

Docking Molekuler Senyawa Brazilein Herba Caesalpina Sappanis Lignum Pada Mycobacterium Tuberculosis Inha Sebagai Antituberkulosis

A.Wahyu Suryadi Ningrat

Pascasarjana Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, Indonesia

E-mail: andiwahyusuryadi.ningrat@gmail.com

Abstrak

TB adalah penyakit menular yang disebabkan *M.tuberculosis*. Penemuan kandidat obat baru dalam penanggulangan TB sangat penting karena beberapa obat TB sudah tidak mempan lagi. *Caesalpina sappanis Lignum* dapat menjadi kandidat dalam pengembangan obat baru karena mengandung senyawa khas berupa *brazilien*. Salah satu aktifitas dari *brazilien* yakni sebagai antimikroba dengan mekanisme penghambatan yang belum diketahui. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme interaksi senyawa *Brazilien* terhadap penghambatan *Mycobacterium tuberculosis InhA* secara komputasi. *Mycobacterium tuberculosis InhA* dipreparasi menggunakan *Discovery Studio Visualizer* sedangkan ligan dipreparasi dengan *Autodock 4.2*. Docking antara ligan dan protein menggunakan *Autodock-Vina*. Media yang digunakan untuk proses docking adalah notebook berspesifikasi Intel(R) Celeron(R) CPU N3060 @1.60Hz 1.60 GHz, RAM 2.00 GB system operasi Windows 10 64-bit. Hasil docking didapatkan nilai *binding affinity* *Brazilien* terhadap *Mycobacterium tuberculosis InhA* yaitu -13,04 kcal/mol dengan nilai RMSD 1,15.

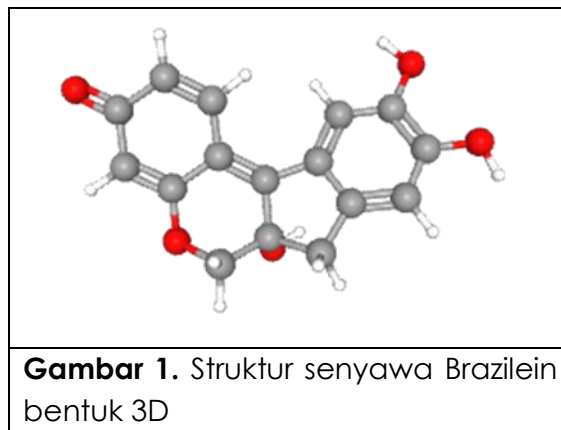
Kata kunci : *Autodock, Brazilien, secang, docking, Tuberkulosis*

PENDAHULUAN

Tuberkulosis atau biasa disebut TB merupakan penyakit menular yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis* dan telah menjangkit umat manusia selama ribuan tahun (Bortoluzzi dkk, 2013). Secara global, pada tahun 2018 diperkirakan 10 juta jiwa terjangkit tuberkulosis dengan angka kematian berkisar 1,2 juta jiwa (Organization, W. H. 2019). Sebanyak 10% dari total kasus TB berada di Indonesia. Hal ini menempatkan Indonesia berada pada urutan ketiga penderita tuberkulosis paru terbanyak didunia setelah India dan China (Irwan dkk. 2021) Penanganan kasus tuberkulosis menjadi salah satu prioritas nasional karena berdampak luas terhadap kualitas hidup, ekonomi serta sering mengakibatkan kematian[4]. Transkripsi oleh bakteri RNA polymerase adalah titik kunci dari ekspresi gen dan target penting untuk perkembangan

Mycobacterium tuberculosis sebagai bakteri penyebab TB (Bortoluzzi, dkk, 2013)

