

MOLECULAR DOCKING AND MOLECULAR DYNAMIC STUDIES OF STILBENE DERIVATIVE COMPOUNDS AS SIRTUIN-3 (SIRT3) HISTONE DEACETYLASE INHIBITOR ON MELANOMA SKIN CANCER AND THEIR TOXICITIES PREDICTION

Fauzan Zein Muttaqin¹, Muhammad Ferdian Pratama¹, Fransiska Kurniawan²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Bandung

²Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

Email: fauzanzein@stfb.ac.id

Received: 12 July 2019; Revised: July 2019; Accepted: August 2019; Available online: August 2019

ABSTRAK

SIRT3 receptor is well known to be able to maintain appropriate level of the Reactive Oxygen Species (ROS) to maintain cell proliferation and aggressive phenotype that prevent apoptosis that can lead carcinogenesis. In vitro studied was showed that stilbene compound, 4-bromo-resveratrol, has strong potential to inhibit the activity of SIRT3 on human melanoma cell by preventing cell proliferation and inducing apoptosis. This study aims to assess interaction and affinity of stilbene derivative compounds toward hSIRT3 through molecular docking simulation. Further study of complex interaction was carried out by molecular dynamic simulation to describe stability interaction between protein – ligand. Toxicity prediction was preformed to assess their safety in human body. Docking validation was done with redocking ligand (4'-bromo-resveratrol) from receptor hSIRT3 (PDB ID 4C7B) with RMSD value 1,88 Å. Molecular docking simulation on 20 test compounds was obtained 10 test compounds with the best affinity that will proceed to molecular dynamic simulation. Preparation topology file for ten test compounds and protein before molecular dynamic simulation was performed. Molecular dynamic simulation result during 10 ns showed that Tetrahydroxystilbene-4, Arahypin-10, and Gnetin-L have good stability interaction toward hSIRT which show by constant trend of RMSD graph during simulation. Toxicity prediction result for 20 test compounds found that 83% of test compounds do not lead toxicity. Based on these results, it can be concluded that tetrahydroxystilbene-2 compound has the highest potential as a candidate of hSIRT3 inhibitor with highest affinity and minimal toxicity risk.

Kata kunci: *Hylocereus polyrhizus, Achantina Fulica, gel, cycling test*

ABSTRAK

Reseptor SIRT3 (sirtuin-3) diketahui mampu menjaga level Spesies Oksigen Reaktif / *Reactive Oxygen Species (ROS)* pada jumlah yang sesuai dalam menjaga proliferasi sel dan sejumlah agresifitas fenotip yang mampu mencegah apoptosis dan menyebabkan karsinogenesis. Pengujian *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa stilben 4-bromo-resveratrol memiliki potensi kuat dalam menghambat aktivitas SIRT3 pada sel melanoma manusia dengan mencegah proliferasi sel dan menginduksi apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji interaksi dan afinitas senyawa derivat stilben terhadap reseptor hSIRT3 melalui simulasi *docking*. Interaksi yang terjadi dipelajari melalui simulasi dinamika molekuler yang menggambarkan kestabilan interaksi antara protein – ligan. Prediksi toksisitas dilakukan guna mengkaji keamanan dan toksisitasnya terhadap tubuh manusia. Validasi *docking* dilakukan dengan me-*redocking* ligan alami (4-bromo-resveratrol) dari reseptor target hSIRT3 (kode PDB 4C7B) dengan hasil nilai RMSD 1,88 Å. Simulasi *docking* terhadap 20 senyawa uji diperoleh 10 senyawa uji dengan afinitas terbaik yang akan dilanjutkan ke tahapan simulasi dinamika molekuler. Persiapan file topologi kesepuluh senyawa uji dan protein target dilakukan sebelum simulasi dinamika molekuler. Hasil simulasi dinamika molekuler selama 10 ns menunjukkan bahwa senyawa Tetrahidroksistilben-2, Arahypin-10 dan Gnetin-L memiliki kestabilan interaksi yang baik terhadap hSIRT3 yang ditunjukkan oleh kecenderungan grafik RMSD yang konstan selama simulasi. Hasil prediksi toksisitas 20 senyawa uji diperoleh bahwa sebesar 83% senyawa uji tidak menimbulkan toksisitas. Berdasarkan penelitian tersebut, diketahui bahwa senyawa Tetrahidroksistilben-2 paling berpotensi menjadi kandidat senyawa inhibitor hSIRT3 dengan afinitas tertinggi dan resiko toksisitas yang minimal.

Kata kunci : *Hylocereus polyrhizus, Achantina Fulica., gel, cycling test*

PENDAHULUAN

Melanoma merupakan jenis kanker kulit yang paling mematikan dan merupakan ancaman kesehatan serius bagi masyarakat di dunia. Di tahun 2013, sebanyak 71.943 orang didiagnosa melanoma dan lebih dari 9.000 nyawa meninggal akibat melanoma (Hamilton dkk., 2016). Menurut data statistik dari *American Cancer Society*, pada tahun 2017 ini sekitar 87.110 orang telah didiagnosa melanoma dan diperkirakan sekitar 9.730 orang akan meninggal. Data tersebut menjelaskan bahwa faktor resiko melanoma lebih banyak dialami oleh para pria dibandingkan wanita.

