

DOCKING MOLEKULER SENYAWA HESPERIDIN DALAM TANAMAN KULIT JERUK NIPIS (*CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE*) SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE DENGAN AUTODOCK-VINA

Ervina Novitasari¹ , Gina Nur Fitria Mulyana Putri², Yulia Rahmawati³, Ruswanto⁴

Mahasiswa Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

*: Yulia20Rahma28@gmail.com

ABSTRAK

Hidrokuinon telah digunakan dalam kosmetik karena memiliki aktivitas sebagai pemutih. Pada penelitian sebelumnya, Hesperidin dalam tanaman Jeruk Nipis juga diketahui memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim *tyrosinase*. Perlu diketahui bagaimana mekanisme interaksi senyawa Hesperidin terhadap tirosinase (5M8N) dan senyawa manakah antara hidrokuinon dan Hesperidin yang memberikan aktivitas sebagai pemutih yang lebih baik secara komputasi. Tirosinase dipreparasi menggunakan Discovery Studio Visualizer. Ligan dipreparasi dengan menggunakan *Autodock 1.5.6*, *Biovia Discovery Studio Visualizer*, *Molegro*, *Marvin sketch chem axon*, *Notepad++* dan *Command Window*. Hasil molecular docking ligan senyawa hesperidin terhadap enzim tirosinase (5M8N) didapatkan nilai energi bebas ikatan yaitu -7,49 sedangkan untuk ligan senyawa hidrokuinon terhadap enzim tirosinase (5M8N) didapatkan . Dari hasil visualisasi struktur 2D dan 3D pada molecular docking reseptor dengan ligan hesperidin terdapat beberapa jenis interaksi ikatan diantaranya ikatan van der Waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, Pi-Cation, dan alkil. Sedangkan pada hasil visualisasi struktur 2D dan 3D pada molecular docking reseptor dengan ligan hidrokuinon terdapat beberapa jenis interaksi ikatan yaitu ikatan van der Waals, ikatan hydrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan Pi-Pi Stacked.

Kata Kunci : Pemutih, Hesperidin, Kulit Jeruk Nipis, *Docking Molekular*, *Autodock*

ABSTRACT

Hydroquinone has been used in cosmetics because it has whitening activity. In previous studies, Hesperidin in Lime plants was also known to have activity as an inhibitor of the tyrosinase enzyme. It is necessary to know how the interaction mechanism of Hesperidin compounds with tyrosinase (5M8N) and which compounds between hydroquinone and Hesperidin provide better activity as a whitener computationally. Tyrosinase was prepared using the Discovery Studio Visualizer. Ligands were prepared using Autodock 1.5.6, Biovia Discovery Studio Visualizer, Molegro, Marvin sketch chem axon, Notepad++ and Command Window. The results of molecular docking of hesperidin compound ligands to the tyrosinase enzyme (5M8N) obtained a bond free energy value of -7.49 while for hydroquinone compound

ligands to the tyrosinase enzyme (5M8N) were obtained. From the results of visualization of 2D and 3D structures on molecular docking receptors with hesperidin ligands, there are several types of bond interactions including van der Waals bonds, conventional hydrogen bonds, hydrogen carbon bonds, Pi-Cations, and alkyls. While the results of visualization of 2D and 3D structures on molecular docking receptors with hydroquinone ligands, there are several types of bond interactions, namely van der Waals bonds, conventional hydrogen bonds, hydrogen carbon bonds, and Pi-Pi Stacked.

Keywords : Whitening, Hesperidin, Citrus, Molekular docking, Autodocx

PENDAHULUAN

Senyawa yang memiliki peranan aktif untuk menghambat enzim *tironase* dapat dijadikan bahan baku sebagai pemutih alami. Bagian kulit dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) mengandung senyawa flavonoid yaitu hesperidin, hesperitin, naringenin, rutin dan naringin (Choi et al., 2007). Senyawa flavonoid adalah golongan senyawa yang terbesar dari senyawa polifenol yang bermanfaat sebagai antioksidan (Astawan & Kasih, 2008). Karena memiliki senyawa yang dapat bermanfaat sebagai antioksidan, maka kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) memiliki potensi sebagai bahan alam untuk pemutih. Bentuk kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) pada Gambar 1.