Beberapa produk bahan alam seperti kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) mengandung senyawa brazilein yang merupakan senyawa marker dengan memiliki potensi sebagai antimikroba. Air rebusan kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*) disinyalir sebagai pengobatan tradisional terkait tuberculosis.. Tanaman ini diduga berpotensi sebagai antitubekulosis karena memiliki senyawa *Brazilein* yang dapat berperan sebagai antibakteri yang ampuh. Pebriani (2020) dalam penelitian sensitisasi strain *Mycobacterium tuberculosis* terhadap ekstrak dan senyawa braziline menyebutkan bahwa braziline pada konsentrasi 175 ppm mampu mengkelasi besi sebesar 31,65% dan mampu menghambat 94,5% populasi *Mycobacterium tuberculosis* pada pengenceran 10^{-3} serta menghambat 93,7% populasi *Mycobacterium tuberculosis* pada pengenceran 10^{-5} .



Penemuan obat dengan pendekatan *in silico* menggunakan metode *docking molekuler* merupakan salah satu metode untuk meningkatkan efisiensi dan efektivitas dalam pengembangan suatu obat. *Docking molekuler* telah diterapkan secara luas di bidang penemuan obat modern karena dapat menghemat waktu dan biaya dalam hal sintesis di laboratorium dan uji aktivitas biologis skala besar. *Docking molekuler* merupakan upaya untuk menempatkan molekul kecil dengan sel target yang merupakan protein besar menggunakan perangkat computer menghasilkan nilai energy ikatan. Nilai energy ikatan menunjukkan jumlah energy yang dibutuhkan suatu senyawa untuk membentuk ikatan antar ligand an reseptor. Semakin rendah nilai energy ikatan bebas, maka semakin kuat ikatannya, sehingga semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor yang menandakan aktivitasnya semakin baik (Pebriani, I. R. 2020).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kemampuan senyawa uji *Brazilien* terhadap sisi pengikat (*RNAP*) dari bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang diharapkan senyawa *Brazilien* dapat menghambat reseptor target *Mycobacterium tuberculosis InhA* sebagai kandidat obat antituberkulosis yang baru.



METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan perangkat keras berupa notebook ASUS dengan spesifikasi prosesor Intel(R) Celeron(R) CPU N3060 @1.60Hz 1.60 GHz, RAM 2.00 GB system operasi Windows 10 64-bit. Perangkat lunak yang digunakan yaitu, Chem Draw 3D Versi 15, AutoDock Tools Versi 1.5.7, Biovia Discovery Studio Visualizer, Ligplot 4.5.3, MGL Tools.

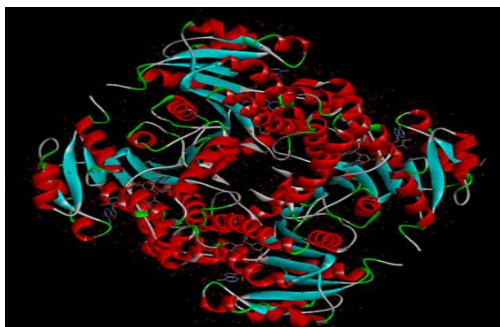
Subjek Penelitian

Reseptor target yang digunakan yaitu *Mycobacterium tuberculosis InhA* pada manusia dengan kode PDB ID: 2X23 yang dapat diunduh di Protein Data Bank (PDB). Gambar reseptor disajikan pada Gambar 2.

Ligan yang digunakan adalah *Brazilein* sebagai senyawa *marker* pada kayu secang dengan dugaan aktifitas farmakologi sebagai antimikroba/ antituberkulosis. Ligan *Brazilein* disajikan pada gambar 1.

Pengunduhan Ligan dan Protein

Protein *Mycobacterium tuberculosis InhA* diunduh pada Protein Data Bank (PDB) dengan alamat www.pdb.org dan disimpan dalam bentuk .pdb. Ligan *Brazilein* diunduh dalam bentuk 3D pada situs pubchem dan disimpan dalam *file type* .sdf kemudian diubah *file type* nya menjadi bentuk .pdb. dengan program *Discovery Studio Visualizer* untuk selanjutnya dilakukan *preparasi* pada program *Autodock*.