Melanoma merupakan tumor ganas di sel melanosit akibat kerusakan DNA penyusun sel kulit yang mengalami mutasi dan mulai tumbuh secara tidak terkontrol. Pengobatan melanoma dengan menggunakan obat kemoterapi konvensional seperti *dacarbazine* (DTIC) dan *temozolomide* (TMZ) telah menunjukkan resistensi pada pengobatan melanoma. Meskipun secara tunggal obat tersebut memberikan respon aktifitas yang baik sekitar 15 – 30%. Sehingga perlu suatu terobosan cara pengobatan melanoma dengan efektifitas yang tinggi tetapi efek samping minimal. Studi terkini telah berfokus pada tingkat molekuler untuk mengidentifikasi faktor-faktor yang terlibat dalam induksi dan perkembangan melanoma (Hendaria, 2013; Madonna dkk., 2012).

Peran sirtuin (SIRT) dalam kanker telah menjadi objek penelitian yang sedang diselidiki, baru-baru ini. Pada mamalia terdapat 7 macam anggota sirtuin (SIRT1 — SIRT7). Di antara anggota sirtuin, SIRT3 telah menerima banyak perhatian karena perannya dalam genetika kanker, penuaan sel, penyakit neurodegeneratif, dan *stress resistance*. Overekspresi SIRT3 pada sel kanker mampu menjaga level Spesies Oksigen Reaktif / *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam jumlah yang sesuai untuk mempertahankan proliferasi dan agresifitas fenotip, sehingga mencegah apoptosis yang berujung pada karsinogenesis (Ansari dkk., 2016; Chen dkk., 2014).

Berdasarkan penelitian *in vitro* yang dilakukan oleh George dkk (2016), ditemukan bahwa SIRT3 ini overekspresi pada jaringan sel melanoma manusia. Serta telah ditemukan bahwa derivat senyawa stilben 4'-bromo-resveratrol memiliki aktifitas terhadap SIRT3 pada sel melanoma manusia dengan menghambat proliferasi sel dan menginduksi apoptosis. Dengan demikian *human SIRT3* / *hSIRT3* ini menjadikannya target terapi yang potensial dalam perkembangan melanoma. Serta pengaruh senyawa derivat stilben terhadap reseptor *hSIRT3* sebagai antimelanoma yang perlu diteliti lebih lanjut dengan metode komputasi (*in silico*) guna mengkaji interaksi ligan dengan reseptor serta mengevaluasi pada target kerjanya, dan memahami mekanisme kerja yang terjadi sebagai antimelanoma.

METODE PENELITIAN

Studi interaksi serta prediksi afinitas senyawa derivat stilben terhadap reseptor *hSIRT3* dilakukan dengan metode komputasi (*in silico*). Metodologi pada penelitian ini berdasarkan pada pemodelan simulasi *docking* senyawa uji dengan molekul target, simulasi dinamika molekul, dan prediksi toksisitas senyawa uji.

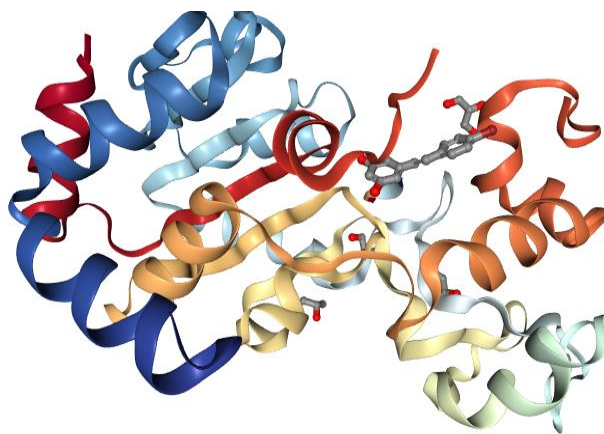
Penelitian diawali dengan mengumpulkan berbagai data senyawa stilbenoid derivat stilben yang telah diisolasi dari bahan alam serta mengunduh struktur kristal reseptor target di website PDB (<https://www.rcsb.org/>) dengan kode PDB : 4C7B. Pemodelan struktur senyawa uji dilakukan dengan dua cara yakni, mengunduhnya dalam database di website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan juga dibuat secara manual pada program *ChemOffice v.12.0.2* meliputi pemodelan molekul 2D dan 3D.

Senyawa uji dipilih 20 senyawa yang selanjutnya dilakukan optimasi geometri pada perangkat lunak *Gaussian09* menggunakan metode *DFT* (*Density Functional Theory*) dengan basis set 6-31G. Validasi metode *docking* (*redocking*) dilakukan pada perangkat lunak *AutoDockTools v.4.2.6* dengan menentukan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang memiliki nilai syarat $\leq 2 \text{ \AA}$ (Angstrom). Selanjutnya senyawa uji dilakukan simulasi *docking* terhadap reseptor target pada sisi aktifnya untuk mengetahui nilai energi bebas ikatan (ΔG) kompleks protein – ligan, nilai konstanta inhibisi (K_i) senyawa uji, serta dilihat interaksi ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor.

Simulasi dinamika molekul dilakukan pada perangkat lunak *Gromacs v.5.1.1* terhadap 10 senyawa uji dengan afinitas terbaik (nilai ΔG nilai K_i terendah) untuk memperoleh data kestabilan interaksi dari waktu ke waktu. Prediksi toksisitas 20 senyawa uji dilakukan menggunakan perangkat lunak *ADMET Predictor v.8.1* untuk mengetahui keamanan dan sifat toksiknya dalam tubuh manusia.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Protein uji yang digunakan adalah reseptor *human SIRT3* (hSIRT3) dengan kode PDB 4C7B. Kompleks protein ini terdiri dari ligan alami 4'-bromo-resveratrol (5-(2-(4-hidroksifenil)vinil)-1,3-benzenediol) dan komponen lain seperti substrat Fluor-de-Lys (FdL), ion zink, gliserol, dan isopropil alkohol. Substrat FdL digunakan untuk menguji daya efek inhibisi 4'-bromo-resveratrol terhadap aktivitas hSIRT3 serta molekul kecil lainnya sebagai ligan, ion zink yang berperan dalam stabilitas protein, gliserol dan isopropil alkohol berperan dalam proses kristalisasi protein (Nguyen dkk., 2013).