Gambar 1. Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*)

Pigmen warna pada kulit disebut dengan melanin, melanin ini diproduksi di sel melanosit yang kemudian distribusikan di

antara keranosit pada lapisan dasar epidermis kulit. Jika enzim tironase keadaannya sedang aktif maka kecepatan pembentukan melanin akan meningkat, tetapi jumlah adanya melanin pada kulit ini akan sangat memberikan pengaruh pada warna kulit (Abidin et al., 2019).

Pada proses sintesis melanin diawali dengan enzim tironase mengoksidasi asam amino L-Tirosin dan diubah menjadi bentuk L-DOPA oleh enzim tironase lalu enzim ini melalui reaksi oksidasi akan mengubah L-DOPA menjadi dopaquinon. Dopaquinon ini dapat langsung berubah bentuknya menjadi dopakrom dan produk akhirnya yaitu melanin. Enzim yang terdapat pada proses sintesis melanin dapat dihambat oleh penghambat tironase, yang mana inhibitor nya dikatalis oleh tironase dan membentuk ikatan kovalen yang mengakibatkan enzim menjadi tidak aktif selama berlangsungnya reaksi katalitik (Abidin et al., 2019).

Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) ini mengandung senyawa flavonoid yang mana senyawa ini dapat berpotensi untuk menghambat tironase. Adanya inhibitor dapat mengurangi dan juga menghentikan aktivitas

dari tironase untuk memproduksi melanin yang dapat mempengaruhi warna kulit.

Docking molekular adalah penelitian yang dilakukan pada laboratorium kering dengan menggunakan perangkat komputer untuk menilai ikatan dan potensi apakah senyawa tersebut bisa berikatan dan memberikan aktivitas sebelum diujikan. Docking molekul ini dilakukan untuk melihat potensi kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) sebagai senyawa aktif pemutih yang dapat menghambat enzim tironase. Molecular docking dapat dilakukan ini dapat dilakukan dengan berbagai macam perangkat lunak. Pada penelitian kali ini digunakan perangkat lunak Autodock untuk docking, untuk preparasi ligan dan protein menggunakan program molegro dan Marvin sketch Chem axon dan untuk visualisasi menggunakan program Discovery Studio Visualizer. Alasan digunakannya program Autodock, molegro, Marvin sketch Chem axon dan Discovery Studio Visualizer adalah karena tidak berbayar (gratis), pengoperasiannya mudah, akurat dan juga memiliki tingkat error yang rendah sehingga hasilnya dapat dipercaya.

Pada penelitian kali ini digunakan kontrol positif yaitu hidrokuinon. Fungsi dari senyawa pembanding adalah agar kita dapat melihat senyawa obat yang kita ujikan, apakah benar bahwa senyawa tersebut dapat digunakan sebagai pemutih dalam kosmetik. Percobaan kali ini tujuannya untuk membandingkan senyawa yang memiliki fungsi sebagai pemutih pada produk kosmetik di pasaran yaitu hidrokuinon dengan salah satu senyawa flavonoid dari kulit jeruk nipis (*Citrus*

aurantifolia Swingle) yaitu hesperidin, untuk mengetahui perbandingan dari interaksi ligan protein antara hesperidin dengan tironase dan hidrokuinon dengan tironase sebagai kontrolnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Perangkat keras yang digunakan yaitu perangkat komputer lengkap dengan spesifikasi prosesor Intel celeron N4000 CPU kecepatan 1.10 GHz up to 2.60 GHz, resolusi monitor 1366x768p, RAM 4 GB, Windows 10 Home. Perangkat lunak yang digunakan adalah *Autodock 1.5.6*, *Biovia Discovery Studio Visualizer*, *Molegro*, *Marvin sketch chem axon*, *Notepad++* dan *Command Window*.

