

Simulasi Docking Molekuler Senyawa Xanthorrhizol sebagai Antiinflamasi terhadap Enzim COX-1 dan COX-2

Deden I. Dinata¹, Hardhi Suryatno¹, Ida Musfiroh², Shelvy E. Suherman²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

Abstrak

Enzim yang memengaruhi proses inflamasi, yaitu enzim COX-1 dan COX-2, berfungsi dalam pembentukan prostaglandin untuk pembentukan inflamasi. Xanthorrhizol mempunyai efek antiinflamasi sehingga dilakukan uji simulasi *docking* xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 dan COX-2. Penelitian dilakukan untuk mengetahui interaksi senyawa xanthorrhizol yang berasal dari tanaman temulawak (*Curcuma xanthorriza*) dengan sisi aktif enzim COX-1 dan COX-2. Proses *docking* senyawa tersebut dengan *software* Autodock 3.0. Hasil *docking* molekuler antara xanthorrhizol dengan COX-1 yaitu atom O pada xanthorrhizol berinteraksi dengan Arg120 dan Tyr355, interaksi xanthorrhizol dengan COX-2 yaitu gugus OH dari xanthorrhizol berinteraksi dengan asam amino Gln178 dan Leu338. Leu338 merupakan salah satu asam amino spesifik pada kantung ikatan COX-2. Hasil penelitian menunjukkan xanthorrhizol dapat berinteraksi dengan sisi aktif enzim COX-1 dan COX-2, memiliki afinitas yang lebih tinggi untuk berikatan pada sisi aktif COX-2 dibandingkan pada COX-1.

Kata kunci: Antiinflamasi, COX-1, COX-2, docking, xanthorrhizol

Molecular Docking Simulation of Xanthorrhizol Compounds Derived from Temulawak as Antiinflammatory on Enzymes COX-1 and COX-2

Abstract

There are two enzymes that influence inflammatory process, which are COX-1 and COX-2 enzymes, have function in the establishment of prostaglandin that contribute in inflammation. Xanthorrhizol has anti-inflammatory effect, so it can be developed and tested by docking simulation to COX-1 and COX-2 enzymes. The aim of this research is to determine the interaction between xanthorrhizol that is derived from *Curcuma xanthorriza* with the active site of COX-1 and COX-2 enzymes. Docking simulation was done by using AutoDock Tools 4.0. The interactions between xanthorrhizol with COX-1 are O- xanthorrhizol interact with Arg120 and Tyr355. The interactions between xanthorrhizol with COX-2 are OH-xanthorrhizol interact with Gln178 and Leu338. Leu338 is specific amino acid in the binding pocket of COX-2. Xanthorrhizol can interact with the active site of COX-1 and COX-2 enzymes, show better affinity to COX-2.

Keywords: Antiinflamasi, COX-1, COX-2, docking, xanthorrhizol

Pendahuluan

Usaha penemuan obat baru pada awal perkembangan obat umumnya bersifat coba-coba (*trial and error*) sehingga biaya pengembangan obat baru menjadi sangat mahal. Hal ini dapat dipahami mengingat bahwa dari 8.000 hingga 10.000 senyawa baru hasil sintesis atau berasal dari sumber alam, setelah melalui berbagai pengujian seperti uji fisika, uji kimia, uji aktivitas, uji toksisitas, uji farmakokinetik kemudian uji farmakodinamik, sampai uji secara klinik, kemungkinan hanya ada satu senyawa yang secara klinik dapat digunakan sebagai obat.¹⁻³

Dimulai dari sintesis atau ekstraksi, pengujian farmakologi, evaluasi klinik dan persetujuan pendaftaran membutuhkan waktu lebih kurang selama 10 tahun. Hal ini disebabkan oleh ketatnya peraturan-peraturan obat baru yang mendapat izin untuk dipasarkan. Ini berarti bahwa agar perkembangan obat baru tetap layak secara ekonomi, perlu strategi pemikiran yang mendasar di dalam melakukan penelitian dengan sejumlah kecil senyawa terpilih, dan cara merancang senyawa yang baik.¹

