

Penghambatan Aktivitas HMG-CoA Reductase dari Senyawa Aktif Jahe (*Zingiber officinale*): Studi In-Silico

Inhibition of HMG-CoA Reductase Activity from Active Compounds of Ginger (*Zingiber officinale*): In-Silico Study

Rosario Trijuliamos Manalu^{1*}, Imelia Omega Meheda¹, Cintya Octaviani¹.

¹Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional,
Jalan Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Kota Jakarta Selatan, 12630, Indonesia

*Korespondensi: rio@istn.ac.id

Submit April 2021 Revisi April 2021 Diterima Mei 2021 Terbit Juni 2021

ABSTRAK

Kolesterol merupakan salah satu dari lemak tubuh dalam asam lemak bebas dan ester, yang termasuk komponen utama selaput sel otak dan saraf. Namun, tidak jarang kolesterol menjadi penyebab penyakit terutama penyakit jantung yang terus meningkat setiap tahunnya di Indonesia. Sehingga perlu strategi pengobatan yang efektif dan aman dengan melakukan penelitian tanaman Indonesia sebagai upaya kemandirian bahan baku obat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas penghambatan dari senyawa aktif tanaman Jahe pada HMG-KoA reduktase secara *in-silico* melalui penambatan molekul. Senyawa aktif yang digunakan dalam penelitian ini curcumin, capsaicin, gingerol, paradol, shogaol dilakukan *docking* molekuler menggunakan software PLANTS dengan tujuan untuk mengetahui score docking dan interaksi kelima senyawa terhadap enzim HMG-KoA reduktase yang berperan terhadap metabolisme lemak/kolesterol. Senyawa pembanding yang digunakan adalah simvastatin dan atorvastatin yang merupakan obat lini pertama untuk pengobatan dislipidemia. Hasil *score docking* menunjukkan bahwa kelima senyawa aktif yang digunakan sebagai ligan, menunjukkan *score docking* yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan pembanding, sehingga kelima senyawa aktif ini mampu untuk menghambat biosintesis kolesterol atau kandidat obat baru pengganti simvastatin dan atorvastatin serta berpotensi sebagai dyslipidemia.

Kata Kunci: Tanaman Jahe; *docking molekuler*; HMG-KoA reduktase

ABSTRACT

Cholesterol is one of the body's fats in free fatty acids and esters, which are the main components of brain and nerve cell membranes. However, it is not uncommon for cholesterol to be the cause of disease, especially heart disease, which continues to increase every year in Indonesia. So it needs an effective and safe treatment strategy by conducting research on Indonesian plants as an effort to be independent of medicinal raw materials. The aim of this study was to determine the inhibitory activity of the active compound of Ginger plant on

HMG-CoA reductase in-silico through molecular anchoring. The active compounds used in this study were curcumin, capsaicin, gingerol, paradol, shogaol. Molecular docking was carried out using PLANTS software with the aim of knowing the docking score and the interaction of the five compounds with the HMG-CoA reductase enzyme that plays a role in fat/cholesterol metabolism. Comparative compounds used are simvastatin and atorvastatin which are first-line drugs for the treatment of dyslipidemia.

Keywords: *Ginger Plant; molecular docking; HMG-KoA Reductase*

PENDAHULUAN

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai penambahan atau pengurangan fraksi lipid dalam plasma. Kelainan ini dikarenakan oleh kenaikan kadar kolesterol total, kenaikan kadar kolesterol LDL (*Low Density Lipid*), kenaikan kadar trigliserida, dan penurunan kadar kolesterol HDL (*High Density Lipid*). Dislipidemia berdampak terjadinya aterosklerosis dan selanjutnya menyebabkan penyakit kardiovaskular (Jellinger et al., 2012).

