

Artikel

## STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF PADA FAMILI ZINGEBRACEAE SEBAGAI TERAPI ANTI ASAM URAT

Fadhilah Zayyin Azkiyah<sup>1</sup>, Oky Hermansyah<sup>1,\*</sup>, Suci Rahmawati<sup>1</sup>, Rose Intan Perma Sari<sup>1</sup>, Ikhsan<sup>1</sup> dan Yesi Ihdina Fityatal Hasanah<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Prodi D3 Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Bengkulu, Bengkulu

<sup>2</sup> Prodi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mambaul Ulum Surakarta, Jawa Tengah

\* Korespondensi: Oky.hermansyah@unib.ac.id;

penulis koresponden: Oky

Didaftarkan: 10 Oktober 2022; Diterima: 10 November 2022; Dipublikasikan: 30 April 2023

**Abstrak:** Asam urat adalah hasil terakhir purin dalam tubuh. Namun jika jumlahnya berlebih didalam darah akan mengakibatkan berbagai penyakit seperti radang sendi dan rematik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa tumbuhan pada famili zingiberaceae berpotensi sebagai obat anti asam urat melalui penghambatan terhadap enzim xanthine oxidase. Penelitian ini dilakukan secara in silico dengan simulasi docking molekuler, aktifitas senyawa terhadap enzim xanthine oxidase dilihat melalui nilai energi ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), ikatan hidrogen yang terbentuk, dan residu asam amino yang terikat. Ukuran pusat penambatan molekul pada penelitian ini  $x = 95,226$ ;  $y = 47,251$ ;  $z = 112,78$  dengan volume  $x$ ,  $y$ , dan  $z = 40$ . Hasil simulasi menunjukkan bahwa senyawa tanaman dengan nilai energi ikatan ( $\Delta G$ ) terbaik yaitu Pinostrobin sebesar  $-10.35$  Kkal/mol, nilai  $K_i$   $26.11 \mu\text{M}$ , memiliki 2 ikatan hidrogen dengan makromolekul dan terikat dengan 11 residu asam amino. Secara umum senyawa tanaman famili zingiberaceae berpotensi sebagai obat anti asam urat dengan penghambatan terhadap enzim xanthine oxidase.

Kata Kunci: asam urat, zingiberaceae, xanthine oxidase, docking molecular, penambatan molekul

### 1. Pendahuluan

Asam urat adalah penyebab rasa sakit, pembesaran dan pembengkakan sendi sebagai akibat metabolisme purin yang berlebihan. Pada proses metabolisme purin terdapat enzim xanthine oxidase dan Hypoxantine Guanine Phosphoribosyl Transferase (HGPRT). Enzim Hypoxantine Guanine Phosphoribosyl Transferase (HGPRT) memiliki kemampuan untuk mengubah purin menjadi nukleotida purin dan dapat digunakan kembali menjadi komponen DNA. Jika terjadi defisiensi pada enzim tersebut, enzim *Hypoxantine Guanine Phosphoribosyl Transferase* (HGPRT) tidak mampu memecahkan purin, jadi purin dimetabolisme menjadi asam urat oleh xanthine oxidase [1]. Ketika jumlah asam urat melebihi kadar normal, asam urat diubah menjadi radikal bebas, sehingga merusak integritas sel dan menyebabkan hiperurisemia [2].

Seiring waktu, jumlah penderita asam urat makin meningkat. Pada tahun 2018, terdapat 7,3% kasus penyakit asam urat di Indonesia dan provinsi Bengkulu dengan prevalensi tertinggi kedua di Indonesia dengan hasil 12,11% [3]. Dilihat dari prevalensi provinsi Bengkulu yang merupakan memiliki angka tertinggi kedua, sehingga kasus ini perlu di perhatikan lebih serius baik bagi pemerintah maupun masyarakat di provinsi Bengkulu.

Terapi untuk mengobati asam urat bisa berupa diet atau terapi farmakologis, namun diet makanan ini sangat susah untuk dilakukan karena menimbulkan ketidaknyamanan bagi penderita. Obat terapi farmakologi untuk antiasam urat adalah Allopurinol [4]. obat sintesis ini memiliki beberapa efek samping yaitu reaksi alergi, gangguan pada saluran cerna, dan kulit berupa kemerahan [5]. Sehingga, dibutuhkan pengobatan alternatif yang menggunakan tanaman herbal untuk penyakit asam urat.

