

PREDIKSI SENYAWA BIOAKTIF DARI TANAMAN SANREGO (*Lunasia amara* Blanco) SEBAGAI INHIBITOR ENZIM SIKLOOKSIGENASE-2 (COX-2) MELALUI PENDEKATAN MOLECULAR DOCKING

Adriani¹²

ABSTRAK

Tanaman Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) secara empiris digunakan oleh masyarakat untuk mengobati luka dan infeksi. Kandungan senyawa kimia tanaman Sanrego berupa lunasin, lunacrin dan lunamarin. Belum diketahui secara pasti senyawa dari tanaman Sanrego yang berperan sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi senyawa bioaktif dari tanaman Sanrego yang berperan sebagai antiinflamasi melalui pendekatan *molecular docking*. Tahap penelitian terdiri atas preparasi ligan-reseptor, simulasi docking menggunakan software *autodock vina* dan analisis interaksi ligan-reseptor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa lunacrin memiliki nilai *binding affinity* yang paling kecil diantara semua senyawa kimia tanaman Sanrego. Interaksi antara lunacrin dan enzim COX-2 terjadi melalui ikatan hidrogen yang dihubungkan oleh residu asam amino Tyr 341. Selain itu lunacrin memenuhi persyaratan untuk melewati membran sel berdasarkan uji Lipiski. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa lunacrin berperan sebagai antiinflamasi berdasarkan hasil *molecular docking*.

Kata kunci : Sanrego, antiinflamasi, Lunacrin, enzim COX-2. *molecular docking*

PENDAHULUAN

Inflamasi merupakan reaksi fisiologis tubuh terhadap masuknya antigen maupun agen antiinfeksi ke dalam tubuh. Gejala inflamasi berupa rasa nyeri, panas, dan kemerahan pada organ yang mengalami kerusakan. Gejala inflamasi muncul sebagai akibat *release* mediator inflamasi berupa prostaglandin, yang disintesis dari asam arakidonat dengan bantuan enzim siklooksigenase 1 dan 2 (COX-1 dan COX-2). Prostaglandin berperan sebagai molekul sinyal terhadap *release* sejumlah antibodi oleh sel sebagai respon jaringan terhadap antigen asing (Ricciotti and Garret, 2011). Ketika terjadi inflamasi, kadar COX-2 meningkat, sehingga prostaglandin yang disintesis lebih banyak, dengan demikian rasa nyeri juga meningkat. Kondisi yang demikian membutuhkan obat antiinflamasi untuk mengurangi rasa nyeri pada pasien.

Salah satu senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim COX-2 adalah celecoxib. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa celecoxib menghambat aktivitas enzim COX-2 lebih baik daripada aspirin (Setiaji, 2012). Secara umum, mekanisme kerja obat antiinflamasi adalah menghambat aktivitas enzim COX-2 sehingga produksi prostaglandin menurun (Rao and Edward, 2008). Pemakaian obat sintetik dalam jangka panjang memicitombosis, gangguan pencernaan, gangguan kardiovaskuler dan peningkatan resiko stroke (Aronson, 2009; Scarpignato *et al.*, 2015; Pirlamarla and Bond, 2016). Untuk mengatasi hal tersebut, maka pemanfaatan tanaman herbal menjadi solusi untuk meminimalisir efek samping yang timbul. Salah satu tanaman yang memiliki efek antiinflamasi adalah tanaman Sanrego (*Lunasia amara*). Secara empiris, Sanrego digunakan oleh masyarakat untuk mengurangi bengkak akibat

¹ Program Studi Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

² Dosen Program Studi Pendidikan Biologi STKIP Pembangunan Indonesia Makassar

inflamasi (Macabeo, 2008; Hasnaeni *et al.*, 2016). Kandungan senyawa bioaktif tanaman Sanrego berupa lunakrin, lunacridin, lunasin, hidroxygraveolin dan scopoletin (Zubair, 2016; Hasnaeni, 2016). Penelitian yang berkaitan dengan efek antiinflamasi dari senyawa bioaktif tanaman Sanrego melalui penghambatan aktivitas enzim COX-2 belum pernah dilakukan sehingga belum diketahui senyawa yang paling berperan sebagai agen antiinflamasi.