Aterosklerosis adalah penyumbatan pembuluh darah arteri yang disebabkan penumpukan kolesterol pada dinding arteri. Sehingga dinding arteri akan mengalami proses penyempitan, pengerasan, kehilangan kelenturan, dan menjadi kaku. Namun bila sel otot arteri tertimbun lemak maka elastisitasnya akan berkurang dalam fungsinya mengatur tekanan darah, yang dapat berakibat terjadi berbagai penyakit seperti hipertensi, serangan jantung, stroke dan lain-lain (Moore & Tabas, 2011)

Salah satu mekanisme dalam pengaturan kadar kolesterol total dalam darah adalah dengan cara menghambat enzim HMG-KoA reduktase yang berperan dalam pembentukan kolesterol dan isoprenoid lainnya dalam tubuh melalui jalur mevalonate. Menurut penelitian (Aziz et al., 2020) secara molekuler empat senyawa turunan orizanol memberikan aktivitas penghambatan HMG-CoA reduktase.

Pada penelitian di laboratorium, flavonoid pada binahong dan kurkumin dalam temulawak memiliki aktivitas menghambat kerja HMG-KoA reduktase yang mengakibatkan pembentukan mevalonat dari HMG-KoA berkurang. Kandungan flavonoid dalam binahong yang dominan adalah vitexin. Flavonoid dapat mengikat kolesterol dalam lumen duodenum dan yeyenum sehingga asupan kolesterol eksogen menjadi rendah (Mulia et al., 2017).

Penelitian tentang potensi bahan alam Indonesia sebagai kandidat penurun kadar kolesterol darah kini semakin berkembang, sehingga perlu dilakukan pendekatan penambatan molekuler terlebih dahulu. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini untuk menentukan aktivitas penghambatan dari senyawa aktif tanaman jahe pada HMG-KoA reduktase melalui penambatan molekuler.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan berdasarkan metode *computer-aided drug design* dengan seperangkat *hardware*: Laptop ASUS VivoBook Intel® CORE i5 – 1135G7, 8,00 GB of RAM dan system operasi Windows 10 Home. *Software*: Yasara View, MarvinSketch, Pubchem (database senyawa), PDB (*Protein Data Bank*), dan PoseView. Bahan yang digunakan antara lain struktur 3D senyawa aktif dari tanaman Teh Hijau yang diperoleh dari

Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan struktur protein target yang diperoleh dari PDB (www.rcsb.org/pdb).

Metode Penelitian

Persiapan Struktur Protein

Persiapan protein target dilakukan dengan pengunduhan struktur HMG-CoA reduktase melalui website (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) kode PDB: 1HW9. Protein dipisahkan dari pelarut dan ligan atau residu dengan menggunakan *software* YASARA (edit>delete>residu). Penghilangan molekul air (edit>delete.water) dan penambahan hydrogen (edit>add>hydrogen to all). Hasil tersebut disimpan dengan nama protein dalam format. Mol 2. (Purnomo, 2011)

Preparasi Struktur Ligan

Struktur ligan diunduh pada situs (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam bentuk 2D. Protonasi pada pH 7,4 dengan menggunakan *software* MarvinSketch, data yang diperoleh disimpan dalam format .mrv, file tersebut dibuka kembali dan dilakukan pencarian konformasi sebanyak 20 struktur lalu disimpan dengan format .mol2 (*Calculation>conformation>conformer*).

Validasi Docking Molekuler

Validasi dilakukan untuk menentukan nilai *root mean square deviation* (RMSD) menggunakan program YASARA (*Analyze>RMSD>Molecule*) dengan memasukkan native ligan dan reseptor dengan format .mol2. Sebuah protocol dapat diterima apabila RMSD heavy atom kurang dari 2.0 Angstrom.

Penambatan Molekul dengan PLANTS 1.1.

Docking dilakukan pada system operasi Windows, hasil preparasi ligan dan protein dipindahkan dalam format .mol2. Pada langkah selanjutnya untuk mencari sisi pengikatan didapat dengan perintah “plants –mode bind ref_ligand.mol2 5 protein.mol2”. Untuk menjalankan proses docking dimasukkan perintah “plants –mode screen pc_6lu7.txt. Hasil *docking* dapat dilihat pada terminal dengan memasukkan perintah “cd results” dilanjutkan dengan “more bestranking.csv”.

