han, S. J., Kang, I. J. and Kang, Y. H., 2009. Bog blueberry anthocyanins alleviate photoaging in ultraviolet-B irradiation-induced human dermal fibroblasts. *Molecular, Nutrition and Food Research*, 53(6), 726-738.
- Clifford, I. O., Kingsley, E., Chika, C. O. and Chinyere, I. I., 2014. Effects of osmotic dewatering and oven drying on β -Carotene content of sliced light yellow-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam). *Nigerian Food Journal*, 32(2), 25-32.
- Eluagu, Ester., 2010. Effect of blanching on the mineral composition and antinutritional factors, 124-128.
- Fan, M., Zhang, G., Hu, X., Xu, X. and Gong, D., 2017. Quercetin as a tyrosinase inhibitor: Inhibitory activity, conformational change and mechanism. *Food research international*, 100 (4), 226-233.
- Girija, C. R., Karunakar, P., Poojari, C. S., Begum, N. S. and Syed, A. A., 2010. Molecular docking studies of curcumin derivatives with multiple protein targets for procarcinogen activating enzyme inhibition. *Journal of Proteomics and Bioinformatics*, 3(6), 200-203.
- Harwansh, R. K., Mukherjee, P. K., Kar, A., Bahadur, S., Al-Dhabi, N. A. and Duraipandiyar, V., 2016. Enhancement of photoprotection potential of catechin loaded nanoemulsion gel against UVA induced oxidative stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology: Biology*, 160, 318-329.

- Huang, S., Ren, Y., Peng, X., Qian, P. and Meng, L., 2019. Computer-aid drug design, synthesis, and anticoagulant activity evaluation of novel dabigatran derivatives as thrombin inhibitors. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 137(4), 104-965.
- Isemura, M., 2019. Catechin in human health and disease. *Molecules*, 24(3).
- Islam, M. S., Jalaluddin, M., Garner, J. O., Yoshimoto, M. and Yamakawa, O., 2005. Artificial shading and temperature influence on anthocyanin compositions in sweetpotato leaves. *Hort Science*, 40(1), 176-180.
- Islam, S., 2016. Some bioactive constituents, antioxidant, and antimutagenic activities in the leaves of *Ipomoea batatas* Lam. Genotypes. *American Journal Food Science and Technology*, 4(3), 70-80.
- Ismaya, W. T., Rozeboom, J., Weijn, A., Mes, J. J. and Fusetti, F., 2011. Crystal structure of *Agaricus bisporus* tyrosinase. *Biochemistry*, 50, 5477-5486.
- Jain, A. N. and Nicholls, A., 2008. Recommendations for evaluation of computational methods. *Computer-Aided Molecular Design*, 22(3-4), 133-139.
- Jiang, Y., Akhavan Aghdam, Z., Tsimring, L. S. and Hao, N., 2017. Coupled feedback loops control the stimulus-dependent dynamics of the yeast transcription factor Msn2. *Journal of Biological Chemistry*, 292(30), 12366-12372.
- Kho, K., Sim, Y. Y. and Nyam, K. L., 2019. Antioxidant activities of tea prepared from kenaf (*Hibiscus cannabinus* L. KR9) leaves at different maturity stages. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3).
- Kontoyianni, M., McClellan, L. M. and Sokol, G. S., 2004. Evaluation of docking performance: Comparative data on docking algorithms. *Journal of Medicinal Chemistry*, 47(3), 558-565.
- Lai, X., Wichers, H. J., Soler Lopez, M. and Dijkstra, B. W., 2017. Structure of human tyrosinase related protein 1 reveals a binuclear zinc active site important for melanogenesis. *Angewandte Chemie: International edition*, 56(33), 9812-9815.
- Masaki, H., 2010. Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, 58(2), 85-90.
- Mohanraj, R. and Sivasankar, S., 2014. Sweet potato (*Ipomoea batatas* L. Lam) - A valuable medicinal food: A review. *Journal of Medicinal Food*, 17(7), 733-741.
- Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K. and Sarkar, B. K., 2011. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19(1), 64-73.
- Nguyen, H. X., Nguyen, N. T., Nguyen, M. H. K., Le, T. H., Do, T. N., Hung, T. M. and Nguyen, M. T. T., 2016. Tyrosinase inhibitory activity of flavonoids from *Artocarpus heterophyllous*. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 4-9.
- Pinzi, L. and Rastelli, G., 2019. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18).
- Rutkowski, M. and Grzegorzczak, K., 2012. Adverse effects of antioxidative vitamins. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 25(2), 105-121.
- Saeedi, M., Eslamifar, M. and Khezri, K., 2019. Kojic acid applications in cosmetic and

pharmaceutical preparations. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 110(2), 582-593.

- Singh, S., 2006. Preclinical Pharmacokinetics: An approach towards safer and efficacious drugs. *Current Drug Metabolism*, 7 (2), 165-182.
- Woolery-Lloyd, H. and Kammer, J. N., 2011. Treatment of Hyperpigmentation: Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery, 30(3), 171-175.
- Xin, J., Qi, Y., Cai, J., Feng, C., Akihisa, T. and Li, W., 2021. Phenolic compounds from *Ficus hispida* L. as tyrosinase and melanin inhibitors. *Biological Evaluation: Molecular Docking and Molecular Dynamics*, 1244.
- Zeb, A. and Murkovic, M., 2013. Determination of thermal oxidation and oxidation products of β -carotene in corn oil triacylglycerols. *Food Research International*, 50(2), 534-544.
- Zengin, G., Locatelli, M., Stefanucci, A., Macedonio, G., Novellino, E., Mirzaie, S., Dvoráček, S., Carradori, S., Brunetti, L., Orlando, G., Menghini, L., Ferrante, C., Recinella, L., Chiavaroli, A., Leporini, L. and Mollica, A., 2017. Chemical characterization, antioxidant properties, anti-inflammatory activity, and enzyme inhibition of *Ipomoea batatas* L. Lam leaf extracts. *International Journal of Food Properties*, 20(2), 1907-1919.
- Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F. and Saboury, A. A., 2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 279-309.

HASIL CEK_Tirosinase, Ipomoea batatas L. Lam, protein (pdb:2Y9X), Docking molekuler, Autodock-4.

ORIGINALITY REPORT

6%

SIMILARITY INDEX

6%

INTERNET SOURCES

4%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	web.stfm.ac.id Internet Source	1%
2	core.ac.uk Internet Source	1%
3	journal.uad.ac.id Internet Source	1%
4	123dok.com Internet Source	1%
5	alpha.rcsb.org Internet Source	1%
6	eprints.umm.ac.id Internet Source	1%

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 1%