Masalah kurangnya pengembangan obat baru sudah mulai dapat diatasi yaitu dengan adanya teknik penemuan obat baru melalui studi komputasi, yang merupakan cabang kimia dengan menggunakan hasil kimia teori, lalu diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat dan perubahan dari molekul maupun dengan cara melakukan simulasi terhadap sistem-sistem yang besar (makromolekul seperti protein serta asam nukleat) dan sistem besar yang dapat mencakup kajian konformasi molekul serta perubahannya (misalnya, proses denaturasi protein), dan perubahan fase, serta memperkirakan sifat-sifat makroskopik (misalnya, kalor jenis) berdasarkan perilaku di tingkat atom dan molekul. Kimia teori dapat didefinisikan sebagai suatu deskripsi matematika untuk kimia, sedangkan kimia komputasi biasa digunakan ketika metode matematika yang

dikembangkan dengan cukup baik untuk dapat digunakan dalam program komputer. Metode kimia komputasi bisa memprediksi namun bukan berarti dapat digunakan secara langsung, dikarenakan sedikit sekali aspek kimia yang dapat dihitung secara tepat. Hampir semua aspek kimia dapat digambarkan di dalam skema komputasi kualitatif atau kuantitatif.¹

Rimpang temulawak memiliki minyak atsiri yaitu senyawa xanthorrhizol yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi.⁴ Inflamasi merupakan respon dari suatu organisme terhadap invasi akibat benda asing, seperti bakteri, parasit dan virus.⁵ Respon inflamasi merupakan suatu reaksi protektif yang penting terhadap iritasi, luka, atau infeksi, yang ditandai dengan kemerahan, rasa panas, bengkak, hilangnya fungsi dan rasa sakit.⁶ PGs (prostaglandin) merupakan suatu mediator endogen untuk inflamasi yang dapat terbentuk dari asam arakidonat oleh enzim konstitutif COX-1 dan enzim *inducible* COX-2.⁷ Enzim COX-1 merupakan enzim konstitutif yang dapat menjadi katalis dari pembentukan prostanoide regulatoris di berbagai jaringan, terutama pada selaput lendir traktus gastrointestinal, platelet, ginjal, dan epitel pembuluh darah. Enzim COX-2 bersifat tidak konstitutif namun dapat diinduksi apabila terdapat stimulus inflamasi, mitogenesis, atau onkogenesis.⁸

Struktur kimia senyawa xanthorrhizol memiliki satu cincin aromatik yang dapat menimbulkan interaksi hidrofobik dengan reseptor dan satu gugus hidroksil yang menjadi donor dan akseptor dari ikatan hidrogen.^{9,10} Interaksi antara xanthorrhizol dengan enzim COX-1 dan COX-2 belum dilaporkan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui afinitas dan juga interaksi dari senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 dan enzim COX-2, kemudian untuk mengetahui ikatan hidrogen yang dapat terbentuk, serta untuk mengetahui selektivitas dari senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 dan juga enzim

COX-2 dengan menggunakan metode simulasi *docking* molekuler.

Metode

Alat yang digunakan pada penelitian ini, yaitu *chem draw software*, *hyperchem software*, *PDB viewer*, *PDB (Protein Data Bank)*, *ArgusLab*, *Autodock 4*.¹¹

Bahan-bahan yang digunakan antara lain, struktur ligan yang telah digambar dengan *Chem draw software*, optimasi struktur dengan *HyperChem software*. Struktur protein yang telah dikristalografi yang diperoleh dari www.pdb.com.

Analisis dari kantung ikatan COX-1 dilakukan melalui *re-docking*. Persiapan reseptor enzim COX dilakukan dengan pengunduhan enzim COX melalui website www.pdb.org kode PDB: 1EQG,¹² isolasi ligan yaitu kristal ibuprofen, analisis *binding site* untuk melihat suatu interaksi ibuprofen dengan enzim COX-1, re-ligan ibuprofen pada COX-1, analisis hasil *docking* dan visualiasi hasil *docking*.

Analisis dari kantung ikatan COX-2 dilakukan melalui *re-docking*. Persiapan reseptor enzim COX-2 dilakukan dengan pengunduhan enzim COX melalui website www.pdb.org kode PDB: 3LN1,¹² isolasi ligan alami celecoxib, analisis *binding site*

untuk melihat interaksi celecoxib dengan enzim COX-2 dan mengetahui residu asam amino kantung ikatan enzim COX-2, *re-docking* ligan celecoxib pada COX-2, serta analisis hasil *docking* dan visualisasi.

