

DOCKING MOLEKULER POTENSI ANTI INFLAMASI *QUERSETIN* DAUN KELOR
(*Moringa oleifera* L.) DENGAN AUTODOCK-VINAMOLECULAR DOCKING AS POTENTIAL ANTI-INFLAMMED *QUERSETIN* OF
MORINGA LEAVES (*Moringaoleifera* L.) WITH AUTODOCK-VINADiyan Sakti Purwanto^{1*}, Hari Susanti², Nining Sugihartini³¹Mahasiswa Pasca Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan²Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan³Laboratorium Teknologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitasmad Dahlan*(Email: diyansaktipurwanto@gmail.com/085647312008)

ABSTRAK

Inflamasi merupakan suatu respon terhadap cedera jaringan yang melibatkan proses fisiologi berupa aktivasi enzim siklooksigenase (COX) yang memiliki dua isoform yaitu enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2). Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki kandungan quersetin yang telah menunjukkan aktivitas anti-inflamasi dengan menghalangi sintesis dan pelepasan histamin dan mediator-mediator alergis inflamator lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui peran quersetin pada daun kelor sebagai anti inflamasi ligan 6 COX cyclooxygenase-2 (cox-2) dengan aplikasi autodock vina. Metode yang dilakukan adalah semua ligan dilakukan docking molekuler menggunakan program AutoDock Vina. Hasil yang diperoleh berupa nilai binding affinity (kkal/mol) ligan terhadap protein. Program Ligplot+ digunakan untuk memvisualisasikan konformasi 3D molekul dan interaksi ligan-protein. Perangkat keras yang digunakan notebook ASUS dengan spesifikasi Windows 10 64 bit. Berdasarkan molekuler docking maka quersetin memiliki potensi aktivitas sebagai antiinflamasi karena memiliki afinitas dan membentuk ikatan hidrogen cox 6 secara in-silico dan dapat dilanjutkan uji aktivitas secara in vitro di laboratorium untuk mendapatkan hasil sebagai antiinflamasi.

Kata kunci: Daun kelor (*Moringa oleivera* L.), anti inflamasi, quersetin, docking molekuler

ABSTRACT

Inflammation is a response to tissue injury that involves a physiological process in the form of activation of the cyclooxygenase (COX) enzyme which has two isoforms, namely the cyclooxygenase-1 (COX-1) and cyclooxygenase-2 (COX-2) enzymes. The leaves of Moringa (Moringa oleifera L.) contain quercetin which has shown anti-inflammatory activity by blocking the synthesis and release of histamine and other inflammatory allergic mediators. This study aims to determine the role of quercetin in Moringa leaves as an anti-inflammatory ligand 6 COX cyclooxygenase-2 (COX-2) with the application of autodock vina. The method used was that all ligands were docking molecularly using the AutoDock Vina program. The results obtained are the binding affinity (kcal / mol) of the ligand to protein. The Ligplot + program is used to visualize the 3D conformation of molecules and ligand-protein interactions. The hardware used by ASUS notebooks with Windows 10 64 bit specifications. Based on molecular docking, quercetin has a potential activity as an anti-inflammatory because it has affinity and forms hydrogen cox 6 bonds in-silico and can be continued with in vitro activity tests in the laboratory to get results as anti-inflammatory.

Keywords: *Moringa (Moringa oleivera L.) leaves, anti-inflammatory, quercetin, molecular docking*

PENDAHULUAN

Daun tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.) mengandung mineral dan senyawa kimia antara lain flavanoid, saponin dan tanin. *Quersetin* adalah senyawa kelompok *flavonol* terbesar. *Quersetin* dan glikosidanya berada dalam jumlah sekitar 60-75% dari *flavonoid* [1]. Dari studi in vitro *quersetin* telah menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang signifikan dengan menghambat sintesis dan pelepasan histamin dan mediator-mediator alergis inflamator lainnya [2].