Penelitian berbasis komputasi atau berupa *molecular docking* merupakan salah satu metode skrining dalam menemukan senyawa dari tanaman. Pemanfaatan *molecular docking* sebagai prediksi awal dalam pencarian senyawa bioaktif telah membuka peluang untuk mendapatkan senyawa dari tanaman maupun mikroorganisme yang potensial sebagai obat. Selain itu penggunaan *molecular docking* memberikan kemudahan berupa efisiensi waktu dan biaya dibandingkan dengan penelitian secara *in vitro* dan *in vivo*.

Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi senyawa bioaktif dari Sanrego yang potensial sebagai anti inflamasi melalui pendekatan *molecular docking*. Parameter yang diamati berupa binding affinity atau energi bebas Gibbs (ΔG), jenis ikatan kimia yang terbentuk, panjang ikatan, serta daerah pengikatan.

METODOLOGI

Alat dan bahan : piranti lunak berupa software Pyrx, Pymol, Discovery Studio, processor E202S Intel Celeron Dual-Core N3050 Intel HD Graphics, RAM 2 GB, HDD 500 GB. Reseptor COX-2, ligand berupa scopoletin, lunacrin, lunamarine, lunasin, skimmianine, kokusagine, dan Orixalone A. Senyawa kontrol yang digunakan adalah Celecoxib.

Prosedur penelitian

Reseptor COX-2 dalam bentuk 3D diperoleh dari *protein data bank* (PDB) dengan nomor ID 3LN1 dan disimpan dalam bentuk *pdb.file*. Ligan yang akan digunakan berupa struktur 3D dari scopoletin, lunacrin, lunamarine, lunasin, skimmianine, kokusagine, dan Orixalone A yang diperoleh dari Pubchem. Dan disimpan dalam bentuk *sdf.file*. Reseptor dipreparasi menggunakan software PyMol untuk menghilangkan molekul air, sehingga diperoleh reseptor yang nantinya hanya akan bereaksi dengan ligan. Reseptor kemudian disimpan dalam bentuk *pdb.file* sedangkan ligan disimpan dalam bentuk *sdf.file*

Doking molekuler dan analisis data

Proses doking antara reseptor dan ligan dilakukan menggunakan software Pyrx. Sebelum dilakukan docking, terlebih dahulu dilakukan pengaturan terhadap koordinat penambatan (x,y,z) reseptor terhadap ligan. Proses doking dilakukan menggunakan *autodock vina* untuk melihat nilai *binding affinity* yang terbentuk antara ligan-reseptor. Visualisasi jenis ikatan yang terbentuk dilakukan menggunakan software Discovery studio dan Pymol. Untuk mengetahui kemampuan ligan untuk menembus dinding sel maka dilakukan uji *Lipinski Rule* pada <http://www.scfbio-itt.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *docking* antara protein COX-2 dengan ligan dari tanaman Sanrego menunjukkan bahwa semua ligan dapat berinteraksi dengan enzim COX-2. Ligan dengan nilai *binding affinity* paling kecil adalah lunacrin (-9,1), kemudian lunamarin (-9.0) dan kokusagine (-8,8). Nilai *binding affinity* ligan masih lebih kecil dibandingkan

dengan nilai senyawa kontrol celecoxib yaitu sebesar 12,4. Nilai *binding affinity* menunjukkan energi terkecil yang digunakan oleh reseptor untuk berinteraksi dengan ligan. Semakin kecil nilai *binding affinity* maka interaksi antara ligan dan reseptor semakin stabil. Nilai negatif yang diperoleh menunjukkan bahwa interaksi antara ligan dan reseptor berlangsung secara spontan (Berk *et al.*, 2007). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ikatan antara lunakrin dengan enzim COX-2 terjadi secara spontan dan nilai yang diperoleh mendekati nilai *binding affinity* ligan pembanding. Nilai *binding affinity* antara ligan dan enzim COX-2 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai *binding affinity* dan jenis ikatan yang terbentuk pada interaksi ligan dan reseptor (COX-2)