Indonesia adalah negara yang banyak tanaman obat dan dapat digunakan dalam pengobatan tradisional, dari 30.000 spesies tanaman herbal ada 7000 beberapa di antaranya adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal [6]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 98.8% saat mengkonsumsi obat herbal tidak mengalami efek samping yang berbahaya. Konsumsi tanaman herbal diyakini lebih aman daripada obat sintetik sebagai obat tradisional, dikarenakan mempunyai efek samping yang lebih dikit daripada obat sintetik. Menurut World Health Organization (WHO), pemakaian obat herbal dinilai lebih aman, dari pada penggunaan obat sintetik ([7]

Akhir-akhir ini penggunaan komputer dalam penemuan obat terus berkembang dan menjadi sangat menarik karena efisiensi dan efektivitasnya dalam penemuan obat baru. *In silico* adalah suatu metode memperkirakan keadaan atau situasi aktual dengan simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu pada desain obat. Salah satunya adalah studi *docking* [8].

## 2. Material dan Metode

Dalam penelitian ini, dilakukan docking molekuler menggunakan makromolekul xanthine oxidase dengan kode PDB 3BDJ. Senyawa uji yang digunakan diperoleh dari database senyawa kimia yang terdapat pada tanaman herbal yang berasal dari famili zingiberaceae dan obat pembanding allopurinol. Skrining dilakukan dengan menggunakan metode docking molekuler yang berfungsi untuk memprediksi kompleks reseptor dan ligan. Nilai docking senyawa dalam database dibandingkan dengan skor docking allopurinol, obat penghambat xanthine oxidase. Jika nilai hasil docking senyawa yang diperoleh dari database lebih rendah dari allopurinol, maka senyawa tersebut mempunyai aktivitas penghambat yang sangat baik dan dapat diprediksi sebagai senyawa hit.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah seperangkat personal computer (PC/laptop) dengan spesifikasi Prosesor AMD E2-7015 APU with AMD Radeon R2 Graphics 4 gb RAM sistem operasi microsoft windows 10. Aplikasi yang digunakan untuk virtual screening adalah Autodock Tools 1.5.6 untuk visualisasinya dengan Discovery Studio Visualizer v17 dan struktur molekul digambar dengan menggunakan aplikasi MarvinSketch v18.9. sedangkan bahan penelitian berupa protein target untuk docking molecular yaitu xanthine oxidase yang berasal dari Protein Data Bank (PDB) dengan id 3BDJ (<https://www.rcsb.org/structure/3BDJ>), dan senyawa kimia yang terdapat dalam 10 tanaman herbal dari famili zingiberaceae yang ada di Indonesia yang diperoleh dari penelusuran literatur.

### 2.1. Pembuatan Data Base Struktur Molekul Tanaman Herbal

Database struktur molekul disusun dari berbagai sumber, baik dari sumber literature primer maupun literature sekunder. Kemudian Struktur molekul dari senyawa tersebut digambar dan dirubah kedalam format 3D menggunakan aplikasi MarvinSketch v18.9.

### 2.2. Preparasi Reseptor

Reseptor yang digunakan diunduh di database Protein Data Bank dengan kode 3BDJ, yang berada dalam bentuk makromolekul protein yang dipisahkan dari molekul lain yang tidak diinginkan, selanjutnya ligan dipisahkan menggunakan aplikasi Discovery Studio visualizer 2016 dan dioptimasi menggunakan AutodockTools-1.5.6 untuk penambahan compute gastiger dan atom hidrogen.

### 2.3. Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan yaitu senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan herbal famili zingiberaceae sebagai ligan uji dalam bentuk struktur tiga dimensi. Lalu dilakukan penambahan geometri. Hasil penambahan di konversi ke file PDB dan senyawa uji disiapkan menggunakan Autodock Tools 1.5.6.