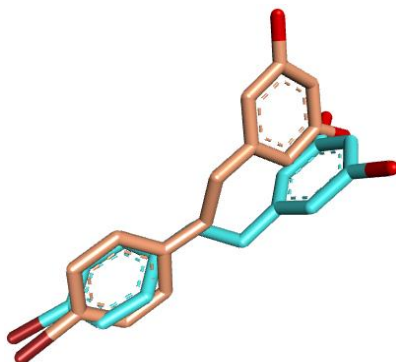
Gambar 1. Kompleks reseptor hSIRT3 dengan 4'-Br-Resv (BVB)

Optimasi Geometri

Optimasi geometri dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Gaussian09*. Tujuan optimasi geometri adalah untuk memperoleh konformasi paling stabil dengan menghitung energinya hingga dicapai energi minimum. Dalam penelitian ini metode optimasi yang dipilih ialah metode DFT dengan fungsi B3LYP dan basis set dipilih 6-31G. Metode DFT memiliki keakuratan yang tinggi karena menggunakan persamaan Schrodinger, tidak hanya menghitung elektron menggunakan persamaan gelombang tetapi DFT menghitung elektron berdasarkan distribusinya (fungsi kerapatan elektron). Selain itu juga, basis-set 6-31G memberikan geometri yang baik dan energi relatif yang masuk akal serta merupakan basis dasar yang paling umum digunakan.

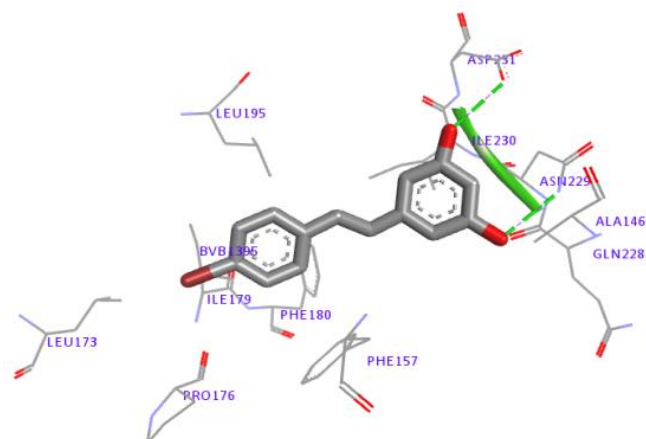
Simulasi Docking

Sebelum dilakukan simulasi *docking* terhadap senyawa uji, parameter atau metode *docking* yang dilakukan harus divalidasi terlebih dahulu. Validasi metode *docking* (*redocking*) dilakukan untuk menghitung nilai RMSD. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi parameter proses *docking* yang dijalankan sudah sesuai atau tidak, dan menggambarkan seberapa besar perubahan konformasi ligan alami sebelum dan sesudah validasi dilakukan. Metode *docking* dikatakan *reliable* / valid apabila nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ (Cole dkk., 2005), yang berarti semakin kecil nilai RMSD semakin dekat posisi ligan alami hasil docking dengan ligan alami hasil kristalografi. Sistem *docking* yang digunakan dalam kondisi ligan yang fleksibel. Kondisi ligan fleksibel memungkinkan ligan untuk melakukan penyesuaian struktur demi mencapai konformasi yang stabil saat berikatan dengan sisi aktif reseptor.

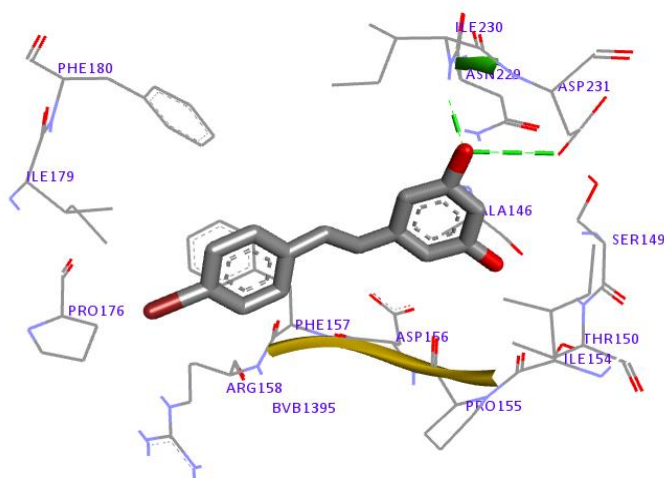


Gambar 2. Hasil visualisasi tumpang tindih ligan alami sebelum *redocking* (biru) dengan ligan alami sesudah *redocking* (merah).

Metode *docking* yang dilakukan memiliki nilai kordinat penambatan $X=-38,086$; $Y=-15,986$; $Z=-2,902$ dengan ukuran *Grid Box* $60 \times 60 \times 60$ dan *Grid Spacing* $0,375 \text{ \AA}$. Metode algoritma yang digunakan *Lamarckian Genetic Algorithm*. Simulasi *docking* dilakukan pencarian konformasi sebanyak 100 kali dalam sekali *docking* dengan evaluasi medium. Hasil validasi *docking* menunjukkan nilai RMSD $1,88 \text{ \AA}$; nilai $\Delta G = -7,89 \text{ kkal/mol}$ dengan nilai K_i sebesar $1,65 \mu\text{M}$ (micromolar). Dari 100 konformasi, nilai hasil perhitungan *docking* ligan alami tersebut berada pada kluster pertama dan pada konformasi ke-95.