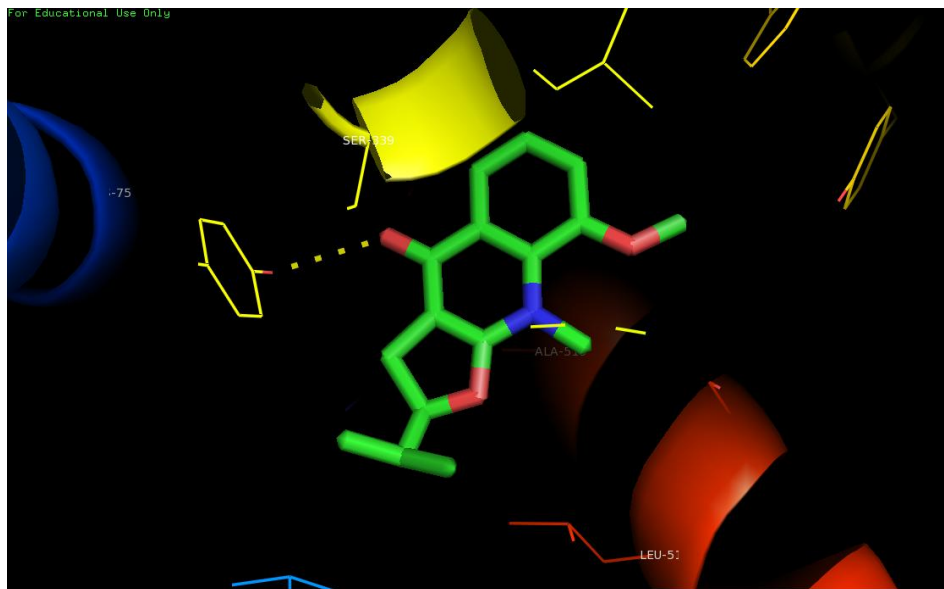
Ligan	Binding affinity (Kkal/mol)	Residu asam amino	Jenis ikatan
Lunakrin	-9,1	Tyr 341 Met 99; Arg 108; Ser 339; Phe 504; Trp 373; Tyr 371; Ser 516	Ikatan hidrogen Ikatan van der Waals
Lunamarin	-9,0	Tyr 341; His 74; Arg 499; Ala 502; Gln 178; Ile 503; Phe 504; Gly 512; Met 508; Leu 370; Phe 367; Ser 516; Leu 520; Val 330; Phe 191; Tyr 334	Ikatan van der Waals
Kokusagine	-8,8	Tyr 341 Ser 339; Arg 499; Arg 106; Ser 516; Leu 517; Phe 504	Ikatan hidrogen Ikatan van der Waals
Lunasin	-8,8	Met 99; Ser 516; Tyr 334; Trp 373; Phe 504; His 75; Ser 339; Arg 106	Ikatan van der Waals
Orixalon A	-7,8	Ser 516; Tyr 371 Gly 512; Leu 338; Tyr 334; Ser 339; Tyr 341; Arg 106; Val 102	Ikatan hidrogen Ikatan van der Waals
Scopoletin	-7,9	Tyr 341 Ile 503; Phe 504; Val 335; Ser 339; His 75; Arg 449; Gln 178	Ikatan hidrogen Ikatan van der Waals
Skimmianine	-7,6	Arg 106; Tyr 341; His 75; Arg 499; Phe 504; Gly 512; Met 508; Trp 373; Tyr 334; Ser 516	Ikatan van der Waals
Lunacridin	-7,1	Gln 178; Ile 503; Arg 499; Leu 345; Leu 517; Ser 516	Ikatan van der Waals
Celecoxid	-12,4	Arg 499; His 75; Ser 339 Arg 106; Phe 367; Ser 516; Leu 345; Leu 517; Tyr 341; Val 102; Ile 503; Thr 79; Gly 340; Gln 178; Ala 502; Leu 338; Met 508	Ikatan hidrogen Ikatan van der Waals

