

Studi *In Silico* Senyawa Apigenin Dari Seledri Sebagai kandidat Antituberculosis

Study *In Silico* of Apigenin Compounds From Celery as an Antituberculosis Candidate

Haura Aklina Elyasin¹, Sely Geliana Bila², Yuni Maulidina³, Ruswanto Ruswanto⁴

¹Departement Chemical, Faculty of Pharmacy , STIKes Bakti Tunas Husada, Cilolohan, Tasikmalaya, 46115, Jawa Barat.

*Corresponding author email: yunimaulidina2506@gmail.com

Received 28-10-2021 **Accepted** 11-11-2021 **Available online** 15-12-2021

ABSTRAK

Tuberculosis (TB) merupakan penyakit kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi dari senyawa apigenin dalam seledri terhadap reseptor 2WTA secara in silico. Metode yang digunakan adalah penambatan molekul dan virtual screening. Hasil dari senyawa apigenin menunjukkan bahwa senyawa apigenin dapat berikatan dengan reseptor 2WTA dengan nilai binding afinity senyawa apigenin sebesar -3.68 sedangkan nilai binding afinity dari native ligan adalah sebesar -3.77. Hasil tersebut menggambarkan bahwa senyawa apigenin lebih efektif dalam pengobatan tuberculosis daripada ligan alaminya. Sehingga senyawa apigenin memiliki aktivitas sebagai antituberkolosis.

Kata kunci: *Apigenin, Antituberculosis , In Silico.*

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is a chronic disease caused by Mycobacterium tuberculosis. The purpose of this study was to determine the interaction of the apigenin compound in celery against the 2WTA receptor in silico. The methods used are molecular anchoring and virtual screening. The results of the apigenin compound showed that the apigenin compound could bind to the 2WTA receptor with the binding affinity value of the apigenin compound -3.68 while the binding affinity value of the native ligand was -3.77. These results illustrate that apigenin compounds are more effective in the treatment of tuberculosis than their natural ligands. So that apigenin compounds have activity as antituberculosis.

Key words: *Apigenin, Antituberculosis, In silico.*

Pendahuluan

Tuberculosis (TB) merupakan penyakit kronis yang diakibatkan oleh *Mycobacterium tuberculosis*. Penyakit ini semakin umum dibandingkan kasus-kasus sebelumnya, sehingga dikaitkan dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Kematian tersering pada pasien HIV-AIDS disebabkan oleh tuberculosis (WHO, 2016).

Tuberculosis sampai saat ini masih menjadi perhatian dunia, dan samapi saat ini belum ada negara yang bebas dari tuberculosis (TB). Dalam laporan WHO tahun 2013 diperkirakan 8,6 juta kasus TB pada tahun 2012 dimana 1,1 juta orang (13%) diantaranya adalah pasien HIV positif. pada tahun 2012 diperkirakan proporsi kasus TB anak di antara seluruh kasus TB secara global mencapai 6% atau 530.000 pasien TB anak pertahun, sekitar 8% dari total kematian oleh TB. Indonesia angka prevalensi TB yang pada tahun 1990 sebesar 443 per 100.000 penduduk, pada tahun 2015 ditargetkan menjadi 280 per 100.000 penduduk. Berdasarkan hasil survei prevalensi TB tahun 2013, TB paru smear positif per 100.000 penduduk umur 15 tahun katas sebesar 275 (Kemenkes RI, 2016).

Seledri (*Apium graveolens* L.) selain dikenal masyarakat sebagai sayuran, tetapi seledri bisa bermanfaat bagi Kesehatan, yaitu menurunkan kolesterol, antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Seledri memiliki kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid (apiin dan apigenin) serta falcarinol dan falcarindiol. Zat-zat tersebut memiliki khasiat sebagai diuretic, antihipertensi, antihiperlipidemia, antiinflamasi, peluruh batu ginjal, tuberculosis, antioksidan dan antikanker (Rusdiana, 2018).