## 2.4. Docking ligan uji

Setelah mempersiapkan reseptor dan ligan, selanjutnya dilakukan redocking native ligan (oxipurinol) untuk validasi protokol docking dengan aplikasi Autodock Tools 1.5.6. validasi terpenuhi jika nilai RMSDnya kurang dari 2Å [9]. Docking ligan uji dan allopurinol, dilakukan terhadap reseptor xanthine oxidase menggunakan gridbox di sekitar native ligan yang memberikan hasil RMSD terbaik.

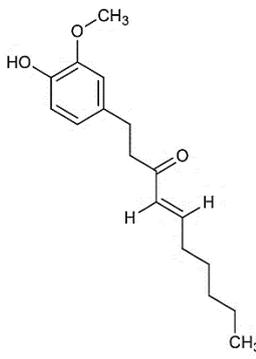
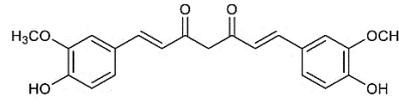
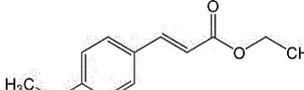
## 2.5. Analisa dan visualisasi

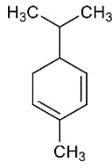
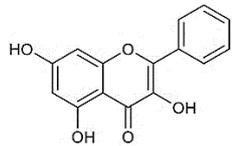
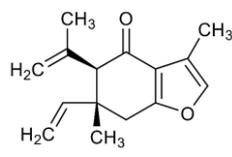
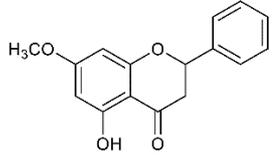
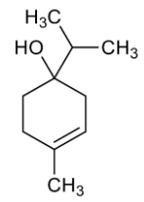
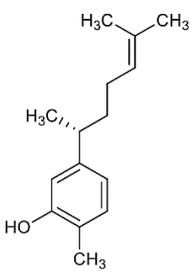
Penentuan konformasi ligan docking (pose terbaik), dilakukan dengan cara memilih energi ikatan terendah. Hasil docking tersebut kemudian divisualisasikan menggunakan aplikasi discovery studio untuk melihat ikatan hidrogen dan ikatan dengan residu asam amino yang terbentuk. Parameter yang digunakan untuk analisa meliputi energi ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), ikatan hidrogen, dan kesamaan residu asam amino yang terbentuk antara ligan dengan reseptor pada alopurinol sebagai ligan pembanding.

## 3. Hasil dan Pembahasan

Proses docking diawali dengan pengumpulan database senyawa tanaman herbal famili zingiberaceae, didapatkan 10 senyawa aktif dari tanaman famili zingiberaceae pada Tabel 1. Selanjutnya struktur molekulnya digambar menggunakan aplikasi MarvinSketch v18.9 dan disimpan dalam format PDB (struktur tiga dimensi). Reseptor (makromolekul) yang digunakan dalam penelitian ini adalah reseptor xanthine oxidase yang diunduh dari protein data bank (PDB) dengan format 3BDJ. Pada umumnya reseptor mengandung molekul air dan residu. Oleh karena itu, molekul air dan residu harus di hilangkan sehingga harus dipreparasi menggunakan discovery studio 2016 agar tidak mengganggu selama docking. Selain itu, penambahan atom hidrogen untuk bawa suasana docking mendekati pH 7. Setelah preparasi reseptor, reseptor akan disimpan dalam format pdb. Selain itu, untuk native ligan oxypurinol juga ditambahkan muatan gesteiger dan marge non polar. Sehingga, yang diharapkan hanya atom H polar yang berikatan dengan residu protein.