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, ligan pembanding simvastatin dan atorvastatin, dan ligan dari senyawa aktif dari tanaman jahe yang terdiri dari: curcumin, capsaicin, gingerol, shogaol dan paradol. Pembanding dalam studi ini adalah simvastatin obat lini pertama untuk gangguan dyslipidemia. Simvastatin efektif dalam menghambat aktivitas enzim 3-hidroksi-3-metilglutaril-CoA reduktase (HMG-CoA reduktase) dan memberikan hasil yang signifikan terhadap pengobatan hyperlipidemia (Gunawan, 2016).

Masing-masing senyawa ligan yang sifat-sifatnya sesuai dengan aturan Lipinski, dilakukan docking dengan protein 1HW9. Preparasi sampel ligan dengan cara menyiapkan senyawa aktif dari tanaman jahe dalam bentuk 3D dengan format pdb menggunakan *software* MarvinSketch 5.2.5.1 (Usman Sumo Friend Tambunan, 2012).

Analisis Data dan Visualisasi Docking

Hasil *docking* dapat dilihat pada output dalam format notepad. Penentuan konformasi kompleks hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi yang memiliki skor docking paling rendah. Hasil *docking* divisualisasi menggunakan *webservice* <https://proteins.plus/>

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap awal penelitian ini adalah pengunduhan struktur molekul HMG-KoA reduktase yang diperoleh dari bank data protein dengan kode ID 1HW9. Sebelum dilakukan proses penambatan molekul, terlebih dahulu dilakukan validasi metode penambatan agar hasil yang diperoleh dapat diterima. Validasi metode penambatan ini dilakukan dengan cara penambatan ulang dari ligan yang terdapat dalam struktur kristal HMG-KoA reduktase, dengan membandingkan posisi ligan simvastatin terhadap sisi ikatan HMG-KoA reduktase dengan ligan asli seperti pada struktur Kristal (Hafidz et al., 2017). Penilaian terhadap validasi didasarkan pada *Root Mean Square Deviation* (RMSD), yang menunjukkan perbedaan posisi koordinat antara dua ligan yaitu ligan kompleks Kristal dengan ligan hasil penambatan ulang. Nilai RMSD yang didapat pada penelitian ini sebesar 1,6782 Amstrong, angka ini menunjukkan bahwa metode penambatan menggunakan software PLANTS memiliki presisi dan akurasi yang dapat diterima.

Penelitian ini memperoleh hasil bahwa semua senyawa aktif yang diuji memiliki *score* penambatan yang lebih kecil dari pada ligan pembanding simvastatin dan atorvastatin yaitu masing-masing -68,0176 dan -67,1836. Berdasarkan *score* ini, dimungkinkan potensi penghambatan semua senyawa aktif tanaman jahe dalam menurunkan kadar kolesterol HMG-KoA reduktase lebih poten dibandingkan dengan kedua ligan pembanding.

Tabel 1. Rata-rata *Score* Penambatan Ligan Pembanding dan Ligan Senyawa Tanaman Jahe

Ligan	<i>Score</i> Penambatan
Pembanding: Simvastatin	-68,0176
Pembanding Atorvastatin	-67,1836
Curcumin	-69,8139
Capsaisin	-71,4073
Gingerol	-69,8903
Shogaol	-71,5398
Paradol	-71,3519

Score penambatan 3 terbaik dari ligan senyawa metabolit sekunder tanaman jahe secara berturut-turut yaitu dimulai dari senyawa *Shogaol*, *Capsaisin* dan *gingerol* adalah -71,5398, -71,4073 dan -69,8903 kkal/mol. Ketiga senyawa ligan tersebut masih lebih rendah dibandingkan dengan ligan pembanding simvastatin dan atorvastatin yaitu -68,0176 dan -67,1836.