Subjek Penelitian

Protein/Reseptor target yang digunakan adalah *tironase* pada manusia. Reseptor/Protein ini didapatkan dari www.pdb.org dengan kata kunci PDB 5M8N : *Crystal structure of human tyrosinase related protein 1 in complex with mimosine* yang terdapat pada organisme *homo sapiens* dengan *X-Ray diffraction* yang berada pada resolusi pengukuran adalah 2.60 Å. Nilai R kerja 0.219, nilai R bebas 0.275, dan nilai R pengamatan 0.222 dimana tidak terjadi mutasi. Gambar reseptor 5M8N disajikan pada Gambar 2.

Ligan yang digunakan adalah hesperidin sebagai senyawa aktif pemutih dan antioksidan pada dari kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) dan hidrokuinon sebagai

kontrol positif. Ligan hesperidin disajikan pada Gambar 4.

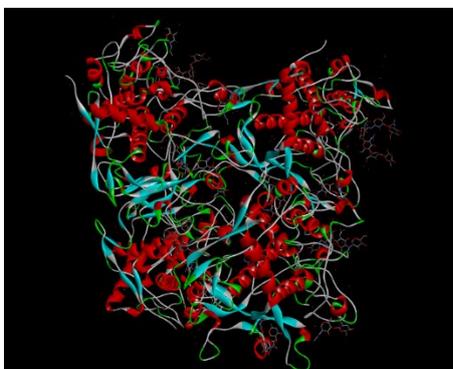
Pengunduhan Protein dan Pembentukan Ligan

Protein 5M8N diunduh dari www.pdb.org dan disimpan dalam bentuk .pdb. Ligan hidrokuinon dan ligan hesperidin dibentuk pada program *Marvin sketch Chem axon*. Ligan hidrokuinon disajikan pada Gambar 5.

Proses Preparasi Ligan dan Protein

Pada program *Autodock 1.5.6* ikatan protein dari ligan yang terikat di dalamnya dihapus dan molekul airnya dibuang kemudian disimpan dalam bentuk pdb. Kemudian dipreparasi untuk menambah hidrogen kemudian di gabung lalu diikat dengan ligan untuk selanjutnya dipersiapkan untuk dimasukkan ke dalam *grid box*. Berkas reseptor *tironase* 5M8N disajikan pada Gambar 3.

Ligan hesperidin yang sudah dibentuk di *Marvin sketch Chem axon* kemudian di preparasi dengan program *Autodock 1.5.6* dan berkas ligan kemudian disimpan dalam bentuk .pdbqt.



Gambar 2. *Tironase* (kode 5M8N) hasil unduhan dari www.pdb.org sebelum di preparasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan molekul protein 5M8N yang merupakan protein dari enzim tirosinase sebagai reseptor yang diperoleh dari Protein Data Bank. Enzim tirosinase merupakan enzim yang mengkatalis proses melanogenesis. Melanogenesis ini terjadi karena adanya proses oksidasi oleh tirosin menjadi dopaquinone yang kemudian dikatalis oleh enzim tirosinase. Melanin bermanfaat sebagai pelindung kulit agar terhindar dari paparan sinar ultraviolet. Namun pada kondisi tertentu produksi melamin bisa terjadi secara berlebihan yang disebut dengan hiperpigmentasi. Untuk menghindari hal tersebut maka perlu digunakan senyawa yang dapat menghambat kerja enzim tirosinase dan sintesis melamin (Chang, 2012). Maka dari itu perlu salah satu cara yang dapat dilakukan yaitu dengan melakukan molecular docking. Molecular docking ini merupakan suatu metode simulasi yang digunakan untuk mengetahui interaksi antara ligan dengan reseptor (Pradani et al., 2021). Ligan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu hesperidin. Hesperidin merupakan flavonoid dari jenis flavon dalam bentuk glikosida. Kemudian untuk kontrol positif digunakan ligan uji hidrokuinon sebagai pembanding.