**Tabel 1.** Senyawa aktif pada tanaman famili zingiberaceae [10]

Senyawa	Asal Tanaman	Struktur Molekul
6-Shageol	Rimpang Jahe Merah	
Curcumin	Rimpang Kunyit	
Etil P-Metoksisinamat	Rimpang Kencur	

Felandren	Rimpang Lempuyung Wangi	
Galangin	Rimpang Lengkuas	
Kurzereonon	Rimpang Temu Ireng	
Pinostrobin	Rimpang Temu Kunci	
Terpinen-4-Ol	Rimpang Bengle	
Xhantorizol	Rimpang Temu Lawak	
Zerumbon	Rimpang Lempuyung Gajah	

Setelah preparasi ligan dan reseptor selesai, lalu dilakukan proses docking molekular menggunakan Autodock Tools 1.5.6. grid box optimal pada penelitian ini didapatkan dengan volume x, y, z 40x40x40 yang mencakup semua bagian ligan, serta center x = 95.226, y = 47.251, z = 112.78, dan spacing = 0.400Å. Grid box berfungsi untuk menentukan luas area reseptor yang akan ditambatkan berdasarkan koordinat x, y, z dari senyawa pembanding oxypurinol. Selanjutnya dilakukan validasi native ligan untuk mengetahui apakah parameter docking yang digunakan sudah valid dengan nilai standar RMSD ≤ 2Å. RMSD (Root Mean Square Devaction) adalah parameter yang menggambarkan nilai penyimpangan terhadap interaksi struktur Kristal sebelum dan sesudah

docking. Hasil validasi terhadap xanthine oxidase menunjukkan nilai RSMD sebesar 1.753 Å. Hal ini menunjukkan bahwa parameter docking yang digunakan sudah valid, setting grid box sudah cocok. Oleh karena itu, parameter ini dapat digunakan untuk docking molecular senyawa herbal sebagai ligan uji.

**Tabel 2.** hasil docking oxypurinol, alopurinol dan senyawa uji dari famili zingiberaceae pada reseptor xanthine oksidase

ligan	$\Delta G$ (Kkal/mol)	Ki ( $\mu M$ )	Ikatan Hidrogen	Residu asam amino
<b>Oxypurinol</b>	<b>-5.45</b>	<b>105.51 <math>\mu M</math></b>	<b>4</b>	<b>7</b>
<b>Allopurinol</b>	<b>-5.14</b>	<b>171.49 <math>\mu M</math></b>	<b>3</b>	<b>7</b>
6-Shageol	-9.57	96.62	2	9
Curcumin	26500	-	1	11
Etil P-Metoksisinamat	-7.67	2.39	1	8
Felandren	-6.63	13.85 $\mu M$	0	4
Galangin	-9.66	83.57 $\mu M$	1	10
Kurzerenon	-8.07	1.21 $\mu M$	1	8
<b>Pinostrobin</b>	<b>-10.35</b>	<b>26.11 <math>\mu M</math></b>	<b>2</b>	<b>11</b>
Terpinen-4-Ol	-6.57	15.2 $\mu M$	1	8
Xhantorizol	-9.05	233.5 $\mu M$	1	5
Zerumbon	-7.9	1.62 $\mu M$	0	3

Hasil dari docking molecular yang akan dianalisis yaitu energi ikatan ( $\Delta G$ ), kesamaan residu asam amino, ikatan hidrogen, dan kostanta inhibisi dari setiap ligan uji yang dapat di lihat Tabel 2. Area Ikatan (*Binding Site*) adalah area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi dan fungsi dari protein dan berfungsi untuk menunjukkan residu asam amino yang terlibat penting untuk membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan seperti ikatan hidrogen. Hasil docking antara xanthine oksidase dan allopurinol. Nilai konstanta inhibisi menunjukkan konsentrasi inhibitor yang dibutuhkan untuk mengurangi aktivitas enzim. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi (Ki) maka semakin tinggi potensi aktivitas penghambatnya [11]

Hasil penelitian ini diketahui ligan uji pinostrobin, senyawa yang berasal dari rimpang tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht.) memiliki nilai energi ikatan ( $\Delta G$ ) sebesar -10.35 kkal/mol sehingga memiliki potensi sebagai kandidat anti asam urat. Semakin negatif nilai  $\Delta G$  menunjukkan stabilitas yang lebih baik antara ligan dan reseptor dan ikatan yang lebih kuat terbentuk [12]. Kemudian, dilakukan perbandingan hasil visualisasi antara docking pembanding dengan docking ligan uji pinostrobin.

