

KAJIAN SECARA *IN SILICO* TERHADAP POTENSI EUGENOL DAN SITRONELAL SEBAGAI PESTISIDA NABATI UNTUK PENGENDALIAN SERANGGA *HELOPELTIS ANTONII*

Dani Muara Histo, Edi Priyo Utomo*, Toto Himawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835
Email: edipu2000@yahoo.com

ABSTRAK

Potensi eugenol dan sitronelal sebagai pestisida nabati dikaji melalui pemodelan secara *in silico*. Interaksi antara ligan eugenol dan sitronelal sebagai bioaktif dengan mitokondria *Helopeltis antonii* sebagai reseptor, dikaji dengan menggunakan perangkat lunak Autodock Tools dan Autodock Vina. Hasil kajian *in silico* menunjukkan bahwa dengan metode *multiple docking* menggunakan Autodock Tools diperoleh nilai inhibisi (k_i) campuran eugenol – sitronelal sebesar 4,20 mM dan nilai energi ikat bebas (ΔG) sebesar -3,24 kkal/mol. Sedangkan hasil validasi menggunakan Autodock Vina menunjukkan bahwa interaksi antara eugenol – sitronelal memiliki nilai afinitas energi ikat bebas (ΔG_{aff}) sebesar -4,8 kkal/mol dan nilai inhibisi (k_i) sebesar 3,300 mM.

Kata kunci : eugenol, sitronelal, *cytochrome c oxidase*, *docking*

ABSTRACT

The potential of eugenol and citronellal as botanical pesticide was investigated by using an *in silico* modeling. An interaction between two ligands, eugenol and citronellal as bioactive components, with mitochondria of *Helopeltis antonii* as receptor, was studied using Autodock Tools and Autodock Vina. The study *in silico* showed that *multiple docking* using Autodock Tools consecutively perform inhibition constant (k_i) of the eugenol – citronellal at 1,91 mM and free energy of binding at -3,71 kcal/mol. But the validation result using Autodock Vina showed that free energy of binding (ΔG_{aff}) of the interaction between eugenol – citronellal with mitochondria of *Helopeltis antonii* at -4,6 kcal/mol and inhibition constant (k_i) at 3,300 mM.

Keywords : eugenol, citronellal, *cytochrome c oxidase*, *docking*

PENDAHULUAN

Pemanfaatan senyawa eugenol dan sitronelal sebagai bioaktif dalam pembuatan pestisida nabati telah banyak dilakukan untuk mengatasi dampak negatif dari penggunaan pestisida sintetik [1, 2]. Akan tetapi, dalam pengembangannya seringkali menggunakan cara konvensional yang meliputi preparasi sederet formula dari pestisida nabati yang mengandung berbagai variasi komponen bioaktif serta pengujian dilakukan secara *in vivo* dan *in vitro*. Dengan demikian, untuk melakukan eksperimen tersebut dibutuhkan waktu dan biaya yang relatif besar. Untuk mengatasi hal tersebut, pendekatan pemodelan molekul dengan menggunakan teknik perhitungan kimia komputasi dapat digunakan sebagai alternatif untuk memperkirakan sifat senyawa model dengan efisiensi waktu dan biaya [3].

Dalam bidang biomolekuler, penelitian *in silico* merupakan bentuk dari pemodelan komputasional untuk mempelajari aspek – aspek biologis serta interaksi pada tingkat molekuler [4], sehingga diperlukan *input* data seperti bioinformatika sebagai penunjang untuk pemodelan komputasi tersebut . Analisis bioinformatika memiliki 3 unsur yang sama. Unsur yang pertama yaitu unsur “pusat data atau database”, unsur ini merupakan bentuk dari penggunaan atau pembuatan pusat data seperti *GenBank* (www.ncbi.nlm.nih.gov), *Databank of Japan*, dan *European Bioinformatics Institute*. Unsur yang kedua yaitu unsur “analisis”, yang meliputi pencarian kesamaan (homologi) atau pencarian pola. Dan unsur yang ketiga yaitu unsur “prediksi”. Unsur prediksi merupakan bentuk dari penelitian secara *in silico* sebagai analogi dari penelitian secara *in vivo* [5]. Interaksi molekuler secara *in silico* dapat dilakukan dengan metode *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan suatu simulasi penambatan molekul yang memiliki kemampuan untuk melakukan uji interaksi antara senyawa dengan beberapa parameter tertentu [6].

Enzim *cytochrome c oxidase* merupakan enzim yang memiliki peran dalam pembentukan energi didalam mitokondria, dimana sebagian besar energi untuk aktivitas seluler dihasilkan oleh mitokondria. Inhibisi pada *cytochrome c oxidase* dapat mengakibatkan penurunan produksi energi [7]. Dengan demikian aktivitas seluler akan terhambat serta dapat mengakibatkan kematian pada serangga *Helopeltis antonii*.