Gambar 3. Visualisasi interaksi ikatan hidrogen sebelum *redocking*



Gambar 4. Visualisasi interaksi ikatan hidrogen sesudah *redocking*

Interaksi berupa ikatan hidrogen sebelum *redocking* pada struktur kristal ditunjukkan oleh residu asam amino ASN229 pada atom nitrogen dan ASP231 pada atom oksigen. Sedangkan interaksi berupa ikatan hidrogen setelah *redocking* ditunjukkan oleh residu asam amino ILE230 pada atom amin sekunder dan ASP231 pada atom oksigen. Berdasarkan hasil interaksi tersebut, diprediksi bahwa residu ASP231 memiliki interaksi yang lebih stabil dengan ligan alami.

Berdasarkan hasil validasi *docking* yang dilakukan, parameter yang digunakan telah memenuhi syarat validitas sehingga metode tersebut dapat digunakan untuk simulasi *docking* senyawa uji.

Simulasi *docking* senyawa uji dilakukan untuk mengetahui konformasi interaksi senyawa uji pada sisi aktif reseptor protein target dan senyawa uji mana yang mempunyai afinitas terbaik terhadap reseptor protein target.

Parameter yang diamati pada hasil *docking* yang pertama meliputi analisis energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) yang berkaitan dengan afinitas pengikatan. Afinitas pengikatan merupakan aspek penting yang harus diperhatikan pada interaksi ligan dan reseptor. Afinitas pengikatan yang lebih rendah menandakan bahwa suatu senyawa tersebut membutuhkan energi yang sedikit untuk melakukan pengikatan atau interaksi dengan reseptor. Dengan kata lain, nilai afinitas pengikatan yang lebih rendah memiliki potensi yang lebih besar untuk dapat berinteraksi dengan protein target (Pangastuti dkk., 2016).

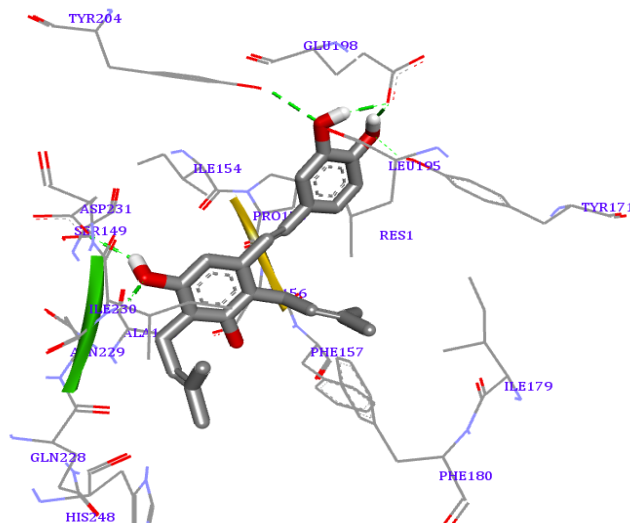
Tabel 1. Energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i)

No	Senyawa uji	ΔG ($^{\text{kcal}}/\text{mol}$)	K_i
1	Trihydroxystilbene-3	-8,68	430,80 nM
2	Tetrahydroxystilbene-2	-8,41	685,22 nM
3	ϵ -Viniferin	-8,39	702,56 nM
4	Reflexanbene-2	-8,39	713,03 nM
5	Arahypin-14	-8,28	856,73 nM
6	Tetrahydroxystilbene-4	-8,22	947,26 nM
7	Arahypin-10	-8,17	1,02 μM
8	Bambusifolol	-7,75	2,07 μM
9	SB-1	-7,70	2,28 μM
10	Gnetin-L	-7,62	2,59 μM
11	Chiricanine-B	-7,48	3,26 μM
12	Arahypin-5	-7,44	3,52 μM
13	Arahypin-15	-7,41	3,71 μM
14	Arahypin-13	-7,40	3,75 μM
15	Acetonida of Arahypin-4	-7,21	5,16 μM
16	Vitisin-B	-7,18	5,48 μM
17	Hydroxy-IPD	-7,09	6,35 μM
18	Arahypin-2	-7,08	6,51 μM
19	Trans-Arachidin-1	-6,90	8,77 μM
20	Dihydroxystilbene-2	-6,86	9,31 μM

Analisis energi bebas dilakukan untuk mengetahui spontanitas suatu reaksi dan kestabilan interaksi ligan – reseptor. Kestabilan interaksi ligan – reseptor dicerminkan dengan nilai ΔG yang rendah (minus). Kestabilan interaksi ini sebanding dengan potensi senyawa untuk membentuk ikatan kimia yang kuat (Adelina, 2014). Secara eksperimental ΔG berkaitan langsung dengan K_i , hal tersebut sesuai dengan persamaan : $\Delta G = -RT \ln K_i$. Dengan demikian, nilai ΔG mampu memprediksi kemampuan suatu senyawa dalam menghambat protein (Kartasmita dkk., 2009).