Senyawa xanthorrhizol pada kantung ikatan COX-1 dan COX-2 dilakukan *docking* dengan cara penyiapan dari ligan xanthorrhizol dalam bentuk 2 dimensinya dengan format *.mol dibuat menggunakan *chem draw*, hasil ligan xanthorrhizol yang telah dibuat lalu dibuka menggunakan program *hyperchem* serta ditambahkan rantai hidrogen lalu diatur *semiempirical* dan digunakan AM1 kemudian optimasi geometri menggunakan *polak-ribiere* lalu disimpan dengan format *.hin, hasil ligan yang telah dioptimasi diubah menjadi ke dalam format *file* *.pdb dengan program *Arguslab*. Setelah senyawa xanthorrhizol telah dibuat dalam *file* berformat *.pdb lalu *docking* terhadap kantung COX-1 dan COX-2.

Hasil

Tabel 1 menunjukkan hasil validasi dari kantung ikatan enzim COX-1 (kode pdb: 1EQG) melalui *re-docking* terhadap ligan alami ibuprofen. Parameter *docking* dipilih dengan jumlah *run* 50 dan *grid box*

Tabel 1 Hasil Validasi Docking

Validasi Docking	Run	Grid (Å ³)	ED (Kkal/mol)	Ki (µM)	RMSD (Å)	Residu aa
Ibuprofen dengan Enzim COX-1 kode pdb 1EQG	50	60	-10,01	2,8	0,789	Ala527, Arg120, Gly526, Ile532, Met522, Phe518, Ser353, Try355, Val116, Val349
Celecoxib dengan Enzim COX-2 kode pdb 3LN1	50	60	-12,96	14,07	1,008	His75, Arg106, Gln178, Val335, Leu338, Ser339, Try341, Leu345, Leu370, Trp373, Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513

Keterangan: ED: Energi *docking*, Ki: Konstanta inhibisi, RMSD: *Root mean square deviation*, dan Residua aa: Residu asam amino

60³Å. Hasil *re-docking* ibuprofen dengan enzim COX-1 adalah energi *docking* sebesar -10,01 kkal/mol, konstanta inhibisi sebesar 2,8 µM dan RMSD sebesar 0,789 Å, residu asam amino yaitu Ala527, Arg120, Gly526, Ile532, Met522, Phe518, Ser353, Try355, Val116, Val349. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara ibuprofen dengan enzim COX-1 (Gambar 1a) adalah Arg120 dengan jarak 1,601 Å dan 1,705 Å serta Tyr355 dengan jarak 1,730 Å.

Tabel 1 adalah hasil *re-docking* ligan alami celecoxib (Gambar 1b) terhadap enzim COX-2 (kode pdb 3LN1) dengan parameter terpilih yaitu jumlah *run* 50, *grid box* 60³Å, menghasilkan data dengan energi *docking* sebesar -12,96 kkal/mol, konstanta inhibisi sebesar 14,07 µM, dan RMSD sebesar 1,008 Å dengan residu asam amino yang berikatan yaitu His75, Arg106, Gln178, Val335, Leu338, Ser339, Try341, Leu345, Leu370, Trp373, Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513. Ikatan hidrogen yang terbentuk saat validasi adalah His75 dengan jarak 2,386 Å, Ser339 dengan jarak 3,476 Å, dan Leu338 dengan jarak 3,986 Å.

Setelah dilakukan validasi kantung ikatan melalui *re-docking*, lalu dilakukan *docking* senyawa xanthorrhizol pada kantung ikatan enzim COX-1 dan COX2. Hasil *docking* senyawa uji xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 (Gambar 2a) menunjukkan bahwa residu asam amino yang berinteraksi adalah Val116, Arg120,

Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Phe381, Leu384, Tyr385, Trp387, Phe518, Met522, Ile523, Gly526, Ala527, Ser530, Leu531. Ikatan hidrogen terjadi dengan asam amino Arg120 dengan jarak ikatan 2,02 Å, dan Tyr355 dengan jarak ikatan 1,92 Å. Energi *docking* sebesar -8,85 kkal/mol dan konstanta inhibisi sebesar 1,63 µM (Tabel 2).

Hasil *docking* antara senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-2 (Tabel 2) menunjukkan residu asam amino yang berinteraksi yaitu His75, Gln178, Val335, Leu338, Ser339, Phe367, Leu370, Tyr371, Trp373, Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513. Ikatan hidrogen (Gambar 2b) yang terbentuk antara lain Gln178 dengan jarak 2,060 Å; serta Leu338 dengan jarak 2,065 Å. Energi *docking* sebesar -10,11 kkal/mol dan konstanta inhibisi sebesar 0,295 µM (Tabel 2).