Inflamasi merupakan suatu respon

terhadap cedera jaringan yang melibatkan proses fisiologis berupa aktivasi enzim siklooksigenase (COX) yang memiliki dua isoform yaitu enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) [3]. Penggunaan obat antiinflamasi golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid mempunyai efek samping dalam penggunaan jangka panjang [4]. Untuk mengetahui potensi quersetin sebagai anti inflamasi maka perlu dilakukan docking molekuler.

Docking molekuler merupakan metode

komputasi untuk memprediksi apakah senyawa tersebut mempunyai aktifitas sebelum diujikan [5]. Percobaan dengan docking molekuler ini untuk melihat potensi quersetin sebagai antiinflamasi melalui aktifitas dalam menghambat cyclooxygenase-2. Molecular docking dapat dilakukan dengan banyak software yang dapat di download dengan gratis. Penelitian ini menggunakan perangkat lunak *AutoDock 4.2*, *Biovia Discovery Studio Visualizer*, *Ligplot 4.5.3*, *MGL Tools* [6].

BAHAN DAN METODE

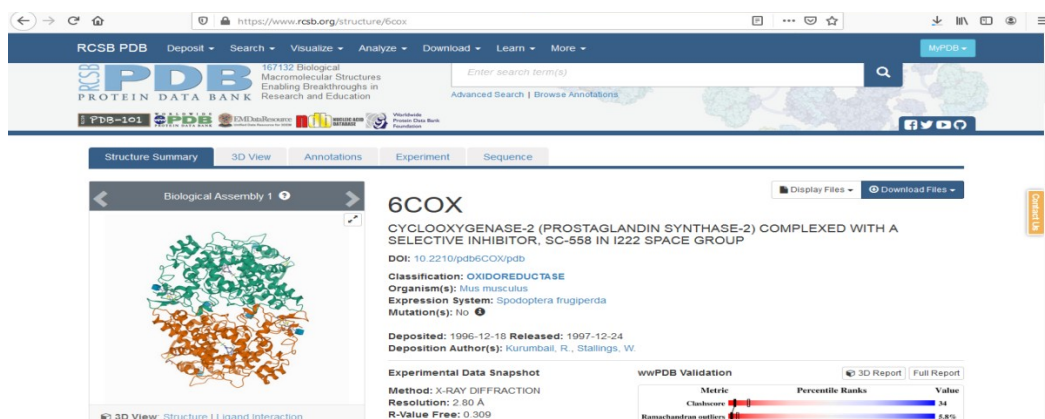
Alat dan Bahan

Perangkat keras yang digunakan yaitu notebook ASUS dengan spesifikasi Windows 10

64 bit dan perangkat lunak yang digunakan adalah *AutoDock 4.2*, *Biovia Discovery Studio Visualizer*, *Ligplot 4.5.3*, *MGL Tools*, *Autodock Vina*, *Command Window*.

Subjek Penelitian

Kristal protein target yang digunakan dapat diunduh dari www.pdb.org dengan X-Ray diffraction resolusi pengukuran adalah 1,59Å yang disajikan pada gambar 1. Ligan yang digunakan adalah quersetin senyawa anti inflamasi yang telah dipersiapkan dan dilakukan preparasi dengan reseptor *6COX cyclooxygenase-2 (prostaglandin synthase-2) complexed with a selective inhibitor, sc-558 in I222 space group* (Gambar 2).



Gambar 1. www.pdb.org untuk mencari struktur

Prosedur Penelitian

Preparasi Protein dan Ligan

Perangkat lunak Chimera digunakan untuk memisahkan *native ligand* dari protein sehingga memperoleh berkas *native ligand*, protein tanpa ligan dengan mengabaikan keberadaan air dalam ekstensi pdb. Ligan senyawa anti inflamasi dihasilkan dengan memanfaatkan Marvin Bean Suite. Protein dan ligan dipersiapkan untuk menjadi berkas siap pakai berekstensi pdb dengan program *Discovery Studio*.