Pada Penelitian ini dilakukan simulasi *molecular docking* antara sitronelal dan eugenol dengan enzim *cytochrome c oxidase* dari mitokondria serangga *Helopeltis antonii*. Simulasi *molecular docking* tersebut dilakukan untuk mengetahui kemampuan eugenol dan sitronelal berinteraksi dengan enzim *cytochrome c oxidase*, sehingga aktivitas enzim *cytochrome c oxidase* akan terhambat.

METODA PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain struktur molekul ligan sitronelal dan eugenol yang diunduh dari NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) pada subdatabase *PubChem Compound*. Struktur molekul dari protein reseptor dari mitokondria serangga *Helopeltis antonii* yang diunduh dari NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov) pada subdatabase *Protein*.

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain perangkat keras yaitu Notebook dengan spesifikasi processor Intel(R) Core(TM) i3 CPU M330 2.13GHz dengan

RAM 2.00GB, perangkat lunak HyperChem, perangkat lunak AutoDock Tools 1.5.6, perangkat lunak Autodock Vina dan perangkat lunak Accelrys Discovery Studio 3.5.

Prosedur

Simulasi Interaksi Molekul Eugenol dan Sitronelal dengan Reseptor *Helopeltis antonii* secara insilico

Ligan yang digunakan yaitu eugenol dan sitronelal diunduh dan disimpan dalam bentuk konformasi tiga dimensi. Optimasi struktur geometri molekul ligan dilakukan dengan perhitungan semiempirik AM1 menggunakan perangkat lunak *HyperChem* untuk diperoleh struktur geometri yang paling stabil. Molekul protein reseptor yang merupakan enzim *cytochrome c oxidase* dari serangga *Helopeltis antonii* diunduh dalam bentuk urutan asam amino dari www.ncbi.nlm.nih.gov pada subdatabase Protein. Urutan asam amino yang diperoleh dari bagian FASTA tersebut dibuat pemodelan struktur kuartener tiga dimensi melalui www.swissmodel.expasy.org secara online. Setelah diperoleh model struktur tiga dimensi dengan derajat homologi protein yang dikehendaki, selanjutnya dilakukan proses *docking*. Proses *docking* antara molekul eugenol dan sitonelal dengan protein reseptor menggunakan program *Autodock Tools 1.5.6*. Proses *docking* dilakukan pada ukuran dan posisi *grid box* dengan kondisi *default*. Parameter *docking* yang digunakan antara lain penentuan parameter *docking* yaitu menggunakan *Genetic Algorithm*, dan penentuan *output docking* dengan parameter *Lamarckian GA(4.2.)*. Sedangkan proses validasi *docking* menggunakan *Autodock Vina* dengan ukuran dan posisi *grid box* yang sama dengan kondisi yang digunakan pada saat proses *docking* menggunakan *Autodock Tools 1.5.6*.

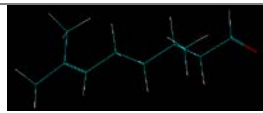
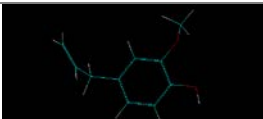
Analisis hasil docking meliputi analisis interaksi yang terjadi, penentuan konformasi hasil docking yang memiliki harga k_i terkecil, pengumpulan data hasil docking yang meliputi *binding energy*, dan *electrostatic energy*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Simulasi Interaksi Molekul Eugenol dan Sitronelal dengan Reseptor *Helopeltis antonii* secara insilico

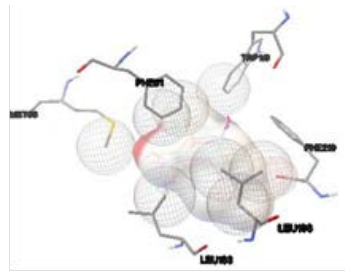
Optimasi struktur geometri menggunakan perangkat lunak *HyperChem* dilakukan untuk mendapatkan konformasi ligan dengan struktur geometri yang paling stabil. Konformasi struktur geometri ligan yang paling stabil ditunjukkan oleh beberapa parameter, yaitu ΔG yang paling rendah dan momen dipol yang dihasilkan. ΔG menunjukkan energi ikat yang dibutuhkan ligan untuk dapat berinteraksi dengan sisi aktif reseptor. Momen dipol menunjukkan nilai kepolaran dari ligan tersebut.