**Tabel 3.** Perbandingan interaksi allopurinol dengan senyawa uji Pinostrobin

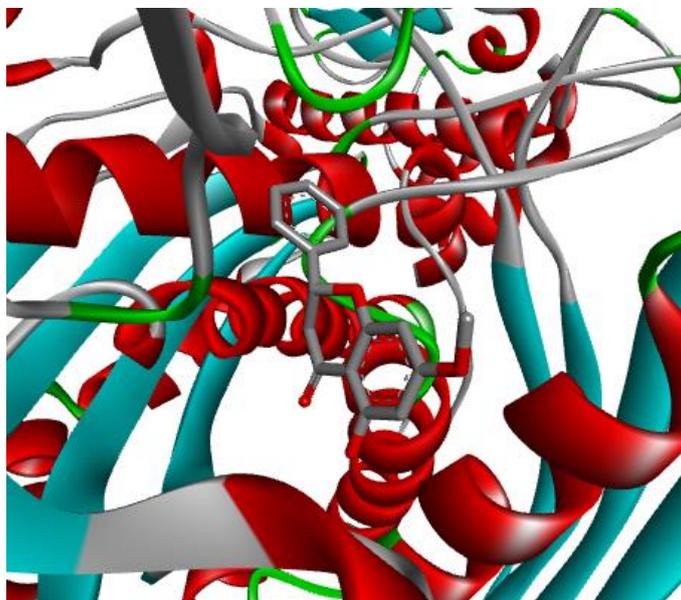
Parameter	Allopurinol	Pinostrobin
Energi Ikatan ( $\Delta G$ )	-5.14	-10.35
Konstanta Inhibisi (Ki)	171.8	26.11
	-	873-Leu
	-	1014-Leu
	1078-Ala	1078-Ala
	802-Glu	802-Glu
	-	1261-Glu
	-	910-Ala
	1010-Thr	1010-Thr
	880-Arg	880-Arg
	1009-Phe	1009-Phe
Residu asam Amino	914-Phe	914-Phe
	1079-Ala	1079-Ala
Jumlah ikatan Hidrogen	3	3

Dari hasil analisis dan visualisasi pada Tabel 3, terdapat adanya ikatan hidrogen pada ligan uji terbaik yaitu pinostrobin yang berperan sebagai ligan uji dengan xanthine oxidase membentuk 2 ikatan hidrogen yang sama dengan ligan pembanding diantaranya ARG880 dan THR1010, dan mempunyai residu yang sama seperti ligan pembanding. Banyaknya terbentuk jumlah ikatan hidrogen dapat berkontribusi pada kestabilan struktur kompleks antara ligan dan reseptor, dan ikatan ligan dan reseptor dapat dianggap cukup kuat [13].

Analisa interaksi dan visualisasi yang dihasilkan docking dilakukan untuk menampilkan hasilnya penambatan antara ligan uji dan ligan pembanding yang digunakan. Hasil dari visualisasi ini adalah interaksi antara residu asam amino dan ligan. Terdapat adanya interaksi asam amino dan ligan memungkinkan adanya kontak antara ligand dan reseptor xanthine oxidase sehingga memiliki aktivitas penghambatan (Gambar 1). Berdasarkan hasil penambatan Allopurinol dan pinostrobin diperoleh 7 kesamaan residu asam amino yang berikatan adalah, THR1010, GLU802, ALA1078, ALA1079, PHE914, PHE1009, ARG880 dan tertambat pada asam amino yang berperan dalam aktivitas katalis xanthine oxidase yaitu THR1010 dan ARG880. Hal ini menunjukkan bahwa allopurinol adalah penghambat kompetitif enzim xanthine oxidase, karena berikatan dengan sisi aktif enzim. Residu yang mengikat allopurinol dengan xanthine oxidase digunakan sebagai kontrol untuk senyawa tanaman famili zingiberaceae sebagai ligan uji dalam penghambatan xanthine oxidase. Hasil visualisasi menunjukkan residu asam amino pinostrobin mempunyai posisi penambatan yang mirip dengan Allopurinol. Sehingga dimungkinkan senyawa uji pinostrobin memiliki aktivitas penghambat reseptor xanthine oxidase yang lebih baik dari pada senyawa uji dari famili zingiberaceae lainnya.