Gambar 2. *Mycobacterium tuberculosis InhA* (ID: 2X23) hasil unduhan dari www.pdb.org sebelum dipreparasi

Preparasi Ligand dan Protein

Preparasi dilakukan dengan menggunakan software *Discovery Studio Visualizer* untuk menghapus ikatan protein dari ligan yang terikat didalamnya serta membuang molekul air untuk selanjutnya disimpan dalam format .pdb.



Berkas reseptor di preparasi menggunakan software *Autodock Tools* dengan cara memisahkan reseptor dengan ligan alami yang terikat.



Gambar 3. *Mycobacterium tuberculosis InhA* (ID: 2X23) setelah dipreparasi (dihilangkan molekul air dan ligannya).

Validasi Metode *Docking*

Validasi metode *docking* dilakukan dengan mendocking kembali ligan alami dan reseptor yang sebelumnya telah dipreparasi menggunakan software *Autodock*. Hasil dockin digunakan untuk mencari konformasi 3D ligan terhadap reseptor. Nilai konformasi 3D dinyatakan dengan nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. Semakin mendekati nilai 0 maka nilai *RMSD* akan lebih baik dan dapat diterima.

Docking Molekuler dan Analisis Data

Docking ligan dilakukan untuk menghasilkan nilai *binding energy* dalam satuan kkal/mol. Semakin kecil nilai *binding energy* (mendekati nilai minus 12) maka semakin baik. Data interaksi protein dengan ligan disajikan menggunakan *Command Windows* hasil *docking* dengan melihat berkas log.txt. Isi dari berkas log.txt disajikan pada gambar 4.

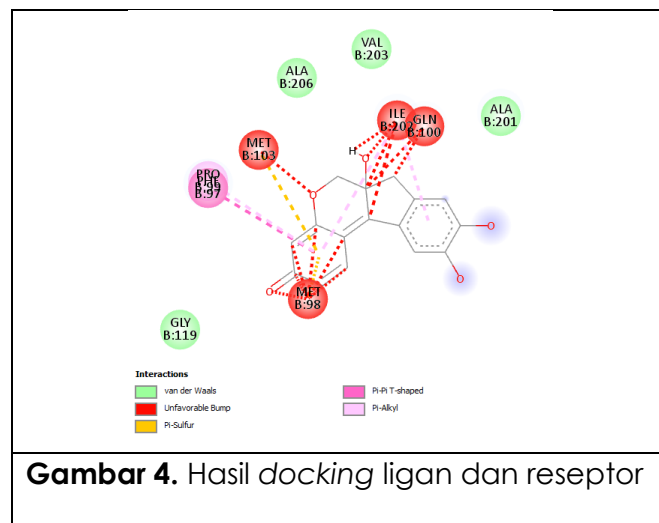
HASIL DAN PEMBAHASAN

Visualisasi hasil *docking* interaksi ligan uji dan reseptor dilakukan menggunakan perangkat lunak *Autodock* dengan melakukan re-dock, lalu visualisasinya dilihat dengan perangkat lunak *Biovia Discovery Studio Visualizer*. Makromolekul protein *Mycobacterium tuberculosis InhA* menjadi target ikatan dengan reseptor. Ligan dan protein yang telah diunduh kemudian dipreparasi menggunakan perangkat lunak *Discovery studio* dengan menghilangkan molekul air dan ligan sehingga didapatkan protein tanpa molekul air dan ligan. Berkas protein dipreparasi dengan *Autodock* untuk menambah ikatan hydrogen polar kemudian digabungkan dengan ligan untuk selanjutnya dipersiapkan untuk dimasukkan ke dalam *grid box*.

Ligan *brazilein* dipreparasi dengan program *autodock* dengan menambah ikatan hydrogen serta mengubah ikatan aktif menjadi berotasi.



Validasi dilakukan dengan menggunakan *grid box* antara ligand dan protein dilakukan setiap *algoritma* docking (Kesuma, 2018).