Studi docking dapat memprediksi afinitas antara ligan-reseptor berdasarkan jenis ikatan, jarak ikatan, energi sterik, interaksi atom-atom, karakter atom, serta faktor lainnya yang berhubungan dengan mekanika kuantum yang hasilnya konsisten terhadap afinitas dalam hal ini dapat dilihat interaksi atom-atom ataupun molekul-molekul antara reseptor-ligan dan dapat memperkirakan penetrasi obat dengan hukum lima Lipinski (Lipinski, 2004). Obat yang tidak memenuhi salah satu aturan Lipinski maka obat tersebut tidak dapat digunakan secara efektif dengan oral dan disarankan melalui injeksi karena akan berbahaya

didalam tubuh. Berikut hasil skrining prediksi Lipinski terhadap senyawa aktif tanaman jahe pada Tabel 2.

Tabel 2. Skrining Prediksi Lipinski Terhadap Senyawa Aktif Tanaman Jahe

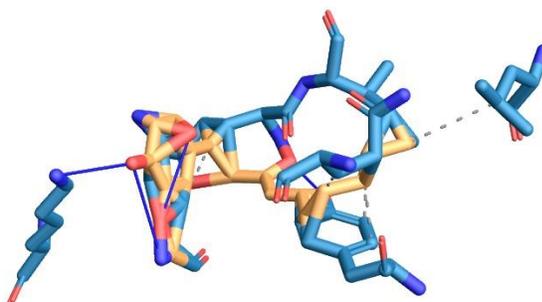
Ligan	Berat molekul	HB Donor	HB Aseptor	Log P	TopoPSA
Pembanding: Simvastatin	418.56622	1	5	4.5856	72.83
Pembanding Atorvastatin	558.6398032	4	7	6.3866	111.79
Curcumin	368.3799	2	6	3.3699	93.06
Capsaisin	305.41188	2	4	4.1805	58.56
Gingerol	294.391	2	4	3.2338	126.309
Shogaol	276.37066	1	3	4.039	46.53
Paradol	278.38654	1	3	4.263	46.53

Berdasarkan hasil filter aturan Lipinski, lima senyawa aktif dari jahe memenuhi *the rule of five* atau hukum lima Lipinski. Berdasarkan hasil analisa Log P kelima senyawa memenuhi hukum Lipinski Log P tidak lebih dari 5 yaitu 3.3699 (*Curcumin*), 4.1805 (*Capsaisin*), 3,2338 (*Gingerol*), 4,039 (*Shogaol*) dan 4,263 (*Paradol*). Dari kelima senyawa tersebut yang benar-benar poten adalah *Shogaol*, *Capsaisin*, dan yang lebih poten adalah *gingerol* dari obat simvastatin dan atorvastatin.

Selain memperhatikan nilai Log P, syarat lain agar suatu senyawa memiliki permeabilitas yang baik ialah berat molekul senyawa tidak lebih dari 500 Dalton. Hal ini dikarenakan apabila suatu senyawa memiliki molekul yang besar, maka akan menyulitkan senyawa tersebut untuk menembus membrane tubuh. Inilah yang nantinya akan mengganggu proses penetrasi suatu obat. Berdasarkan hasil diketahui bahwa semua senyawa ligan telah memenuhi syarat (BM tidak lebih dari 500 Dalton) yaitu sebesar 368.3799 Dalton (*Curcumin*), 305.41188 Dalton (*Capsaisin*), 294.391 Dalton (*Gingerol*), 276.37066 Dalton (*Shogaol*) dan 278.38654 (*Paradol*).