Hasil *docking* senyawa uji derivat stilben menunjukkan bahwa keseluruhan senyawa uji memiliki $\Delta G < 0$ yang menggambarkan bahwa senyawa uji memiliki afinitas pada sisi aktif reseptor hSIRT3. Dari 20 senyawa uji, nilai ΔG dan K_i yang rendah (satuan nanomolar) ditunjukkan oleh 6

senyawa uji (Tabel 1). Diantara ke-20 senyawa uji, senyawa Trihydroxystilbene-3 memiliki afinitas terbaik dengan nilai ΔG dan K_i terendah, yaitu $-8,68$ kkal/mol dan $430,80$ nM. Hasil *docking* dipilih 10 senyawa dengan nilai afinitas terbaik (nilai ΔG dan K_i terendah) pada hasil *docking* untuk dilanjutkan ke tahap simulasi dinamika molekul.



Gambar 5. Visualisasi hasil *docking* senyawa uji afinitas terbaik pada sisi aktif hSIRT3

Ikatan hidrogen adalah interaksi spesifik yang paling penting dalam proses interaksi ligan – reseptor. Oleh sebab itu, ikatan hidrogen berkontribusi terhadap afinitas suatu molekul terhadap protein target yang membentuk interaksi elektrostatik (donor dan akseptor hidrogen). Analisis interaksi ikatan hidrogen memiliki kriteria ikatan hidrogen sebagai donor dan akseptor hidrogen ialah dengan jarak ikatan $< 3,9$ Å (Bissantz dkk., 2010; Torshin dkk., 2002).

Pada gambar diatas, menunjukkan interaksi ikatan hidrogen senyawa uji dengan hSIRT3. Pada gambar tersebut dapat diamati bahwa residu asam amino yang terlibat dalam interaksi adalah ILE230, ASP231, TYR171, dan GLU198. Hal ini sejalan dengan interaksi ikatan hidrogen pada struktur kristal dan hasil validasi *docking* bahwa residu ASP231 diprediksi memiliki interaksi yang stabil antara senyawa derivat stilben dengan hSIRT3. Senyawa uji yang berikatan pada residu asam amino yang sama dengan ligan alami, dapat diprediksi mempunyai aktifitas biologis yang sama dengan ligan alaminya.

Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul antara protein hSIRT3 dengan 10 senyawa uji terbaik hasil simulasi *docking* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Gromacs v.5.1.1*. Tujuan dilakukannya simulasi dinamika molekul ialah untuk mengkaji kestabilan interaksi protein dengan ligan dalam kondisi yang dibuat semirip mungkin dengan fisiologis tubuh manusia dalam rentang waktu tertentu.

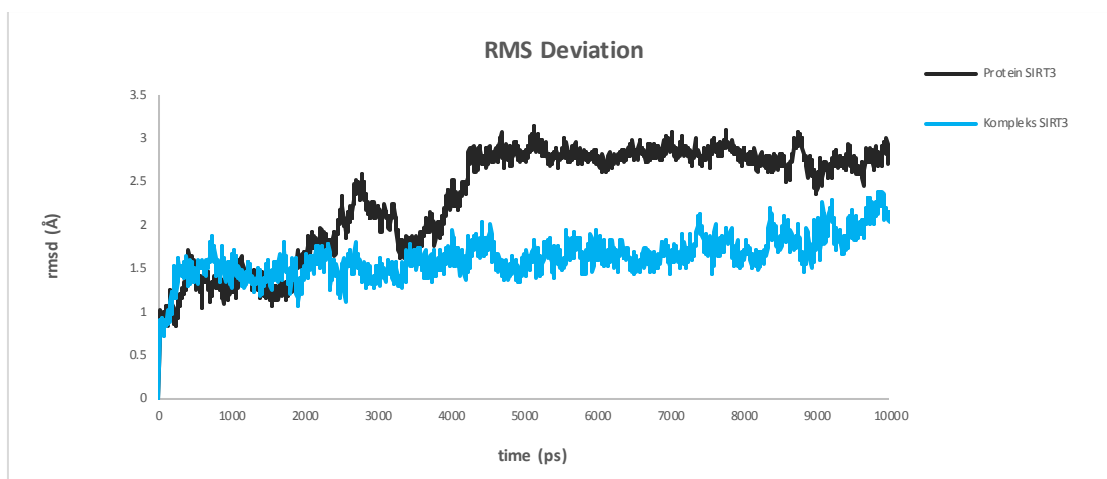
Sebelum dilakukan simulasi dinamika molekul, terlebih dahulu dilakukan persiapan pembuatan topologi dan koordinat 10 senyawa uji yang telah dipilih, reseptor hSIRT3, dan pembuatan kompleks protein – ligan untuk disimulasikan. Simulasi dinamika molekul terdiri dari beberapa tahapan : tahap pertama yaitu tahap solvasi, pada tahap ini sistem kompleks protein – ligan dilarutkan pada air tipe TIP3P dengan tipe box *cubic*. Pada tahap kedua, tahap netralisasi yaitu penambahan *counter-ions* (ion Na^+ & ion Cl^-) untuk membuat sistem menjadi netral (Desheng dkk., 2011).

Tahap ketiga yakni tahap minimisasi, dengan tujuan untuk menghindari bentrokan antar atom ketika terjadi proses penambahan dan pemutusan ikatan hidrogen. Selanjutnya tahap ekulibrasi, pada tahap ini sistem dibuat dalam keadaan konstan baik temperatur, volume dan tekanan (Setiajid, 2012). Tahap terakhir yaitu tahap produksi, pada tahap ini simulasi dinamika molekul mulai dijalankan.