Pembahasan

Hasil *docking* ibuprofen (Gambar 1a) dengan enzim COX-1 yaitu energi bebas ikatan -8,94 kkal/mol, konstanta Inhibisi 2,8 µM dan RMSD sebesar 0,789 Å. Ikatan hidrogen (Gambar 1a) yang terbentuk antara ibuprofen dengan enzim COX-1 adalah Arg120 dengan jarak 1,601 Å pada atom O dan 1,705 Å pada atom C, Tyr355 dengan jarak 1,730 Å pada atom C.

Hasil *docking* ligan alami celecoxib



Gambar 1 Ikatan Hidrogen yang Terbentuk antara Ibuprofen dengan Enzim COX-1 (a) dan Celecoxib dengan COX-2 (b)

Tabel 2 Hasil *Docking* Xanthorrhizol

Enzim	ED (Kkal/mol)	Ki (μ M)	Residu aa	Ikatan hidrogen
Enzim COX-1 kode pdb 1EQG	-8,85	1,63	Tyr385, Trp387, Phe518, Met522, Ile523, Gly526, Ala527, Ser530, Leu531	Arg120 (2,019 Å) Tyr355 (1,917 Å)
Enzim COX-2	-10,11	0,295	His75, Gln178, Val335, Leu338, Ser339, Phe367, Leu370, Tyr371, Trp373, Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513	Gln178 (2,060 Å) Leu338 (2,065 Å)

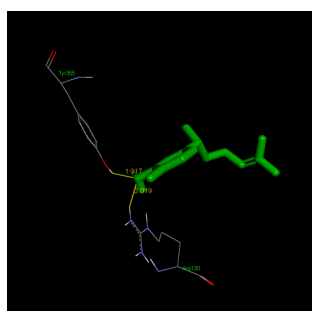
Keterangan: ED: Energi *Docking*, Ki: Konstanta inhibisi, RMSD: *Root mean square deviation*, dan Residua aa: Residu asam amino.

terhadap enzim COX-2 kode pdb 3LN1 dengan variasi *run 50 grid box* yang digunakan adalah 60^3 \AA , menghasilkan data dengan energi bebas ikatan sebesar -10,71 kkal/mol, konstanta inhibisi sebesar 14,07 μ M, dan RMSD sebesar 1,008 Å. Ikatan hidrogen (Gambar 1b) yang terbentuk pada saat validasi adalah His75 dengan jarak 2,386 Å pada atom N, Ser339 dengan jarak 3,476 Å pada atom N, dan Leu338 dengan jarak 3,986 Å pada atom N.

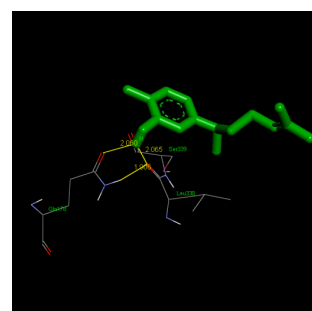
Hasil *docking* senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 menunjukkan hasil yaitu residu asam amino Val116, Arg120, Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Phe381, Leu384, Tyr385, Trp387, Phe518, Met522, Ile523, Gly526, Ala527, Ser530, Leu531, ikatan hidrogen dengan asam amino Arg120, Tyr355 dengan jarak ikatan 2,02, 1,92 Å, energi bebas ikatan sebesar -7.89 kkal/mol, serta konstanta inhibisi sebesar 1,63 μ M (Tabel 2).

Hasil analisis interaksi xanthorrhizol dengan enzim COX-1 menunjukkan bahwa adanya ikatan hidrogen yang kuat antara xanthorrhizol dengan kantung ikatan COX-1 tetapi residu asam amino yang berikatan berbeda dengan ibuprofen, interaksi pada ibuprofen didapatkan residu asam amino Ala527, Arg120, Gly526, Ile532, Met522, Phe518, Ser353, Try355, Val116, Val349 pada senyawa xanthorrhizol hasil residu asam amino yang didapat adalah Val116, Arg120, Val349, Leu352, Ser353, Tyr355, Phe381, Leu384, Tyr385, Trp387, Phe518, Met522, Ile523, Gly526, Ala527, Ser530, Leu531.

Berdasarkan hasil analisis tersebut, xanthorrhizol mampu berinteraksi dengan residu asam amino penting pada kantung ikatan enzim COX-1. Meskipun terdapat perbedaan jenis residu asam amino yang berikatan dengan ibuprofen, namun ikatan hidrogen yang terbentuk (Gambar 2a)



(a)



(b)

Gambar 2 Ikatan Hidrogen yang Terbentuk pada *Docking* Senyawa Xanthorrhizol yang Berikatan dengan COX-1 (a) dan Senyawa Xanthorrhizol yang Berikatan dengan COX-2 (b)

antara lain Tyr335 dengan jarak 1,917 Å pada atom O, Arg120 dengan jarak 2,019 Å yang merupakan residu asam amino penting pada sisi aktif enzim COX-1, menunjukkan xanthorrhizol mempunyai aktivitas antiinflamasi, yaitu dengan cara menghambat enzim COX-1.