Validasi Metode Docking

Docking molekuler terhadap ligan natif dilakukan untuk mencari konformasi 3D *native ligand* terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat pusat dan besaran *gridbox* dari *binding site pocket* dalam satuan angstrom

(Vina) atau *number of points* (AutoDock) [7]. Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi *native ligand* hasil pengukuran Gkristalografi yang dinyatakan dalam nilai *root mean square deviation* (RMSD).

Docking Molekular dan Analisis Data

Docking ligand uji dilakukan untuk menghasilkan nilai *binding energy* dalam satuan kkal/mol [8]. Nilai *binding energy* yang digunakan adalah yang memperoleh nilai semakin minus IG ditentukan dengan membandingkan luas daerah di bawah kurva [9].

HASIL

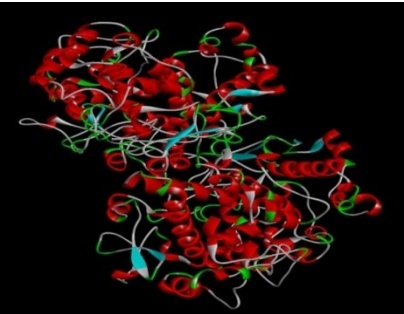
Bagian hasil menguraikan tentang karakteristik subjek penelitian, analisis univariat, analisis bivariat dan analisis multivariat (jika ada). Pada bagian ini TIDAK

DIPERBOLEHKAN memasukkan tabel dan gambar. Interpretasi hasil penelitian dibuat dalam bentuk naratif, tabel dan gambar dibuat terpisah di bagian lampiran. Penulisan menggunakan Times New Roman 11 point (tegak) dengan spasi 1,5. Paragraf diawali dengan kata yang menjorok ke dalam 5 digit dan tidak boleh menggunakan pengorganisasian penulisan ke dalam *sub-headings* untuk setiap variabel.

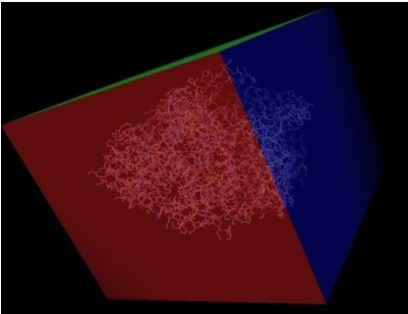
Ligan dan protein yang telah diunduh dipreparasi sehingga diperoleh protein tanpa ligan dan air dengan perangkat lunak *Discovery Studio*. Berkas protein dipreparasi dengan program *Autodock 4.2* untuk menambah ikatan hidrogen polar kemudian di merge lalu diikat dengan ligan dan selanjutnya dipersiapkan untuk dimasukkan kedalam *grid box*. Validasi dengan

menggunakan *gridbox* antara ligan dan protein dilakukan setiap *algoritma docking*³.Proses docking perlu membuat *gridbox* untuk menentukan nilai koordinat pusat serta besaran *gridbox* tempat interaksi ligan dan protein, sehingga *gridbox* harus menutupi semua ligan dan reseptor. Data docking kemudian disajikan dalam berkas *config.txt*. Nilai dimensi dan pusat massa diperoleh dari hasil pembuatan *gridbox* yang dioptimasi.

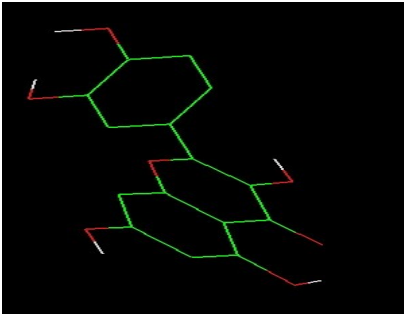
Ligan atau senyawa uji dalam penelitian ini adalah daun kelor (*Moringa oleifera* L.) berupa senyawa *quersetin* dengan reseptor 6 COX *cyclooxygenase-2 (prostaglandin synthase-2) complexed with a selective inhibitor, sc-558 in 1222 space group* (Gambar 2), (Gambar 3) dan (Gambar 4).



