

SIMULASI *DOCKING* BEBERAPA SENYAWA TURUNAN 3,3',4',5,7-PENTAHIDROKSI FLAVON TERHADAP AKTIVITAS ENZIM COX-2

Niken Sulisty Wardani*, Nur Mita, Muhammad Amir Masruhim

Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Kefarmasian “Farmaka Tropis”,
Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email: niken.sw20@gmail.com

ABSTRACT

Compounds 3,3',4',5,7-pentahydroxy Flavones (*Quercetin*) are compounds derived from derivatives of the flavonoid group. This compound has therapy as an anti-pain and anti-inflammatory. The emergence of side effects due to the use of NSAID drugs causes the need for a search study of COX-2 specific drug compounds. The purpose of this study was to determine the activity of several derivatives of compounds 3,3',4',5,7-pentahydroxy flavones to the COX-2 enzyme, to find out the free energy value (ΔG) that occurs in several compounds derivatives of the COX-2 enzyme and to know hydrogen bonds and interactions that occur in ligand-receptor bonds. The methodology of this study uses a modification of compounds 3,3',4',5,7-pentahydroxy flavones which are docking to the COX-2 enzyme receptor GDP code: 6COX using the AutoDock Tools 1.5.6 application, RMSD used for 2, 86 Å. The results of the data show that the energy comparison score (kcal / mol) of compounds 06, 10, 09, 01, 04, 05, 03 and 08 is higher than the natural ligand and its main compound, which is -1.80 kcal / mol at NAG661 with three hydrogen bonds, -0.18 kcal / mol in the main compound with three hydrogen bonds and -3.16 kcal / mol in compound 06 with one hydrogen bond which is the value of ΔG with the highest activity. Amino acids that play a role in the interaction of several derivatives of compounds 3,3',4',5,7-pentahydroxy flavones are SER 38 (Serin 38), GLU 67 (Glutathione 67) and ASN 68 (Asparagin 68).

Keywords: Pentahydroxy flavone, COX-2 enzyme, docking

ABSTRAK

Senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi Flavon (*Quersetin*) merupakan senyawa yang berasal dari turunan golongan flavonoid. Senyawa ini memiliki terapi sebagai anti nyeri dan antiinflamasi. Munculnya efek samping akibat penggunaan obat NSAID menyebabkan perlunya studi pencarian senyawa obat spesifik COX-2. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon terhadap enzim COX-2, mengetahui nilai energi bebas (ΔG) yang terjadi pada beberapa turunan senyawa terhadap enzim COX-2 dan mengetahui ikatan hidrogen dan interaksi yang terjadi pada ikatan ligan-reseptor. Metodologi penelitian ini menggunakan modifikasi senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon yang di *docking*-kan pada reseptor enzim COX-2 kode PDB: 6COX dengan menggunakan aplikasi *AutoDock Tools 1.5.6*, *RMSD* yang digunakan

sebesar 2,86 Å. Hasil data menunjukkan bahwa perbandingan *energy skor* (kkal/mol) turunan senyawa 06, 10, 09, 01, 04, 05, 03 dan 08 lebih tinggi dibandingkan dengan ligan alami dan senyawa utamanya, yaitu sebesar -1,80 kkal/mol pada NAG661 dengan tiga ikatan hidrogen, -0,18 kkal/mol pada senyawa utama dengan tiga ikatan hidrogen dan -3,16 kkal/mol pada senyawa 06 dengan satu ikatan hidrogen yang merupakan nilai ΔG dengan aktivitas tertinggi. Asam amino yang berperan dalam interaksi beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon adalah SER38 (Serin 38), GLU67 (Glutation 67) dan ASN68 (Asparagin 68).

Kata kunci: Pentahidroksi flavon, Enzim COX-2, docking.

DOI: <https://doi.org/10.25026/mpc.v8i1.318>

PENDAHULUAN

Dewasa ini, pengembangan senyawa aktif tanaman telah dilakukan untuk dijadikan sebagai bahan sediaan obat. Mengingat bahwa, terdapat banyak sekali senyawa yang diujikan melalui sistem coba-coba (*trial and error*) mengakibatkan tingginya tingkat penggunaan bahan uji tanpa adanya prediksi efektifitas senyawa aktif terlebih dahulu. Hal inilah yang dapat mengakibatkan kurangnya efisiensi dalam penelitian dan memerlukan waktu yang cukup lama dalam pengembangannya (Siswandono dan Soekarjo, 2011).