Tabel 1. Hasil optimasi struktur geometri ligan dengan menggunakan perangkat lunak HyperChem

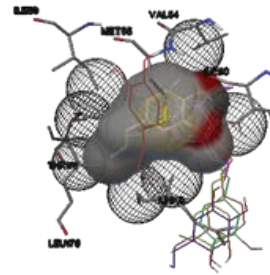
| Senyawa | Total Energi (kkal/mol) | ΔG (kkal/mol) | Momen Dipol | Log P | Energi Hidrasi (kkal/mol) | Gambar Struktur |
|------------|-------------------------|-----------------------|-------------|-------|---------------------------|---|
| Sitronelal | -42650,97 | -2769,55 | 2,919 | 2,25 | 13,95 |  |
| Eugenol | -48092,54 | -2498,36 | 2,251 | 2,55 | -8,46 |  |

Pemodelan struktur kuartener tiga dimensi *cytochrome c oxidase* menghasilkan tiga jenis struktur kristal. Model yang dipilih adalah model yang memiliki homologi yang paling besar, yaitu 76,61% dengan nilai *QMEAN4* sebesar -2,64 dan nilai *GMQE* sebesar 0,89. Struktur kuartener tersebut dibuat berdasarkan template protein dengan kode 3abm.1.A.

Docking ligan dengan protein reseptor yang telah dilakukan akan menghasilkan 10 model konformasi interaksi ligan dengan makromolekul. Interaksi yang dihasilkan dari docking antara makromolekul dengan sitronelal, makromolekul dengan sitronelal - eugenol, makromolekul dengan eugenol, dan makromolekul dengan eugenol – sitronelal akan menghasilkan pola interaksi dengan karakteristik yang berbeda.

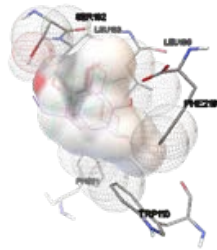


Interaksi ligan sitronelal dengan protein reseptor *Helopeltis antonii*

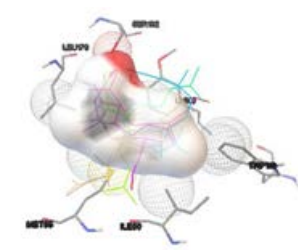


Interaksi ligan sitronelal – eugenol dengan protein reseptor *Helopeltis antonii*

A



Interaksi ligan eugenol dengan protein reseptor *Helopeltis antonii*



Interaksi ligan eugenol - sitronelal dengan protein reseptor *Helopeltis antonii*

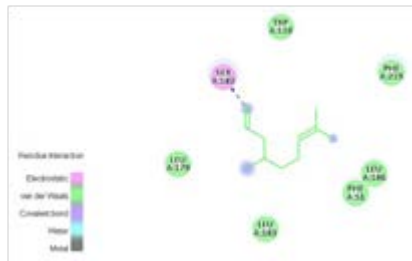
B

Gambar 1. Model konformasi hasil *docking* antara ligan dengan protein reseptor dari *Helopeltis antonii* secara konsekutif. (A) sitronelal - eugenol, (B) eugenol - sitronelal

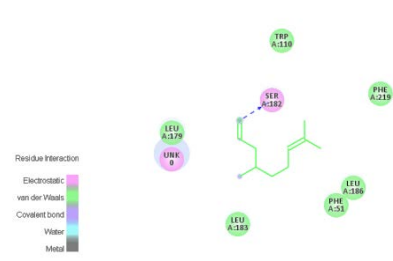
Dari 10 model yang dihasilkan tersebut dipilih salah satu model dengan konformasi yang paling stabil yaitu model dengan harga k_i terendah dan nilai ΔG terkecil. Harga k_i dan ΔG menunjukkan kemampuan ligan untuk berinteraksi dengan sisi aktif dari protein reseptor tersebut. Pada **Gambar 2.** ditunjukkan bahwa interaksi yang terjadi antara sitronelal dan eugenol dengan asam amino antara lain interaksi van der waals dan interaksi elektrostatik.

Tabel 2. Harga k_i dan ΔG hasil interaksi dengan metode *docking*

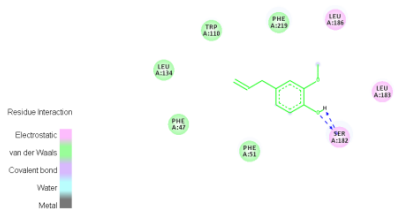
| Senyawa | ΔG (kcal/mol) | k_i (mM) |
|----------------------|-----------------------|------------|
| Eugenol | -4,18 | 0,857 |
| Eugenol – sitronelal | -3,71 | 1,91 |
| Sitronelal | -3,11 | 5,26 |
| Sitronelal – eugenol | -3,24 | 4,20 |