Gambar 2. Struktur 6COX cyclooxygenase-2 (prostaglandin synthase-2) complexed with a selective inhibitor, sc-558 in 1222 space group belum di preparasi



Gambar 3. Reseptor yang sudah di preparasi



Gambar 4. Ligan yang sudah di preparasi

PEMBAHASAN

Dari proses docking didapat data bahwa *quersetin* memiliki konformasi yang mirip dengan hidrokuinon yang menggunakan algoritma Vina. Sistem docking untuk pusat massa dan besaran volume *gridbox* sudah sesuai. Penambatan antara ligan dengan reseptor diketahui kekuatannya dari bentuk ligan yang mempunyai energi terkecil. *Binding affinity* adalah nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor. Jika semakin besar nilai afinitas ikatan, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin rendah. Semakin kecil nilai afinitas binding, maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi.

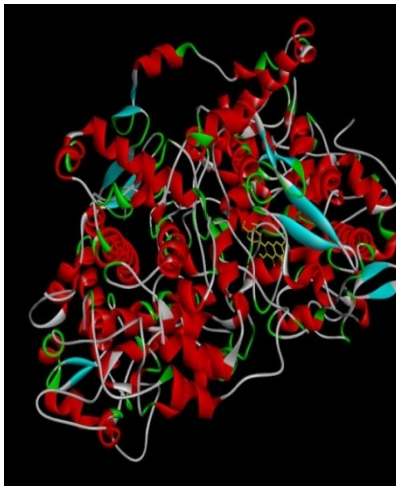
Parameter yang dianalisis dalam studi docking ini adalah residu asam amino, ikatan hidrogen, dan energi bebas ikatan (ΔG). Hasil docking, menunjukkan bahwa senyawa uji quersetina dapat berinteraksi dengan 6 COX *cyclooxygenase-2*. Terdapat interaksi antara Tyr 130 dengan Asn 39. Interaksi ligan-reseptor terjadi karena ada ikatan hidrogen, ikatan Van der Waals dan atau interaksi eletrostastik (Gambar 5).

Pada *cyclooxygenase-2* membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino Arg44 (A) dan Cys41 (A) pada quersetin. Oksigen dari senyawa uji membentuk dua ikatan hidrogen dengan atom O dan H pada Arg44 dengan jarak ikatan

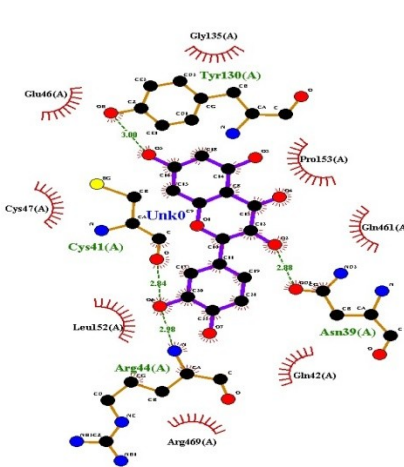
masing-masing 2,98 dan 2,84, sedangkan interaksi ligan-reseptor di Cys41 terjadi antara satu atom N dengan C dari Cys41 (Gambar 6)

Energi bebas ikatan (ΔG) menunjukkan kestabilan interaksi (ikatan) ligan dengan cyclooxygenase-2 pada bindingsite [10]. Semakin besar nilai energi bebas maka semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor. Senyawa

quersetin memiliki nilai energi ikatan bebas yang besar (-10.6 kkal/mol). Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa *quersetin* mempunyai afinitas yang baik terhadap reseptor *6COX (cyclooxygenase-2)* (Gambar 7). Sehingga senyawa *quersetin* dalam tanaman kelor terbukti secara aktif terapeetik sebagai antiinflamasi secara komputasi pada laboratorium kering.