Hasil *docking* senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-2 menunjukkan hasil residu asam amino yang berinteraksi yaitu His75, Gln178, Val335, Leu338, Ser339, Phe367, Leu370, Tyr371, Trp373, Arg499, Ala502, Ile503, Phe504, Met508, Val509, Gly512, Ala513. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara lain dengan Gln178 dengan jarak 2,06 Å, Leu338 dengan jarak 2,07 Å, energi *docking* -10,11 kkal/mol, dan konstanta inhibisi 0,295 µM (Tabel 2). Hasil menunjukkan bahwa xanthorrhizol dapat berikatan dengan residu asam amino penting pada kantung ikatan COX-2 (Leu338) sebagaimana ikatannya dengan celecoxib.

Simpulan

Xanthorrhizol mempunyai aktivitas antiinflamasi yang ditunjukkan dari hasil *docking* senyawa xanthorrhizol terhadap enzim COX-1 dan COX-2. Senyawa xanthorrhizol dapat berikatan dengan kantung ikatan enzim COX-1 dan COX-2, namun lebih selektif terhadap enzim COX-2 dengan nilai energi *docking* yang lebih kecil dibandingkan dengan interaksinya terhadap enzim COX-1.

Daftar Pustaka

1. Siswandono, Soekardjo B. Kimia medisinal pengembangan obat jilid I. Surabaya: Airlangga University Press; 2000;1-28:313–336.
2. Firdayani, Rilianawati, Kusumaningrum S, Hardhiyuna M, Kusumastuti SA, Saepudin A, et al. Pengembangan kandidat senyawa obat turunan naftokuinon sebagai inhibitor virus hepatitis b. Prosiding InSINas. 29–30 November 2012; Bandung, Indonesia. Indonesia: Institut Teknologi Bandung; 2012.
3. Lily, Martina H, Ningrum W, Sukaisi, Yeni V. Discovery and development of drug. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan; 2011
4. Chol SL, Da-Qing J, Hyejung M, Sang JO, Jung UL, Jae K H, et al. Antioxidant and antiinflammatory activities of xanthorrhizol in hippocampal neurons and primary cultured microglia. J Neurosci Res. 2005; 82(6):831–838.
5. Nur AH, Shanti L, Ahmad DS. Kandungan kimia dan uji antiinflamasi ekstrak etanol *Lantana camara* L. pada tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) Jantan. Bioteknologi. 2008;5(1):10–17.
6. Nurul F. Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun petai cina (*Leucaena glauca* Benth) pada tikus putih jantan galur wistar (skripsi). Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2008
7. Ikawati Z. Pengantar farmakologi molekuler. Yogyakarta: UGM Press; 2006.
8. Harry U. Uji aktivitas penghambatan senyawa 4-[(E)-2-(4-okso-3-fenilkuinazolin-2-il) etenil] benzene sulfonamida terhadap siklooksigenase-2 (cox-2) (skripsi). Depok: Universitas Indonesia; 2012
9. Ida M, Muchtaridi M, Ahmad M, Ajeng D, Aliya NH, Linar ZU, et al. Cytotoxicity studies of xanthorrhizol and its mechanism using molecular docking simulation and pharmacophore modelling. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2013;3(6): 007–015
10. Ayik RP. Docking molekul dengan metoda molegro virtual docker dari ekstrak air psidium guajava Linn dan citrus sinensis, peels sebagai inhibitor pada tirosinase untuk pemutih kulit. JKTI. 2013;15(1):31–39
11. Selinsky BS, Gupta K, Sharkey CT, Loll PJ. Structural analysis of NSAID binding by prostaglandin H2 synthase:

- time-dependent and time-independent inhibitors elicit identical enzyme conformations. *Biochemistry*. 2001;40(17):5172–5180.
12. Wang JL, Limburg D, Graneto MJ, Springer J, Hamper JR, Liao S, et al. The novel benzopyran class of selective cyclooxygenase-2 inhibitors. Part 2: the second clinical candidate having a shorter and favorable human half-life. *Boorg. Med. Chem. Lett.* 2010;(20):7159–7163.