Karena permasalahan tersebut, para peneliti melakukan pengembangan obat berdasarkan kemajuan IPTEK, yaitu dengan menggunakan teknik penemuan obat baru melalui studi kimia komputasi. Kimia komputasi merupakan cabang kimia dengan menggunakan hasil kimia teori, diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat dan perubahan dari molekul dengan cara melakukan simulasi terhadap sistem-sistem yang besar (makromolekul seperti protein serta asam nukleat), sistem besar yang dapat mencakup kajian konformasi molekul serta perubahannya (misalnya, proses denaturasi protein), dan perubahan fase, serta memperkirakan sifat-sifat makroskopik (misalnya, kalor jenis)

berdasarkan perilaku ditingkat atom dan molekul. Struktur senyawa tersebut dapat berupa gambaran struktur elektronik yang diperoleh dari perhitungan kimia komputasi. Metode kimia komputasi bisa memprediksi namun bukan berarti dapat digunakan secara langsung, dikarenakan sedikit sekali aspek kimia yang dapat dihitung secara tepat (Supratman, 2010).

Keberadaan komputer yang dilengkapi dengan aplikasi kimia komputasi, memungkinkan ahli kimia komputasi medisinal menggambarkan senyawa obat secara tiga dimensi (3D) dan melakukan komparasi atas dasar kemiripan dan energi dengan senyawa lain yang sudah diketahui memiliki aktivitas tinggi (*pharmacophore query*). Berbagai senyawa turunan dan analog dapat "disintesis" secara *in silico* atau senyawa hipotetik. Aplikasi komputer melakukan kajian interaksi antara senyawa hipotetik dengan reseptor yang telah diketahui data struktur 3D secara *in silico*. Kajian ini dapat memprediksi aktivitas senyawa-senyawa hipotetik dan sekaligus dapat mengeliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah. Hasilnya adalah senyawa yang siap disintesis dan diyakini mempunyai aktivitas tinggi dibandingkan dengan senyawa yang telah dikenal. Jumlah senyawa yang diusulkan biasanya jauh lebih sedikit dibandingkan penemuan

obat secara konvensional. Hal inilah yang menjadi keunggulan dari studi komputasi dalam menemukan obat baru (Pranowo, 2009).

Dengan menggunakan metode simulasi *docking*, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon terhadap enzim COX-2; mengetahui interaksi yang terjadi antara senyawa obat dengan reseptor selektif COX-2; dan menarik kesimpulan senyawa mana yang memiliki aktivitas yang lebih baik dalam menghambat reseptor selektif COX-2.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Struktur enzim COX-2 yang sudah berikatan dengan ligan alaminya, diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB), kode: 6COX dengan ligan alami NAG661, suatu inhibitor selektif COX-2. Ligan uji yang digunakan adalah beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon.

Alat yang digunakan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu piranti keras (HP, Intel® Core™ i3-2330M, *processor Windows 8 Pro*, CPU @ 2.20 GHz, RAM 4GB) dan piranti lunak (Aplikasi *docking AutoDock Tools 1.5.6*).

Optimasi Geometri Ligan

Metode ini dilakukan berdasarkan dari Levita (2008) dengan beberapa modifikasi cara kerja. Masing-masing senyawa uji dibuat struktur tiga dimensinya dan ditambahkan molekul hidrogen. Kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan aplikasi *Hyperchem 8.0*. Hasil senyawa disimpan dalam format *.pdb.

Evaluasi Pemilihan dan Pembuatan Parameter Grid

Metode ini dilakukan berdasarkan dari Levita (2008) dengan beberapa modifikasi cara kerja. Pada tahapan ini

merupakan penentuan parameter yang digunakan untuk *docking* yang meliputi ukuran *grid box* dan sisi pengikatan: 29,078 x -2,824 x 27,125 angstrom, literasi 0,375 kali. *Docking* dilakukan dengan replikasi masing-masing 30 kali.

Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi ligan natif hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai *root mean square deviation* (RMSD). Parameter grid yang digunakan memiliki nilai RMSD sebesar 2,86 Å. Nilai RMSD untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah kurang dari 5, semakin mendekati nilai 0 maka nilai kesejajaran semakin baik (Trott, 2010).