Enzim COX-2 berinteraksi dengan reseptor lunacrin pada *binding sitenya*, membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino Tyrosin 341. Demikian juga dengan scopoletin dan kokusagine. Pada ligan kontrol celecoxid, residu asam amino Tyr 341 membentuk ikatan van der Waals. Residu asam amino, Arg 499, His 75 dan Ser 339 pada ligan kontrol berinteraksi dengan enzim COX-2 melalui ikatan hidrogen. Berdasarkan hasil analisis, residu asam amino Ser 516, Tyr 341 dan Ser 339 merupakan residu yang paling sering berinteraksi dengan ligan. Residu residu tersebut

kemungkinan merupakan key residu dalam reaksi penghambatan aktivitas enzim COX-2.

Selain ikatan hidrogen, juga terdapat ikatan Van der Waals yang turut berkontribusi terhadap interaksi ligan dengan enzim COX-2. Dapat dilihat pada gambar 2. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang kuat dibandingkan dengan ikatan Van der Waals. Hal ini disebabkan karena ikatan hidrogen dapat terbentuk meskipun jarak antara ligan dan reseptor cukup jauh. Hal ini berbeda dengan ikatan Van der Waals yang hanya terbentuk ketika jarak ligan dan reseptor berdekatan yaitu $4-6\text{\AA}$ (Lodish *et al.*, 2000)

Lunakrin dan lunamarine tergolong senyawa alkaloid, namun kemampuannya sebagai antiinflamasi belum pernah dilaporkan. Hal ini membuka peluang untuk mengembangkan lunakrin sebagai salah satu kandidat senyawa antiinflamasi berdasarkan hasil *molecular docking*. Senyawa lain dari tanaman Sanrejo yang diketahui memiliki efek antiinflamasi adalah scopoletin (Hasnaeni, 2016). Namun pada penelitian ini nilai *binding affinity* scopoletin (-7,5) lebih besar dibandingkan dengan lunakrin (-9,1). Hal ini diperkirakan terkait dengan struktur kimia antara scopoletin dan lunakrin. Scopoletin ($\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_4$) memiliki struktur yang lebih sederhana dibandingkan lunakrin ($\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_3$). Keberadaan gugus N pada lunakrin ($\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{NO}_3$) dan celecoxib ($\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$) diperkirakan mempengaruhi nilai *binding affinity* yang diperoleh.



Gambar 1 : Visualisasi interaksi antara lunakrin dan enzim COX-2.

Lunackrin (warna hijau) berinteraksi dengan asam amino dari enzim COX2 melalui ikatan hidrogen (garis putus-putus warna kuning)

Untuk menentukan sifat fisikokimia suatu ligan ketika melintasi membran sel dalam tubuh maka dilakukan uji Lipinski. Syarat yang harus dipenuhi oleh suatu ligan berdasarkan aturan Lipinski adalah berat molekul < 500 Da, nilai LogP < 5, ikatan hidrogen donor < 5, ikatan hidrogen akseptor < 10 dan *molar refractivity* antara 40-130. Ligan dengan berat molekul < 500 Da lebih mudah menembus membran sel dibandingkan ligan yang berat molekulnya > 500 Da. Nilai logP berkaitan dengan polaritas ligan dalam pelarut lemak, minyak maupun pelarut non polar. Ligan dengan nilai log P > 5 akan berinteraksi lebih mudah menembus lapisan lipid bilayer pada

membran sel dan terdistribusi luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan sensitifitas ikatan ligan terhadap molekul target berkurang dan toksisitas ligan meningkat. Semakin kecil nilai log P maka ligan cenderung larut dalam air dan bersifat hidrofobik (Dwi dan Abdul, 2011). Nilai Log P ligan tidak boleh negatif karena tidak dapat melewati membran lipid bilayer (Jumlah ikatan hidrogen pada donor dan akseptor berkorelasi dengan aktivitas biologi suatu ligan/obat (Lipinski, 2001; Syahputra, 2014). Berdasarkan aturan Lipinski maka senyawa dari tanaman Sanrego yang memenuhi kriteria adalah scopoletin, lunasin dan lunakrine. Dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 2 : Sifat ligan berdasarkan aturan Lipinski