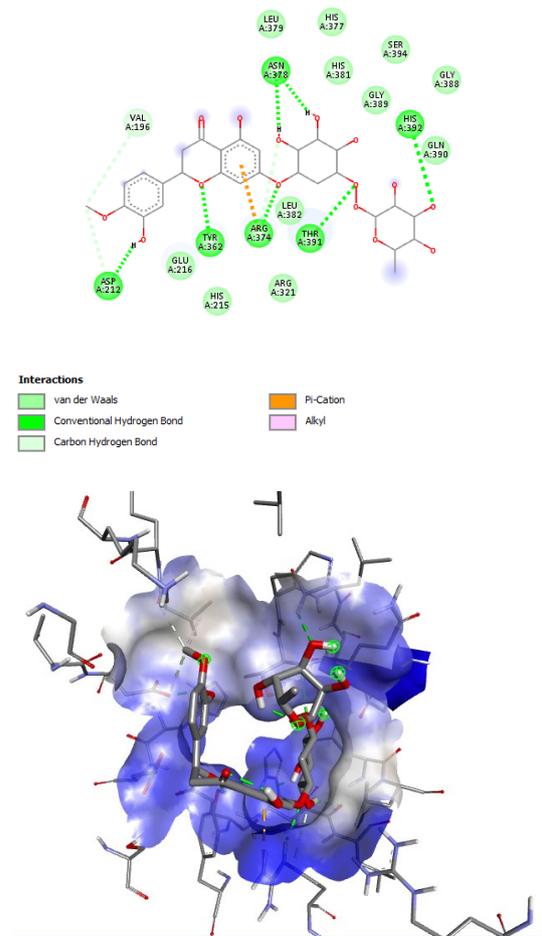
Berdasarkan hasil molecular docking senyawa hesperidin dan hidrokuinon dengan reseptor enzim tirosinase (5M8N)

menggunakan aplikasi Autodock diperoleh nilai energi bebas ikatan sebagai berikut.

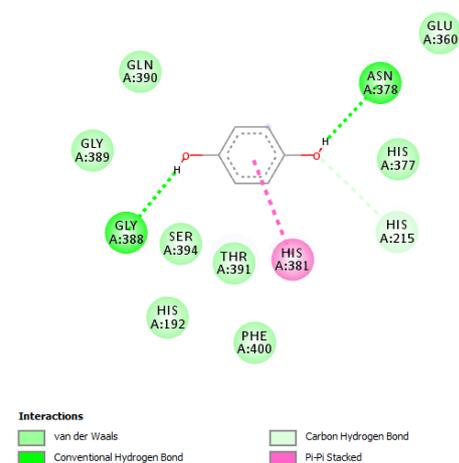
Tabel 1. Hasil nilai energi bebas ikatan dari ligan uji hesperidin dan hidrokuinon dengan reseptor enzim tirosinase (5M8N)

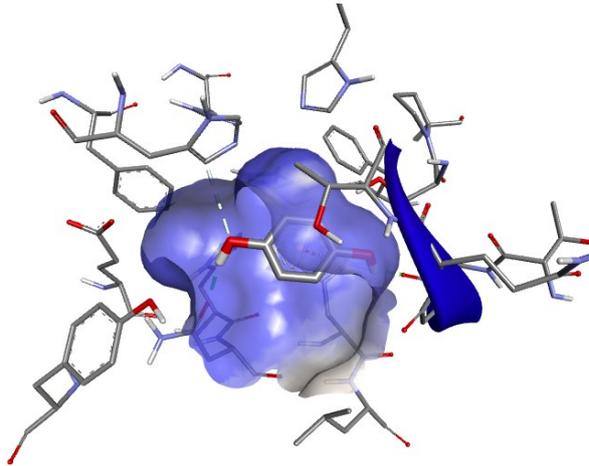
Senyawa	Nilai energi bebas ikatan (kcal/mol)
Hesperidin	-7,49
Hidrokuinon	-4,43