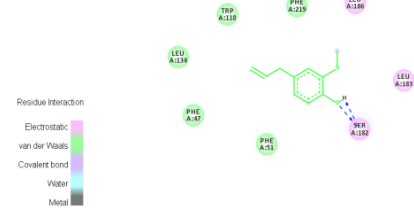
Interaksi ligan sitronelal dengan sisi aktif reseptor *Helopeltis antonii*



Interaksi ligan sitronelal - eugenol dengan sisi aktif reseptor *Helopeltis antonii*



Interaksi ligan eugenol dengan sisi aktif reseptor *Helopeltis antonii*



Interaksi ligan eugenol - sitronelal dengan sisi aktif reseptor *Helopeltis antonii*

Gambar 2. Interaksi hasil docking dalam diagram 2D antara sitronelal dan eugenol dengan sisi aktif reseptor dari serangga *Heopeltis antonii*

Hasil dari validasi *docking* menggunakan Autodock Vina menunjukkan bahwa reaksi dari interaksi antara sitronelal dan eugenol dengan sisi aktif dari protein reseptor serangga *Helopeltis antonii* dapat terjadi secara spontan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai dari ΔG dibawah nol. Hasil dari *docking* menggunakan Autodock Tools 1.5.6 juga menunjukkan bahwa reaksi terjadi secara spontan.

Table 3. Perbandingan hasil *docking* menggunakan Autodock Tools 1.5.6 dengan Autodock Vina

| Senyawa | Autodock Tools 1.5.6 | | Autodock Vina | |
|-----------------------------|-----------------------|------------|------------------------------------|------------|
| | ΔG (kcal/mol) | k_i (mM) | ΔG_{aff} (kcal/mol) | k_i (mM) |
| Eugenol | -4,18 | 0,857 | -4,9 | 3,906 |
| Eugenol - sitronelal | -3,71 | 1,91 | -4,6 | 2,352 |
| Sitronelal | -3,11 | 5,26 | -4,5 | 1,992 |
| Sitronelal - eugenol | -3,24 | 4,20 | -4,8 | 3,300 |

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa interaksi antara sitronelal dan eugenol dengan protein mitokondria *Helopeltis antonii* ditunjukkan oleh harga k_i . Interaksi optimum yang terjadi antara sitronelal dan eugenol dengan reseptor memiliki harga k_i sebesar 4.20 mM dengan nilai ΔG sebesar -3,24 kkal/mol. Sedangkan berdasarkan hasil validasi *docking* diperoleh nilai ΔG sebesar -4,8 kkal/mol dan harga k_i sebesar 3,300 mM. Interaksi antara sitronelal dan eugenol dengan sisi aktif protein reseptor terjadi melalui interaksi van der Waals dan interaksi elektrostatik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Willis, M., Laba, I.W., dan Rohimatun, 2013, *Efektivitas Insektisida Sitronellal, Eugenol, dan Azadirachtin terhadap Hama Penggerek Buah Kakao Conopomorpha cramerella (Snell.)*, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Bogor.
2. Nurmansyah, dkk., 2010, *Pemanfaatan Pestisida Nabati Minyak Serehwangi untuk Menurunkan Populasi (80%) Hama Penghisap Buah Helopeltis antonii pada Kakao*, Laporan Teknis Penelitian, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.
3. Tahir I., Karna W., dan Ari A., 2008, *Prediksi Tipe Aktivitas Senyawa Tabir Surya Homosalat Berdasarkan Analisis Spektra Transisi Elektronik pada Konfigurasi Bentuk Dimer dan Solut-Solven*, Seminar Nasional Kimia XVIII, Yogyakarta, 10 Juli 2008.
4. Palsson B., 2000, The Challenges of in-silico Biology : Moving from a Reductionist Paradigm to One That Views Cells as Systems will Necessitate Changes in both The Culture and The Practice of Research, *Nature Biotechnology*, Vol. 18, pp 1147-1150.
5. Witarto A.B., dan Sajidan, 2010, *Bioinformatika : Trend dan Prospek dalam Pengembangan Keilmuan Biologi*, Seminar Nasional Pendidikan Biologi, Solo, 2010.
6. Zukhrullah M., Muhammad A., dan Subehan, 2012, Kajian Beberapa Senyawa Antiinflamasi : Docking Terhadap Siklooksigenase-2 secara *in silico*, *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, Vol. 16, No.1, pp 37-44.
7. Samavati L., Icksoo L., Isabella M., Friedrich L., dan Maik H., 2008, Tumor Necrosis Factor α Inhibits Oxidative Phosphorylation through Tyrosine Phosphorylation at Subunit I of Cytochrome *c* Oxidase, *The Biological Chemistry*, Vol. 283, No. 30, pp 21134-21144