Sehingga dari hasil semua senyawa uji kecuali curcumin, berpotensi sebagai menghambat kerja xanthine oxidase. senyawa potensial tersebut mempunyai aktivitas penghambatan yang lebih

besar atau sama dengan ligan asli yaitu allopurinol. Pada penelitian ini senyawa pinostrobin merupakan senyawa hit, yang mempunyai aktivitas penghambatan pada enzim xanthine oxidase yang lebih baik dari pada senyawa tanaman lain dari famili zingiberaceae. Sehingga dapat diteruskan ke uji invitro atau invivo untuk melihat potensinya sebagai obat antiasam urat [14]



**Gambar 1.** Interaksi ligan pinostrobin dengan makromolekul xanthine oxidase (3BDJ).

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa tanaman pada rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) dari famili zingiberaceae, pinostrobin memiliki potensi sebagai obat anti asam urat karena dari hasil simulasi docking molekuler nilai energi ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), ikatan hidrogen dan ikatan pada residu asam amino yang didapatkan menunjukkan hasil yang lebih baik dari ligan pembanding dan ligan uji lainnya.

#### Daftar Pustaka

- [1] S. Setiati, I. Alwi, A. W. Sudoyo, K. Simadibrata, B. Setiyohadi, dan A. F. Syam, "Buku ajar ilmu penyakit dalam." Interna Publishing, 2016.
- [2] L. Lingga, *Bebas Penyakit Asam Urat Tanpa Obat*. Jakarta: Agro Media Pustaka, 2012.
- [3] M. K. R. INDONESIA, *PERATURAN MENTERI KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA NOMOR 72 TAHUN 2016 TENTANG STANDAR STANDAR PELAYANAN KEFARMASIAN DI RUMAH SAKIT*. 2016.
- [4] A. Qurie, P. Bansal, A. Goyal, dan R. Musa, "Allopurinol," hal. 3–6, 2021.
- [5] M. Fakhri dan Y. Rahmayanti, "Potensi Fitokimia Citrus Aurantium (Hesperetin, Naringenin) Dalam Menghambat Xantin Oksidase Pada Hiperurisemia Secara In Silico," *Jurnal Health Sains*, vol. 2, no. 1, hal. 79–89, 2021.
- [6] S. Sembiring, "Pengetahuan dan pemanfaatan metode pengobatan tradisional pada masyarakat Desa Suka Nalu Kecamatan Barus Jahe," *Perspektif Sosiologi*, vol. 3, no. 1, 2015.
- [7] N. Setiawan dan A. Nurjanah, "Inhibisi xantin oksidase oleh ekstrak daun salam (*Syzygium*

- polyanthum),” *JC-T (Journal Cis-Trans): Jurnal Kimia dan Terapannya*, vol. 2, no. 1, hal. 25–31, 2018.
- [8] W. J. Geldenhuys, K. E. Gaasch, M. Watson, D. D. Allen, dan C. J. Van der Schyf, “Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery,” *Drug discovery today*, vol. 11, no. 3–4, hal. 127–132, 2006.
- [9] E. W. Bell dan Y. Zhang, “DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism,” *Journal of Cheminformatics*, vol. 11, no. 1, hal. 40, 2019.
- [10] D. Ri, “Farmakope Herbal Indonesia,” *Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia*, 2008.
- [11] P. Pannindriya, M. Safithri, dan K. Tarman, “Analisis In Silico Senyawa Aktif Spirulina platensis sebagai Inhibitor Tirosinase,” *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, vol. 24, no. 1, hal. 70–77, 2021.
- [12] G. Syahputra, “Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase,” *Jurnal Biofisika*, vol. 10, no. 1, 2014.
- [13] M. Umamaheswari, R. Preetha, A. Kuppusamy, dan S. Thirumalaisamy, “In silico docking studies and in vitro xanthine oxidase inhibitory activity of commercially available terpenoids,” *Scholar Science Journals*, vol. 5, 2012.
- [14] O. Hermansyah, A. Bustamam, dan A. Yanuar, “Virtual Screening of DPP-4 Inhibitors Using QSAR-Based Artificial Intelligence and Molecular Docking of Hit Compounds to DPP-8 and DPP-9 Enzymes.” Research Square, 2020.