Proses Docking

Metode ini dilakukan berdasarkan dari Levita (2008) dengan beberapa modifikasi cara kerja. Setelah penentuan parameter grid didapat, dilakukan *docking AutoGrid* dan *AutoDock*, sehingga didapat nilai *energy score* atau *Binding score*. Semakin kecil nilai *binding energy*, maka semakin baik aktivitas yang dihasilkan.

Analisis Hasil Docking

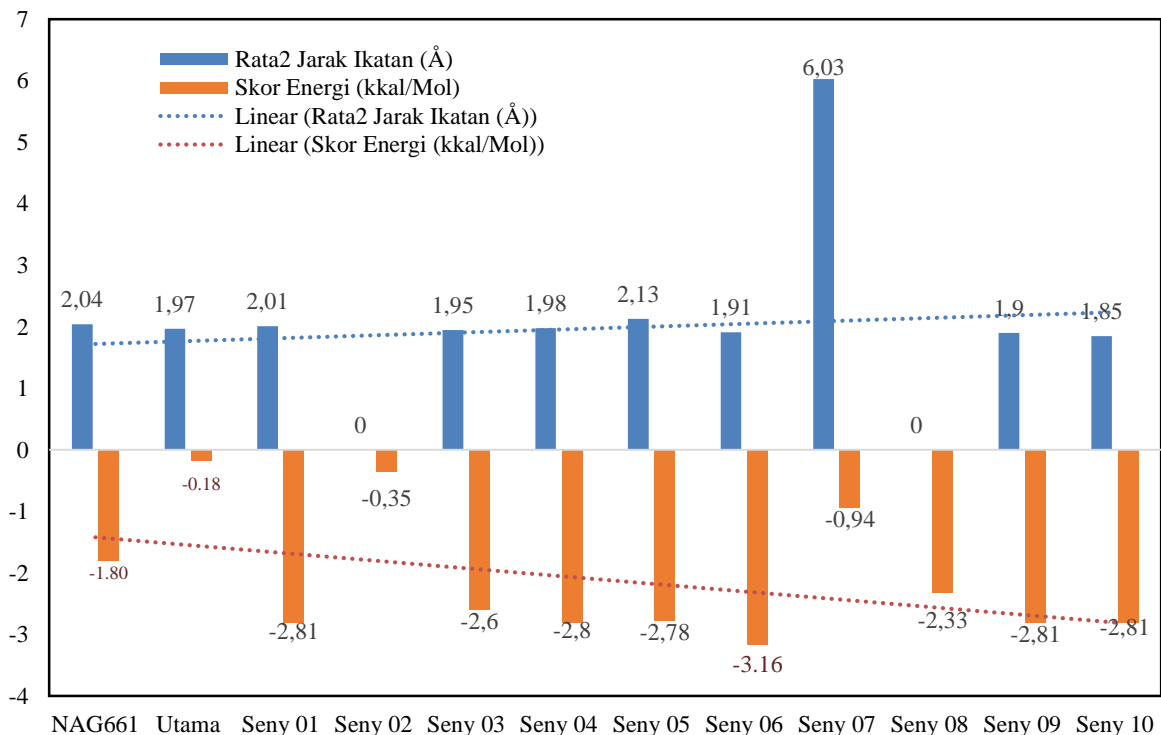
Metode ini dilakukan berdasarkan dari Levita (2008) dengan beberapa modifikasi cara kerja. Analisis dilakukan dengan menggunakan program *AutoDock Tools* untuk mengetahui interaksi ligan dan ikatan hidrogen dengan sisi aktif protein serta menganalisis *binding energi* dari hasil *docking*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

AutoDock Tools 1.5.6 menyediakan dua fasilitas *docking* yaitu *Autogrid* dan *Autodock (Lamarckian Genetic Algorithm)*, dimana kedua *docking* ini berbeda dengan pendekatan yang digunakan. Pada metode *autogrid* ligan diarahkan pada pengaturan posisi tertentu dalam struktur molekul target, sedangkan pada *Autodock* ligan diarahkan

pada berbagai posisi ikatan yang memungkinkan. Pada metode *Autodock* untuk mendapatkan hasil *docking* yang

valid perlu dilakukan pengulangan. Berdasarkan Akaho (1999), pengulangan dilakukan minimal 10 kali.