Apigenin merupakan komponen flavonoid utama dari seledri yang termasuk ke dalam golongan flavon. Apigenin juga adalah salah satu senyawa yang ada dalam seledri yang berkhasiat sebagai antituberculosis.

Pada penelitian ini dilakukan preparasi senyawa apigenin dengan memaparkan hasil analisis kandungan senyawa apigenin dengan menggunakan metode docking terhadap reseptor tuberculosis. maka dari itu perlu dilakukan prediksi aktivitas melalui interaksi suatu protein tertentu terhadap ligan dengan menggunakan metode *molecular docking* terhadap protein tersebut.

Metode Penelitian

Alat

Sebuah laptop asus dengan spesifikasi *Windows 10 64-bit Processor Intel(R) Core(TM) i7 – 4700HQ 10th CPU@ 2.40GHz RAM 4GB* yang dilengkapi program perangkat lunak *Molegro Molecular Viewer, BIOVIA Discovery Studio, Marvin Skeeth, Autodock Tools 1.5.6* dan *s pcksm* dan *Lipinski's rule of five*.

Bahan

Struktur *Smiles* senyawa apigenin di copy dari situs *PubChem*

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

lalu dipaste ke software *ChemDraw* dalam bentuk 2D dan disimpan. Struktur protein Nicotinamidase (PDB ID: 2WTA) diunduh di *RCSB Protein Data Bank* pada website : <https://rscb.org>.

Metode Penelitian

Preparasi Struktur 3D Protein 2WTA

Protein 2WTA dilakukan preparasi menggunakan software *AutoDock* dengan dihilangkan airnya dan

ditambahkan atom hidrogen polar serta penambahan energi. Lalu menggunakan *software Molegro Molecular Viewer* dengan memisahkan antara *native ligand* dengan protein dan dihilangkan kofaktor jika ada.

Preparasi Struktur 2D Senyawa Apigenin

Struktur 2D senyawa apigenin dioptimasi dan diprotonisasi menggunakan *software MarvinSketch*.

Validasi Metode

Software *Autodock Tools* digunakan untuk validasi metode molecular docking dengan *redocking native ligand* dan protein dari reseptor HER – 2 yang sebelumnya dihilangkan *native ligand* – nya. Output dari validasi metode molecular docking ini adalah nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) dengan nilai yang dapat diterima yaitu $< 2 \text{ \AA}$.

DrugScan

Pengamatan obat dilakukan pada ligan yang memiliki energi ikatan rendah dan interaksi baik dari protein target. Pengamatan dan analisis obat dilakukan dengan mengamati aturan pengobatan yang baik (*Lipinski Rule of Five*) dan bioavailabilitas oral dari ligan. Parameter yang digunakan yaitu berat molekul $< 500 \text{ g/mol}$, lipofilitas < 5 , donor ikatan hydrogen < 5 , akseptor ikatan hydrogen < 10 , dan refractory molar antara 40-130.

Pcksm

pcKSM ini digunakan untuk memprediksi sifat farmakokinetik Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi (ADME) dari suatu senyawa dengan melihat parameter Caco-2 permeability, intestinal absorption, volume distribusi, blood brain barrier, renal OCT2 substrate untuk menjadi calon obat.

Penambatan Ligan Uji Apigenin terhadap Protein Reseptor 2WTA

Senyawa apigenin yang telah dioptimasi selanjutnya di tambatkan dengan protein 2WTA yang sudah dipisahkan antara *native ligand* dengan *ligand* alaminya dengan menggunakan *AutoDock Tools* dengan prosedur yang sama pada saat validasi metode protein 2WTA. Output yang didapat dari hasil penambatan yaitu adanya konformasi ikatan senyawa antara protein 2WTA dan ligan uji dengan nilai energi ikatan serta ikatan hidrogen.