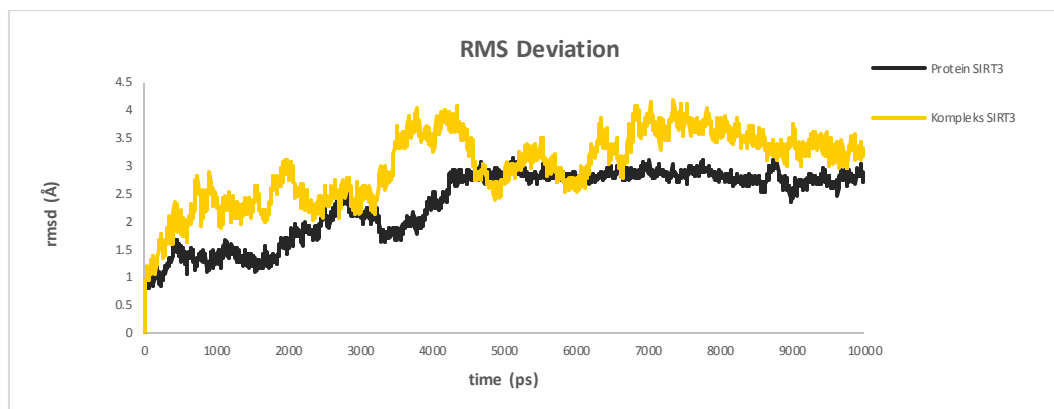
Simulasi yang dilakukan selama 10 ns (*nanosecond*), dan dijalankan sebanyak 3 kali produksi simulasi (1 ns, 5 ns, 10 ns). Dalam sekali simulasi (1 ns) tiap 5 ps (*picosecond*) konformasi

kompleks protein – ligan disimpan, sehingga dalam sekali simulasi terdapat 200 *frame* konformasi kompleks protein – ligan. Dari hasil simulasi kemudian dilakukan analisis grafik RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan analisis grafik RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*).

RMSD atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan suatu ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan perubahan atau pergerakan konformasi molekul (Farkhani, 2012). Tujuan dilakukan analisis RMSD hasil simulasi dinamika molekul ini ialah untuk menggambarkan seberapa jauh keadaan kompleks protein – ligan berubah tiap waktunya sampai akhir simulasi serta memastikan stabilitas struktur kompleks protein – ligan. Data RMSD tersebut dijelaskan dalam bentuk grafik yang diplotkan antara nilai RMSD atom *backbone* protein terhadap waktu simulasi.



Gambar 6. Grafik RMSD Tetrahydroxystilbene-2 + hSIRT3



Gambar 7. Grafik RMSD SB-1 + hSIRT3

Berdasarkan grafik RMSD hasil simulasi dinamika molekul, kompleks protein – ligan yang menunjukkan kestabilan ditandai oleh nilai RMSD $\pm 1,5 \text{ \AA}$ (Gambar 6) karena pada saat simulasi dari awal hingga akhir grafik RMSD cenderung konstan tidak terjadi fluktuatif. Grafik RMSD yang konstan menandakan bahwa interaksi yang terjadi antara protein dan senyawa uji sangat stabil, sehingga protein cenderung mempertahankan strukturnya.

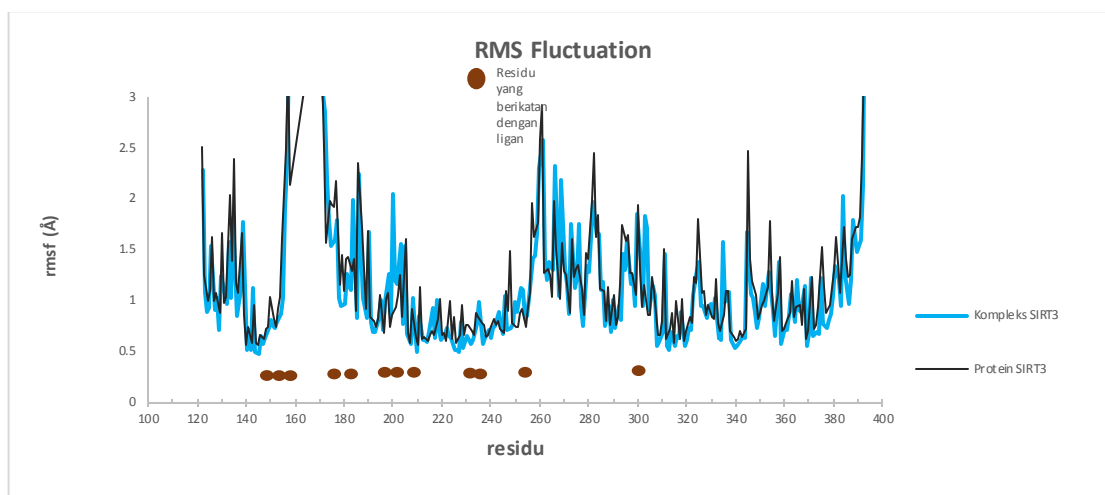
Pada grafik RMSD sistem protein, grafik cenderung fluktuatif dan tidak konstan dengan kisaran nilai RMSD *backbone* 1 – 3 Å. Dengan adanya interaksi senyawa uji pada sisi aktif hSIRT3 mampu menurunkan grafik RMSD sistem protein menjadi lebih konstan. Grafik RMSD yang menunjukkan ketidakstabilan dapat dilihat dari nilai RMSD yang besar (Gambar 7) yang terus mengalami fluktuasi dari awal simulasi hingga akhir simulasi.