Gambar 1. Grafik Hasil *Docking* Senyawa Turunan 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon Terhadap COX-2

Tabel 1. Hasil *Docking* Senyawa Turunan 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon Terhadap COX-2

Senyawa	Docking Score (kcal/mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan (Å)	Asam Amino yang Terikat			
NAG661	-1,80	3	1,89	SER38			
			2,078	GLU67			
			2,165	GLU67			
			2,204	SER38			
			1,749	ASN68			
3,3',4',5,7-pentahidroksi Flavon	-0,18	3	1,943	GLU67 (19)			
			1,899	SER38			
			2,123	ASN68			
			01	-2,81	2	1,899	SER38
						2,123	ASN68
			02	-0,35	0	-	-
						-	-
			03	-2,60	2	1,965	SER38
						1,942	GLU67 (17)
			04	-2,80	1	1,976	SER38
-	-						
05	-2,78	3	2,061	SER38			
			2,148	ASN68			
			2,187	GLU67 (17)			
			1,91	SER38			
06	-3,16	1	1,91	SER38			
			-	-			
07	-0,94	2	1,9	ASN68			
			2,126	GLU67 (17)			
			-	-			
08	-2,33	0	-	-			
			-	-			
09	-2,81	2	1,929	SER38			
			1,88	GLU67 (17)			
			1,911	SER38			
10	-2,81	2	1,911	SER38			
			1,79	GLU67 (17)			

Ligan alami NAG661 dengan reseptor COX-2 pada metode *autodock* memberikan nilai *RMSD* sebesar 2,86 Å. Hal ini menunjukkan bahwa pengaturan parameter grid tersebut dapat digunakan untuk proses *docking* untuk senyawa uji, dimana *RMSD* untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah kurang dari lima, semakin mendekati nilai nol maka nilai kesejajaran semakin baik (Trott, 2010).

Data yang didapatkan meliputi nilai energi ikatan antar gugus asam amino, jarak ikatan antar senyawa dengan makromolekul (Å), *RMSD* dan energi aktivitas (ΔG) senyawa. Aktivitas beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon sebagai mediator penghambatan enzim selektif COX-2 menunjukkan adanya aktivitas yang baik dalam penghambatan enzim. Hal ini dikarenakan perbandingan energi bebas (ΔG) (kkal/mol) beberapa senyawa turunan lebih rendah dibandingkan senyawa alaminya. Semakin rendah ΔG yang dilepaskan pada saat interaksi senyawa dan reseptor, maka ikatan kompleks senyawa dengan reseptor akan semakin kuat, karena terjadi kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada senyawa dengan reseptor.

Hasil data menunjukkan bahwa perbandingan ΔG (kkal/mol) beberapa turunan senyawa lebih tinggi dibandingkan dengan ligan alami dan senyawa utamanya, yaitu -1,80 kkal/mol pada NAG661, -0,18 kkal/mol pada senyawa utama dan -3,16 kkal/mol pada senyawa 06 yang merupakan nilai dengan aktivitas tertinggi. Senyawa 06 memiliki satu ikatan hidrogen dan senyawa alaminya memiliki tiga ikatan hidrogen. Asam amino yang berperan dalam interaksi beberapa turunan senyawa 3,3',4',5,7-pentahidroksi flavon adalah

SER 38 (Serin 38), GLU 67 (Glutathion 67) dan ASN 68 (asparagin 68), dimana asam amino tersebut merupakan salah satu asam amino aktif yang ada pada reseptor COX-2.

KESIMPULAN

Turunan senyawa 06, 10, 09, 01, 04, 05, 03 dan 08 diprediksi memiliki aktivitas ΔG lebih baik dalam penghambatan enzim dibandingkan dengan senyawa alaminya. Jumlah maksimal ikatan hidrogen sebesar 3 ikatan. Asam amino yang berperan dalam interaksi beberapa turunan senyawa dengan reseptor adalah SER38, GLU67 dan ASN68. Dimana asam amino ini merupakan salah satu asam amino makromolekul aktif enzim COX-2.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Levita. Jutti. 2008. *Langkah-langkah Tutorial Docking AutoDock 4.2*. Amsterdam.
- [2] Pranowo, Harno Dwi. 2009, *Peran Kimia Komputasi dalam Desain Molekul Obat*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- [3] Saifudin., 2014, *Metode Penelitian*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta
- [4] Siswandono, dan Soekarjo, B., 2011, *Kimia Medisinal Jilid 1*. Airlangga University Press. Surabaya.
- [5] Supratman, U., 2010, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik : Metode Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Widya Padjajaran. Bandung.
- [6] 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.