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Struktur 3D Protein 2 WTA

Protein dari 2 WTA dipisahkan terlebih dahulu dari *native ligand* – nya menggunakan software Molegro Molecular Viewer, lalu setelah dipisahkan *native ligand* dan protein ditambahkan hidrogen serta dihilangkan air beserta kofaktornya. Menurut (Rastini et al., 2019) pemisahan dari protein dengan *native ligand* – nya bertujuan agar menyediakan tempat untuk ligan uji yaitu apigenin untuk dapat berikatan dengan protein 2 WTA.

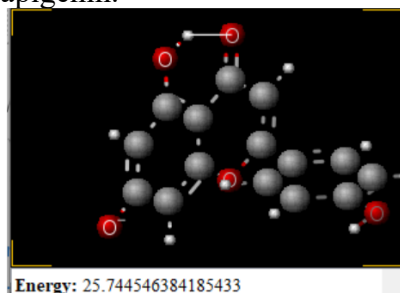
Gambar 1 Visualisasi 3D protein sesudah dipisah.



Preparasi Struktur 2D Senyawa Apigenin

Struktur 2D apigenin dari *ChemDraw* yang diambil dari Pubchem yang berupa struktur *SMILES* dioptimasi dan protonisasi dengan menggunakan software *MarvinSketch* dengan diprotonisasi pada pH 7,4 dengan metode *Major Microspecies* agar sesuai dengan pH darah. Setelah itu struktur dari apigenin dilakukan *Conformational search* agar didapatkan struktur dari apigenin yang paling sesuai dan cocok dengan reseptor atau protein dari 2 WTA (Ruswanto, Garna, et al., 2018). Metode *conformers* digunakan untuk mendapatkan konformasi struktur ligan dari senyawa apigenin, didapatkan sekitar 10 konformasi ligan lalu diambil konformasi ligan yang memiliki energi paling kecil yaitu 25.7445 kcal/mol struktur dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2 Visualisasi 3D hasil protonisasi dan optimisasi senyawa apigenin.



Validasi Metode

Pada validasi metode ini melibatkan *redocking* antara *native ligand* dengan protein dari reseptor 2 WTA, prosedur validasi metode ini juga akan digunakan pada saat penambatan antara protein dengan ligan uji. Output yang didapatkan dari validasi metode ini adalah nilai RMSD, nilai RMSD dinyatakan valid apabila hasil test *ligand* diperoleh hasil kurang dari atau sama dengan 2 (Ruswanto, Mardianingrum, et al., 2018). Pada hasil didapatkan nilai RMSD dari native ligand yaitu 15.82 Å yang berarti bahwa metode *molecular docking* dapat diterima atau tervalidasi. Visualisasi dari validasi metode dapat dilihat dari gambar 3.

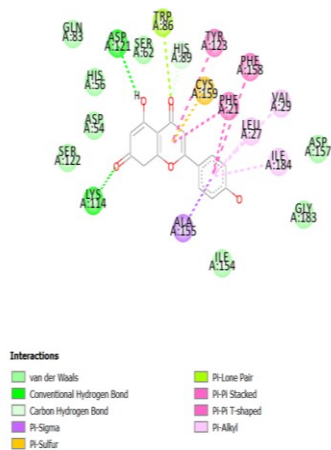
Gambar 4. Visualisasi hasil validasi metode *docking*



Apigenin memiliki 20 sisi aktif yang terbentuk, yaitu ASP A:121, SER A :62, TRP A:86, HIS A :89, TYR A:123, CYS A:159, PHE A :21, PHE A: 21, PHE A: 158, LEU A: 27, VAL A: 29, ILE A: 184, ASP A: 157, GLY

A: 183, ILE A: 154, ALA A: 155, LYS A: 114, SER A: 122, ASP A: 54, HIS A: 56, dan GLN A: 83. Apigenin memiliki ikatan hidrogen terhadap residu asam amino dari protein 2 WTA yaitu (ASP A: 121).