RMSF atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi adalah ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensi. Berbeda dengan RMSD, RMSF dihitung terhadap masing-masing

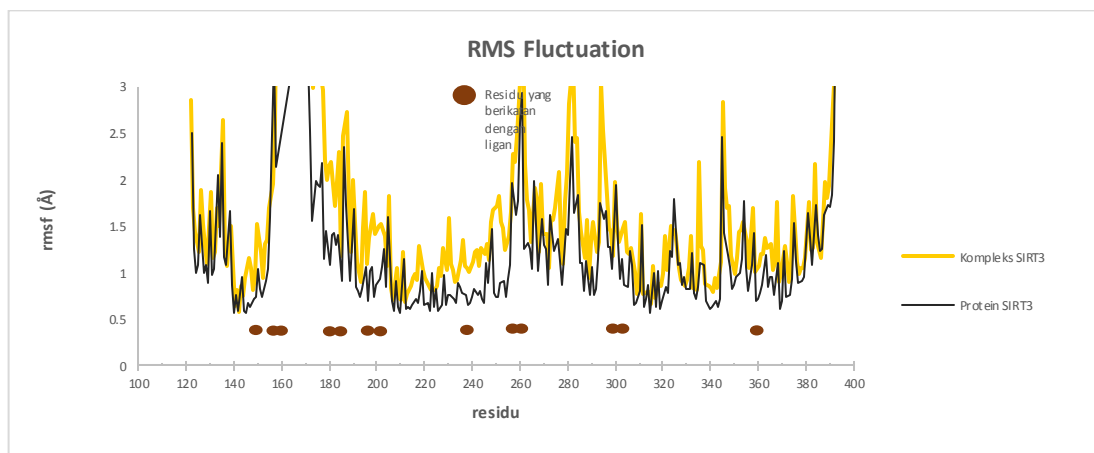
residu asam amino penyusun protein yakni melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu asam amino selama simulasi berlangsung.

Nilai RMSF diukur saat energi energi potensial memiliki fluktuasi terkecil, yaitu dimulai dari 1 ns hingga akhir simulasi (Farkhani, 2012). Tujuan dilakukan analisis RMSF hasil simulasi dinamika molekul ini ialah untuk melihat fleksibilitas residu asam amino pada sisi aktif. Fleksibilitas yang rendah menggambarkan kestabilan interaksi kompleks protein – ligan (Setiajid, 2012).

Fleksibilitas residu asam amino yang rendah menunjukkan adanya kestabilan interaksi pada daerah sisi aktif yang berikatan dengan senyawa uji karena atom-atom penyusun residu asam amino cenderung tidak banyak perubahan posisi pada saat simulasi dinamika molekul berlangsung.



Gambar 8. Grafik RMSD Tetrahydroxystilbene-2 + hSIRT3



Gambar 7. Grafik RMSF SB-1 + hSIRT3

Prediksi Toksisitas

Tujuan dilakukannya tahapan ini ialah untuk memprediksi dan menilai kemungkinan toksisitas dan resiko-resiko yang muncul dari senyawa uji yang dapat berefek pada manusia. Prediksi toksisitas sangat penting untuk dilakukan, karena senyawa uji sebagai kandidat obat tidak hanya dibutuhkan aktifitas biologis yang baik, tetapi juga dibutuhkan senyawa yang mempunyai nilai toksisitas yang rendah.

Dalam penelitian ini, uji prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *ADMET Predictor v.8.1*. Jenis toksisitas yang diuji, antara lain : toksisitas endokrin, dosis maksimum terapeutik yang direkomendasikan (*MRTD*), karsinogenisitas dan genotoksisitas, toksisitas terhadap jantung, efek samping terhadap hati manusia, toksisitas akut terhadap tikus, sensitifitas terhadap kulit dan pernapasan, dan toksisitas terhadap organ reproduksi.

Resiko toksisitas yang dinyatakan dalam model “Tox_Risk” menunjukkan potensi toksisitas dari senyawa uji. “Tox_Risk” menggambarkan beberapa parameter yang tidak memenuhi syarat pengujian toksisitas senyawa uji berdasarkan data WDI (*World Drug Index*). Kriteria penilaian tersebut apabila nilai “Tox_Risk” < 2, menjelaskan bahwa sebesar 83% pengujian toksisitas memenuhi syarat tidak menimbulkan toksisitas. Nilai “Tox_Risk” = 2, menjelaskan sebesar 11% pengujian toksisitas memenuhi syarat tidak menimbulkan toksisitas dan jika nilai “Tox_Risk” > 2, menjelaskan bahwa sebesar 6% pengujian toksisitas memenuhi syarat tidak menimbulkan toksisitas (SimulationPlus, Inc., 2016).

Berdasarkan nilai “Tox_Risk” menunjukkan bahwa seluruh senyawa uji memiliki nilai “Tox_Risk” < 2, yang menunjukkan bahwa seluruh senyawa uji sebesar 83% tidak menyebabkan toksisitas pada tubuh manusia.