Dua syarat terakhir yang dapat menentukan kemampuan permeabilitas senyawa ialah jumlah H donor tidak lebih dari 5 dan H aseptor tidak lebih dari 10. H donor dan H aseptor menjelaskan bahwa semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Selain itu, ikatan hidrogen juga menunjukkan polaritas suatu senyawa dimana semakin banyak ikatan hidrogen maka senyawa akan semakin polar karena banyak berikatan dengan molekul oksigen dari air dalam cairan fisiologis. Berdasarkan hasil analisa sifat fisika kimia tersebut, dapat disimpulkan bahwa jumlah H donor dan aseptor dari kelima senyawa tersebut memenuhi syarat hukum Lipinski. Berdasarkan hasil yang diperoleh dari *score* penambatan dan uji skrining Lipinski, dilakukan visualisasi ligan terbaik yang dapat dijadikan kandidat obat baru pengganti simvastatin dan atorvastatin yaitu pada senyawa curcumin pada Gambar 1.

Secara umum statin bekerja dengan memperlambat produksi kolesterol dan meningkatkan kemampuan hati untuk mengeluarkan kolesterol dari dalam darah. Mekanisme kerja HMG-KoA reduktase merupakan perantara langkah awal biosintesis sterol. Statin menghambat reduktase HMG-CoA dengan membentuk sejenis asam mevalonat cincin terbuka.



Gambar 1. Visualisasi Residu Curcumin dengan Reseptor HMG-KoA Reduktase

Adanya inhibisi ini menyebabkan sintesis kolesterol terhambat, sehingga meningkatkan ekspresi reseptor LDL dan menurunkan degradasi reseptor LDL. Dari hasil penelitian ini, kelima senyawa tanaman jahe mempunyai potensi untuk dapat digunakan sebagai bahan kandidat obat baru penurun kadar kolesterol darah.

KESIMPULAN

Lima senyawa aktif tanaman jahe yang dilakukan pengujian secara *in-silico* dapat memberikan aktivitas penghambatan terhadap enzim HMG-KoA reduktase. Kelima senyawa ini memiliki potensi sebagai alternative obat baru pengganti simvastatin dan atorvastatin

DAFTAR PUSTAKA

- Jellinger, P. S., Smith, D. A., Mehta, A. E., Ganda, O., Handelsman, Y., Rodbard, H. W., Shepherd, M. D., & Seibel, J. A. (2012). American association of clinical endocrinologists' guidelines for management of dyslipidemia and prevention of atherosclerosis. In *Endocrine Practice* (Vol. 18, Issue SUPPL. 1). <https://doi.org/10.4158/ep.18.s1.1>
- Moore, K. J., & Tabas, I. (2011). Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. In *Cell* (Vol. 145, Issue 3). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.04.005>
- Aziz, S., Adliani, N., & Sukrasno, S. (2020). Penambatan molekul senyawa turunan orizanol terhadap enzim 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reduktase. *Journal of Science and Applicative Technology*, 4(1). <https://doi.org/10.35472/jsat.v4i1.191>
- Mulia, K., Muhammad, F., & Krisanti, E. (2017). Extraction of vitexin from binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves using betaine - 1,4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES). *AIP Conference Proceedings*, 1823. <https://doi.org/10.1063/1.4978091>
- Purnomo, H. (2011). *Kimia Komputasi, Molecular Docking PLANTS*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gunawan, S. G. (2016). Farmakologi dan Terapi Edisi VI. *Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia*.

- Usman Sumo Friend Tambunan. (2012). In silico design of cyclic peptides as influenza virus, a subtype H1N1 neuraminidase inhibitor. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(52). <https://doi.org/10.5897/ajb11.4094>
- Hafidz, K. A., Puspitasari, N., Azminah, Yanuar, A., Artha, Y., & Mun'Im, A. (2017). HMG-CoA reductase inhibitory activity of Gnetum Gnemon seed extract and identification of potential inhibitors for lowering cholesterol level. *Journal of Young Pharmacists*, 9(4). <https://doi.org/10.5530/jyp.2017.9.107>
- Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. In *Drug Discovery Today: Technologies* (Vol. 1, Issue 4, pp. 337–341). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>