Gambar 5 Visualisasi interaksi 2D antara protein dengan ligan uji



Skrining Senyawa Ligan

Pada intinya analisis hasil docking akan menggambarkan binding affinity yang merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan pada reseptor. Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat, interaksi stabil dan ireversibel. Ikatan elektrostatis bisa menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversibel. Semakin kecil nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai binding Affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah. Dari hasil docking yang telah dilakukan, didapatkan nilai binding affinity senyawa apigenin sebesar -3.68 sedangkan nilai binding affinity dari native ligan adalah sebesar -3.77. Hasil tersebut menggambarkan bahwa senyawa apigenin lebih efektif dalam

pengobatan tuberkulosis daripada ligan alaminya.

Selain itu, berdasarkan data tersebut diketahui bahwa apigenin berinteraksi dengan residu dari asam amino yaitu pada ASP A : 121 dan LYS A : 114. Dimana ikatan hidrogen merupakan ikatan antara atom H yang mempunyai muatan positif dengan atom lain yang bersifat elektronegatif seperti O, N, F. Selain interaksi melalui ikatan hidrogen, dilihat juga interaksi lainnya dengan residu-residu asam amino. Semakin banyak interaksi antara senyawa apigenin dengan residu-residu asam amino maka diprediksi interaksinya semakin baik.

Gambar 6. Native Ligan

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	6	-3.77	0.00	1.25	RANKING
1	2	8	-3.77	0.02	1.25	RANKING
1	3	10	-3.77	0.01	1.25	RANKING
1	4	5	-3.77	0.06	1.24	RANKING
1	5	2	-3.77	0.05	1.24	RANKING
1	6	1	-3.76	0.09	1.25	RANKING
1	7	4	-3.76	0.07	1.22	RANKING
1	8	7	-3.75	0.41	1.30	RANKING
1	9	9	-3.75	0.43	1.30	RANKING
1	10	3	-3.75	0.43	1.30	RANKING

Gambar 7. Ligan Apigenin

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	10	-3.68	0.00	15.82	RANKING
1	2	9	-3.68	0.02	15.82	RANKING
1	3	5	-3.66	0.02	15.82	RANKING
1	4	4	-3.65	0.03	15.82	RANKING
1	5	1	-3.60	0.02	15.81	RANKING
1	6	6	-3.57	0.06	15.81	RANKING
1	7	2	-3.57	0.06	15.81	RANKING
1	8	7	-3.54	0.06	15.80	RANKING
1	9	8	-3.53	0.05	15.81	RANKING
1	10	3	-3.52	0.07	15.81	RANKING

Kesimpulan

Dari hasil proses konformasi didapatkan 10 konformasi ligan akan tetapi yang diambil adalah ligan konformasi dengan energi paling kecil yaitu 25.7445 kcal/mol. Selain

itu nilai RMSD yang didapatkan dari proses validasi metode adalah sebesar 15.82 Å yang berarti bahwa metode molecular docking dapat diterima atau tervalidasi. Sekitar 20 sisi aktif dari apigenin didapatkan melalui proses validasi metode docking dan diketahui bahwa senyawa apigenin Gamabr 7. Ligan Apigenin

memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino dari protein 2WTA yaitu ASP A:121. Dari hasil docking yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa apigenin memiliki aktivitas sebagai antituberkolosis.

Daftar Pustaka

- Kemkes RI. (2016). Info Datin Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Tuberkulosis (Temukan Obat Sampai Sembuh). In *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI* (pp. 2–10).
- Rastini, M. B. O., Giantari, N. K. M., Adnyani, K. D., & Laksmiani, N. P. L. (2019). Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara in Silico. *Jurnal Kimia*, 180. <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p09>
- Rusdiana, T. (2018). Telaah Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.) sebagai Sumber Bahan Alam Berpotensi Tinggi dalam Upaya Promotif Kesehatan. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 3(1), 1–8.
- 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/alchemy.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), 194. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.8993>
- WHO. (2016). Be Po. *European Respiratory Journal*, 44(1), 23–63.