KESIMPULAN

Berdasarkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* diperoleh sepuluh senyawa dengan afinitas terbaik: Trihydroxystilbene-3, Tetrahydroxystilbene-2, ϵ -Viniferin, Reflexanbene-2, Arahypin-14, Tetrahydroxystilbene-4, Arahypin-10, Bambusifolol, SB-1, Gnetin-L dengan nilai ΔG berturut-turut: -8,68; -8,41; -8,39; -8,39; -8,28; -8,22; -8,17; -7,75; -7,70; -7,62 kkal/mol. Hasil simulasi dinamika molekul selama 10 ns menunjukkan bahwa senyawa Tetrahydroxystilbene-2, Arahypin-10, dan Gnetin-L memiliki kestabilan interaksi terhadap hSIRT3 yang ditunjukkan oleh grafik RMSD & RMSF. Hasil prediksi toksisitas seluruh senyawa uji menjelaskan bahwa sebesar 83% senyawa uji tidak menimbulkan toksisitas. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa senyawa Tetrahydroxystilbene-2 berpotensi menjadi kandidat senyawa inhibitor hSIRT3 dengan afinitas yang tinggi dan resiko toksisitas yang minimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Hamilton, E.C., Austin, M.T. (2016), Childhood and Adolescent Melanoma—Where Do We Stand Today?, *Internal Medicine Review*.
- American Cancer Society (ACS). (2017), Overview : *Melanoma Skin Cancer – About Melanoma Skin Cancer*.
- Hendaria, M.P., Asmarajaya, A., Maliawan, S. (2013), Kanker Kulit, *medika udayana*. **2**, 2, 1 – 17.
- Madonna, G., Ullman, C.D., Gentilcore, G., Palmieri, G., Ascierio, P.A. (2012), NF- κ B as potential target in the treatment of melanoma, *Journal of Translational Medicine*, **10**, 53.
- Ansari, A., Rahman, S.M., Saha, K.S., Saikot, K.F., Deep, A., Kim, H.K. (2016), Function of the SIRT3 mitochondrial deacetylase in cellular physiology, cancer, and neurodegenerative disease, *Aging Cell*, 1 – 13.
- Chen, Y., Fu, L.L., Wen, X., Wang, X.Y., Liu, J., Cheng, Y., Huang, J. (2014), Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer, *Cell Death and Disease*, **5**, e1047.
- George, J., Nihal, M., Singh, K.C., Nihal, A. (2015), Small molecule SIRT3 inhibitor 4'-bromo-resveratrol inhibits proliferation, promotes apoptosis and causes metabolic reprogramming of human melanoma cells, *AACR : Molecular and Cellular Biology*.
- George, J., Nihal, M., Singh, K.C., Zhong, W., Liu, X., Nihal, A. (2016), Pro-Proliferative Function of Mitochondrial Sirtuin Deacetylase SIRT3 in Human Melanoma, *Journal of Investigative Dermatology*.
- Nguyen, G.T.T., Gertz, M., Steegborn, C. (2013), Crystal Structures of Sirt3 Complexes with 40-Bromo-Resveratrol Reveal Binding Sites and Inhibition Mechanism, *Chemistry & Biology*. **20**, 1375 – 1385.
- Pangastuti, A., Amin, M., Indriwati, S.E. (2016), Mengungkap potensi senyawa alami melalui teknik *Reverse Docking*, *Prosiding Seminar Nasional II*, Malang, Universitas Muhammadiyah Malang, 668 – 674.
- Adelina, R. (2014), Uji *Molecular Docking Annonuricin E* dan *Muricapentocin* pada Aktivitas Antiproliferasi, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **12**, 1, 32 – 36, ISSN 1693 – 1831.
- Kartasmita, R.E., Herowati, R., Harmastuti, N., Gusdinar, T. (2009), Docking Turunan Kuersetin Berdasarkan Studi Interaksi Flavonoid Terhadap Enzim Siklooksigenase-2, *Indonesian Journal of Chemistry*, **9**, 2, 297 – 302.

- Bissantz, C., Kuhn, B., Stahl, M. (2010), A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions, *Journal of Medicinal Chemistry*, **53**, 5061 – 5084.
- Torshin, I.Y., Weber, I.T., Harrison, R.W. (2002), Geometric criteria of hydrogen bonds in protein and identification of 'bifurcated' hydrogen bonds, *Protein Engineering*, **15**, 5, 359 – 363.
- Desheng, L., Jian, G., Yuanhua, C., Wei, C., Huai, Z., Mingjuan, J. (2011), Molecular dynamics simulations and MM/GBSA methods to investigate binding mechanisms of aminomethylpyrimidine inhibitors with DPP-IV, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter*, **21**, 6630 – 6635.
- Setiajid, M.A. (2012), *Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekul Kompleks Siklooksigenase-2 Dengan Beberapa Senyawa 3-fenil-2-stiril-4(3H)-kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida Atau Sulfasetamida*, Skripsi Program Sarjana, Universitas Indonesia, 26 – 38.
- Farkhani, A. (2012), *Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Kompleks α -Glukosidase dengan Sulokrin*, Skripsi Program Sarjana, Universitas Indonesia, 52 – 53.
- CambridgeSoft Corporation (Cambridge Scientific Computing, Inc.). (2009), *ChemOffice™ User Manual*, Cambridge, USA.
- Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H.P., Izmaylov, A.F., Bloino, J., Zheng, G., Sonnenberg, J.L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J.A., Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J.J., Brothers, E., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J.M., Klene, M., Knox, J.E., Cross, J.B., Bakken, V., Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R., Stratmann, R.E., Yazyev, O., Austin, A.J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Zakrzewski, V.G., Voth, G.A., Salvador, P., Dannenberg, J.J., Dapprich, S., Daniels, A.D., Farkas, O., Foresman, J.B., Ortiz, J.V., Cioslowski, J., Fox, D.J. (2009), *Gaussian 09, Revision A.02*, Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K. Goodsell, D.S., Olson, A.J. (2009), AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility, *Journal of Computational Chemistry*, Vol.30, No.16, 2785 – 2791.
- Abraham, M.J., Spoel, van der D., Lindahl, E., Hess, B., and the GROMACS development team. (2015), *GROMACS User Manual version 5.1.1*. (www.gromacs.org).
- Simulation Plus Inc. (2016), *ADMET Predictor™ User Manual*, California, USA.
- Cole, J.C., Murray, C.W., Nissink, J.W.M., Taylor, R.D., Taylor, R. (2005), Comparing Protein – Ligand Docking Programs Is Difficult, *PROTEINS : Structure, Function, and Bioinformatics*, **60**, 3, 325 – 332.