Hasil molecular docking ligan senyawa hesperidin terhadap enzim tirosinase (5M8N) didapatkan nilai energi bebas ikatan yaitu -7,49 sedangkan untuk ligan senyawa hidrokuinon terhadap enzim tirosinase (5M8N) didapatkan nilai energi bebas ikatan yaitu -4,43. Dari hasil tersebut diketahui bahwa ikatan senyawa heperidin dengan sisi aktif enzim tirosinase lebih kuat dibandingkan dengan hidrokuinon sebagai ligan pembanding. Hal ini dikarenakan semakin negatif atau semakin kecil nilai energi bebas ikatan maka akan semakin kuat ikatan yang terbentuk. Terlihat pada tabel diatas nilai energi bebas ikatan hesperidin lebih negatif dibandingkan dengan hidrokuinon sehingga hesperidin lebih mudah mengikat enzim tirosinase dan menghambat aktivitasnya.



Gambar 3. Visualisasi 2D dan 3D Molecular Docking respetor (5M8N) terhadap ligan Hesperidin





Gambar 2. Visualisasi 2D dan 3D Molecular Docking reseptor (5M8N) terhadap ligan Hidrokuinon

Dari hasil visualisasi struktur 2D dan 3D pada molecular docking reseptor dengan ligan hesperidin terdapat beberapa jenis interaksi ikatan diantaranya ikatan van der Waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, Pi-Cation, dan alkil. Sedangkan pada hasil visualisasi struktur 2D dan 3D pada molecular docking reseptor dengan ligan hidrokuinon terdapat beberapa jenis interaksi ikatan yaitu ikatan van der Waals, ikatan hidrogen konvensional, ikatan karbon hidrogen, dan Pi-Pi Stacked.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hesperidin lebih baik dalam menghambat enzim tirosinase dibandingkan dengan senyawa hidrokuinon. Hal ini ditunjukkan dengan nilai energi bebas ikatan hesperidin lebih negatif yaitu -7,49 dibandingkan dengan hidrokuinon yaitu -4,43.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami persembahkan kepada STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Khaeriah, U., Zuhriana, Z., Pratama, M., & Baits, M. (2019). Tyrosinase Inhibitor Activity Measurement of Crude and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 1(1).
<https://doi.org/10.24198/IJPS%0AT.V1I1.19152>.
- Astawan, W., & Kasih, A. (2008). *Khasiat Warna – Warni Makanan*. PT. Gramedia Pustaka.
- Choi, S., Ko, H., Ko, S., Hwang, J., Park, J., Kang, S., Han, S., Yun, S., & Kim, S. (2007). Correlation between flavonoid content and the no production inhibitory activity of peel extracts from various citrus fruits. *Biol. Pharm. Bull*, 30(4), 772–778.
- Ruswanto, R., Garna, I. M., Tuslinah, L., Mardianingrum, R., Lestari, T., & Nofianti, T. (2018). Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), 236.
<https://doi.org/10.20961/alchemistry.14.2.14396.236-254>.

Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Lestari, T., Nofianti, T., Tuslinah, L., & Nurmalik, D. (2018). In silico study of the active compounds in bitter melon (*Momordica charantia* L) as antidiabetic medication. *Pharmaciana*, 8(2), 177-194.

Ruswanto, R., Miftah, A. M., & Tjahjono, D. H. (2021). In silico study of 1-benzoyl-3-methylthiourea derivatives activity as epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor candidates. *Chemical Data Collections*, 34, 100741.

Ruswanto, R., Nofianti, T.,

Mardianingrum, R., & Kesuma, D. (2022). Design, molecular docking, and molecular dynamics of thiourea-iron (III) metal complexes as NUDT5 inhibitors for breast cancer treatment. *Heliyon*, 8(9).

Chang, T. S. (2012). Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. *Materials*, 5(9), 1661–1685.

Pradani, T. C., Fatimawati, ., Manampiring, A. E., Kepel, B. J., Budiarmo, F. D., & Bodhi, W. (2021). Molecular Docking Terhadap Senyawa Kurkumin dan Arturmeron pada Tumbuhan Kunyit (*Curcuma Longa* Linn.) yang Berpotensi Menghambat Virus Corona. *Jurnal E-Biomedik*, 9(2),