Gambar 5. Ligan dan reseptor hasil docking



Gambar 6. Visualisasi interaksi ligan-reseptor dengan Ligpot

WARNING: The search space volume > 27000 Angstrom³ (See FAQ)
Detected 8 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -649508984
Performing search ...
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%

done.
Refining results ... done.

mode	affinity !(kcal/mol)	dist from best node ! rmsd l.b.!	rmsd u.b.
1	-10.6	0.000	0.000
2	-10.2	2.157	4.009
3	-10.0	3.745	8.248
4	-10.0	21.996	23.506
5	-9.9	46.042	48.506
6	-9.9	24.612	26.377
7	-9.9	46.488	47.991
8	-9.8	46.584	48.197
9	-9.8	22.373	24.783

Writing output ... done.

Gambar 7. Visualisasi interaksi ligan-reseptor dengan Ligpot

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan molekular docking maka *quersetin* memiliki potensi aktivitas sebagai anti inflamasi karena memiliki afinitas dan membentuk ikatan hydrogen cox 6 secara in-silico dan dapat dilanjutkan uji aktivitas secara in vitro di laboratorium untuk mendapatkan hasil sebagai antiinflamasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. A. B. Manggara and M. Shofi. 2018. Analisis Kandungan Mineral Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) Menggunakan Spektrometer XRF (X-Ray Fluorescence). *Akta Kimia Indonesia*. vol. 3, no. 1, p. 104. doi: 10.12962/j25493736.v3i1.3095.

2. M. Al Karim. 2018. Analisis Docking Molekuler Senyawa Dlavonoid dan Steroid terhadap Enzim Siklooksigenase dan Fosfolipase. *Skripsi*. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.

3. Sudewa and I. B. Ari. 2017. Siklooksigenase, jalur arakidonat, dan nonsteroidal anti inflammatory drugs.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan atas dukungan dan bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini guna pengembangan proses *drug discovery and development*.

4. R. A. Rachmania, R. Zikriah, and A. Soultan. 2018. Studi In Silico Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX) In Silico Study of Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum Asiaticum* L.) on Inhibition of Cyclooxygenase Enzyme (COX). *J. Kimia. Val.*, vol. 4, no. November, pp. 124–136, 2018.

5. W. Forli, S. Halliday, R. Belew, and A. Olson. 2012. AutoDock Version 4.2,” *Citeseer*, pp. 1–66. [Online]. Available: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download>

- ad?
doi=10.1.1.363.3063&rep=rep1&type=pdf.
6. K. E. Saputri, N. Fakhmi, E. Kusumaningtyas, D. Priyatama, and B. Santoso. 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chim. Nat. Acta.* vol. 4, no. 1, p. 16. doi: 10.24198/cna.v4.n1.10443.
 7. T. A. Listyani and R. Herowati. 2018. Analisis Docking Molekuler Senyawa Derivat Phthalimide sebagai Inhibitor Non-Nukleosida HIV-1 Reverse Transcriptase. *Jurnal Farmasi Indonesia.* vol. 15, no. 2, pp. 123–134. doi: 10.31001/jfi.v15i2.445.
 8. D. P. D. Saputra. 2018. Molecular Docking Sianidin dan Peonidin sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis Secara In Silico. *J. Farmasi Udayana.* vol. 7, no. 1, p. 28. doi: 10.24843/jfu.2018.v07.i01.p04.
 9. G. L. Warren. 2006. A critical assessment of docking programs and scoring functions. *J. Med. Chem.* vol. 49, no. 20, pp. 5912–5931. doi: 10.1021/jm050362n.
 10. G. Syahputra, L. Ambarsari, and T. Sumaryada. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol , Bismetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase,” *J. Biofisika.* vol. 10, no. 1, pp. 55–67.