Validasi docking yang dilakukan mendapatkan nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)* Tabel 1.. Nilai RMSD ditetapkan kurang dari 5, dimana semakin mendekati 0 akan lebih baik. Nilai RMSD yang diperoleh sebesar 1.15. Hal tersebut menunjukkan bahwa metode docking yang dilakukan sudah valid dan dapat diterima untuk dilanjutkan ke proses *docking*.

| Algoritma | Brazilien | |
|-----------|------------------------------------|------|
| | <i>Binding Affinity (kcal/mol)</i> | RMSD |
| Vina | -13,04 | 1,15 |

Penambahan ligan dengan reseptor diketahui kekuatannya dari bentuk ligan yang mempunyai energy kecil. *Binding affinity* adalah nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor dalam satuan kkal/mol. Semakin kecil nilai afinitas ikatan, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin besar. Begitupula sebaliknya, semakin besar nilai afinitas ikatan, maka afinitas antara reseptor dengan ligan akan semakin kecil. Hasil docking ligan yang dilakukan diperoleh nilai *binding affinity* yang disajikan dalam table 1. Nilai *binding affinity* dari *Mycobacterium tuberculosis InhA* dan brazilien yang tertera pada table 1. cukup kecil yakni sebesar -13,04 Afinitas ikatan antara reseptor *Mycobacterium tuberculosis InhA* ke senyawa brazilien cenderung rendah sehingga brazilien lebih mudah mengikat *Mycobacterium tuberculosis InhA* untuk menghambat aktivitasnya pada proses transkripsi. Penghambatan *Mycobacterium tuberculosis InhA* didasarkan pada penghalangan transkripsi RNA dengan cara mengikatkan diri kepada subunit beta sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri.



KESIMPULAN DAN REKOMENDASI

Berdasarkan hasil uji coba docking yang dilakukan terhadap senyawa braziline menunjukkan nilai *binding affinity* -13,04 kkal/mol dengan nilai RMSD 1,15. Hal ini menunjukkan bahwa braziline mampu menghambat aktivitas enzim *Mycobacterium tuberculosis InhA*. Braziline dalam tanaman *Caesalpinia sappan L.* terbukti secara aktif tidak hanya dalam uji *in vitro* di laboratorium basah, tapi juga aktif *terapeutik* secara komputasi pada laboratorium kering. Dilanjutkan untuk prediksi fisikokimia dan ADME untuk menentukan bentuk sediaan yang sesuai dalam formulasi pengembangan kandidat obat baru.

REFERENSI

- Bortoluzzi, A., & Muskett, F. W. (2013). *Mycobacterium tuberculosis* RNA Polymerase-binding Protein A (RbpA) and its Interaction with Sigma Factors. *Journal of Biological Chemistry*.
- Irwan, I., Hajrah, & Sastyarina, Y. (2021). Docking Simulation of Umbi Bawang Tiwai Napthoquinones Compound (Eleutherine americana Merr.) against *Mycobacterium tuberculosis* bacteria. *Mulawarman Pharmaceutical Conference* (pp. 92-98). Samarinda: 05-07 April 2021.
- Kesuma, D., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018). Uji *in silico* aktivitas sitotoksik dan toksitas senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'feniltiourea sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research* 3(1), 1-11.
- Organization, W. H. (2019). *Are Updated Every Year For The Tuberculosis 2020*.
- Pebriani, I. R. (2020). Sensitisasi Strain *Mycobacterium tuberculosis* Multi Drug Resisten terhadap Ekstrak dan Senyawa Brazilin dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*) serta Kemampuannya sebagai Antituberkulosis. *Repository.unpad.ac.id*.
- Rinanda, T. (2015). Kajian Molekuler Mekanisme Resistensi *Mycobacterium tuberculosis*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala Volume 15.No.3*, 162-167.
- Ruditya, D. N. (2015). The Relationship Between Characteristic of Tuberculosis Patient with Compliance in Check a Sputum During Treatment. *Jurnal Berkala Epidemiologi Vol 3, No 2*, 122-133.