Ligand	Rumus struktur	Berat molekul (Da)	Jumlah Ikatan Hidrogen-donor	Jumlah Ikatan Hidrogen-akseptor	Molar refractivity	Log P
Scopoletin	C ₁₀ H ₈ O ₄	192.	1	4	49.327793	1.333000
Skimmianine	C ₁₄ H ₁₃ NO ₄	259	0	5	71.170982	3.006799
Orixalone A	C ₁₇ H ₂₁ NO ₄	303	0	5	84.794968	2.644300
Lunasin	C ₁₇ H ₂₂ NO ₃ ⁺	289	0	3	82.323982	3.041089
Lunamarine	C ₁₈ H ₁₅ NO ₄	309	0	5	86.269470	3.097499
Lunacridine	C ₁₇ H ₂₃ NO ₄	305	1	5	85.794769	2.436100
Kokusagine	C ₁₃ H ₉ NO ₄	243	0	5	64.189987	2.718299
Lunacrine	C ₁₆ H ₁₉ NO ₃	273	0	4	77.081474	2.984200
Celecoxid	C ₁₇ H ₁₄ F ₃ N ₃ O ₂ S	381	2	4	90.319397	4.785320

SIMPULAN

Prediksi senyawa dari tanaman Sanrego yang berperan sebagai antiinflamasi melalui penghambatan aktivitas enzim COX-2 adalah lunacrin, dengan nilai *binding affinity* sebesar -9,1. Nilai tersebut hampir mendekati nilai kontrol celecoxib

DAFTAR PUSTAKA

- Aronson, J.K., 2009. *Meyler's Side Effects of Analgesics and Anti-inflammatory Drugs*. Amsterdam: Elsevier
- Dwi, H., dan Abdul, K., 2011. *Pengantar Kimia Komputasi*. Lubuk Gung Press, Bandung
- Hasnaeni, Sudarsono, Nurrochmad, A., dan Widyarini, S., 2016. Anti-Inflammatory Effect Of Beta-Beta Wood Ethanolic Extract (*Lunasia amara* Blanco) in Mice Model Of Rheumatoid Arthritis. *International Journal Of Toxicological And Pharmacological Research* 8(5); 353-359
- Lipinski CA, Lombardo F, Segawa T, Ko D. 2001. Experimental and Computational Approaches To Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovey and Development Setting. *Adv Drug Deliv Rev.* 46: 3-26.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J. (2000). *Mollecular Cell Biology* 4th Edition. New York: W.H Freeman Company
- Macabeo, A.P.G dan Aguinaldo, A.M., 2008. Plant review : Chemical and Phitomedicinal Investigations in *Lunasia amara*. *Pharmacognosy Reviews.* 2(4); 317-325.
- Pirlamarta, P., and Bond., 2016. FDA Labelling of NSAIDs: Review of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs In Cardiovascular Disease. *Trend Cardiovasc Med.*,26(8); 675-680

- Rao, P.P.N., and Edward, E.K., 2008. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) : Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science* 11(2): 81-110
- Ricciotti, E., and Garret, A.F., 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arteriosler Tromb Vasc Biol.*31(5): 986-1000
- Scarpignato, C., Angel L., Corrado, B., Willem, F.L., Mathias, H., Richard, H.H., 2015. Safe Prescribing Of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs In Patients With Osteoarthritis – An Expert Consensus Addressing Benefits As Well As Gastrointestinal And Cardiovascular Risks. *BMC Med.*13 (55)
- Setiaji, M.A., 2012. Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekul Kompleks Siklooksigenase-2 Dengan Beberapa Senyawa 3-Fenil-2Stiril-4(3H)-Kuiazolinon Tersubstitusi Sulfonamide Atau Sulfasetamida. *Skripsi.* FMIPA-UI Depok
- Syahputra, G., Ambarsari, L., Sumaryada, T., 2014. Simulasi *Docking* Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika* 10(1): 55-67
- Zubair, M.S., Syariful, A., Subehan, L., 2016. Cytotoxic Activity And Phytochemical Standarization of Lunasia amara Blanco Wood Extract. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine* 6(11); 962-966