

Studi Molekuler Docking Potensi Senyawa Tumbuhan Kalangkala (*Litsea angulata*) Sebagai Antihiperpigmentasi

Nur Aini Fadilah*, Ryan Syahputra

Departemen Farmasi Klinik dan Komunitas, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bina Cipta Husada
Purwokerto, Jawa Tengah

*e-mail: fadilah@stikesbch.ac.id

ABSTRAK

Kalangkala merupakan tumbuhan khas Kalimantan yang termasuk dalam genus *litsea* pada bagian biji tanaman kalangkala (*Litsea angulata*) memiliki aktivitas antioksidan senyawa yang berperan sebagai antioksidan pada biji Kalangkala (*Litsea angulata*) adalah kuersetin. Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan melalui penghambatan jalur stres oksidatif yang berhubungan erat dengan pembentukan tirosinase yang menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi Kalangkala (*Litsea angulata*) sebagai agen inhibitor tirosinase baru dari bahan alam secara pendekatan molekuler docking. Pada tahap penelitian ini persiapan yang dilakukan meliputi persiapan reseptor dan native ligand, validasi metode docking, preparasi senyawa kuersetin, dan molekuler docking senyawa kuersetin terhadap protein uji enzim tirosinase. Hasil yang diperoleh dari docking molekuler antara Kuersetin biji Kalangkala (*Litsea angulata*) dan protein protein tirosinase memiliki nilai afinitas binding (ΔG) dan konstanta inhibisi (IC) sebesar -5.20 kcal/mol dan 154.02 μM . Interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk pada senyawa kuersetin menunjukkan bahwa senyawa tersebut afinitas yang nilainya lebih rendah dibandingkan native ligand sehingga berpotensi sebagai agen inhibitor tirosinase baru.

Kata Kunci: Tirosinase, *Litsea angulata*, protein (pdb : 2Y9X), Docking molekuler, Hiperpigmentasi

ABSTRACT

Kalangkala is a typical Kalimantan plant belonging to the *litsea* genus. The seed part of the kalangkala plant (*Litsea angulata*) has antioxidant activity. Quercetin has antioxidant activity through inhibition of oxidative stress pathways closely related to tyrosinase formation that cause hyperpigmentation in the skin. The aim of this study was to determine the potential of *Litsea angulata* as a novel tyrosinase inhibitor agent from natural materials by molecular docking approach. Research preparations encompassed receptor and native ligand preparation, docking method validation, preparation of quercetin compounds, and molecular docking of quercetin compounds to tyrosinase enzyme test proteins. Based on the results, the molecular docking between Kalangkala seed quercetin (*Litsea angulata*) and protein tyrosinase protein have binding affinity (ΔG) and inhibition constant (IC) values of -5.20 kcal/mol and 154.02 μM . The hydrogen bonding interactions formed on quercetin compounds suggest that the compound has a lower affinity value than native ligands, and, therefore, holds a potential as a novel tyrosinase inhibitor agent.

Keywords: Tyrosinase, *Litsea angulata*, protein (pdb: 2Y9X), Molecular Docking, Hiperpigmentation

PENDAHULUAN

Hiperpigmentasi merupakan suatu kondisi yang disebabkan adanya peningkatan produksi melanin yang merupakan senyawa yang memberikan pigmen hitam berlebih pada kulit. Melanin merupakan senyawa yang terdapat dalam manusia, hewan dan tanaman yang berfungsi sebagai pigmen. Melanin pada manusia berperan sebagai pemberi warna pada organ rambut, mata dan kulit. Pada kulit, terdapat melanosit yang merupakan sel penyusun dari melanin (Mustika, 2020). Paparan sinar ultraviolet berlebih dapat mengakibatkan akumulasi melanin berlebih pada epidermis dan dermis kulit. Selain itu pembentukan melanin dapat diakibatkan adanya ROS (*reactive oxygen species*) yang dapat menginduksi enzim tirosinase untuk membentuk melanin yang mengakibatkan produksi melanin berlebih sehingga terjadi akumulasi melanin pada kulit yang menyebabkan terbentuknya hiperpigmentasi (Widyastuti, 2020). Agen penghambat tirosinase seperti asam kojat, merkuri dan hidrokuinon memiliki kemampuan sebagai antioksidan dalam penghambatan tirosinase pada kulit.

Penggunaan jangka panjang agen inhibitor tirosinase dapat menyebabkan efek samping. Efek samping yang timbul berupa eritema, iritasi, kontak dermatitis, dan bahkan rasa hingga bersifat mutagenik akibat penggunaan hidrokuinon dalam jangka panjang (Gajjala, 2016). Sehingga dibutuhkan pengembangan dalam pencarian senyawa dari bahan alam sebagai agen antihiperpigmentasi yang berasal dari bahan alam, yang memiliki efek samping yang lebih rendah dan lebih efektif untuk mencegah terjadinya hiperpigmentasi melalui mekanisme penghambatan tirosinase.

Kalangkala (*Litsea angulata*) merupakan tumbuhan yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Tumbuhan ini merupakan tanaman khas Kalimantan yang termasuk dalam genus *litsea*, dalam penelitian Saputri (2018) biji buah kalangkala (*Litsea angulata*) memiliki aktivitas antioksidan terhadap larutan uji dpph pada IC₅₀ senilai 48,78 ppm. Senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol biji kalangkala (*Litsea angulata*) salah satunya adalah kuersetin yang merupakan turunan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Berdasarkan uraian diatas maka dilakukan studi aktivitas antihiperpigmentasi secara *in silico* *Litsea angulata* melalui inhibisi tirosinase. Pada tahap penelitian ini persiapan yang dilakukan meliputi persiapan reseptor dan native ligand, validasi metode docking, preparasi senyawa kuersetin, dan molekuler docking senyawa kuersetin yang ada pada *Litsea angulata* terhadap protein uji enzim tirosinase yang bertujuan untuk memprediksi potensi senyawa kuersetin pada biji *Litsea angulata* sebagai kandidat baru agen inhibitor tirosinase dari bahan alam.

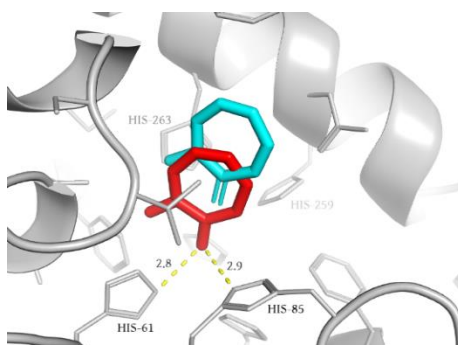
Proses molekuler docking pada penelitian ini menggunakan softwareAutodock 4, Biovia Discovery Studio, Chem Office, Pymol dan Maestro Schrodinger. Tahapan pertama yaitu mengunduh protein tirosinase (kode pdb : 2Y9X) dengan tropolone sebagai native ligannya pada website RCSB atau Protein Data Bank. Kemudian dilakukan preparasi terhadap protein tirosinase yang bertujuan untuk menghilangkan molekul air dan native ligan pada protein. Tahapan kedua melakukan preparasi terhadap native ligan tropolone dengan cara melakukan eliminasi terhadap molekul air dan rantai protein (Yang, 2022).Tahapan ketiga yakni melakukan validasi metode docking dengan cara redocking atau menambatkan kembali native ligan dan protein 2Y9X hasil preparasi. Tujuan redocking adalah untuk membuktikan valid atau tidaknya metode docking yang

digunakan dengan parameter nilai RMSD < 2.5 Å (Li et al. 2023). Selain itu, proses tersebut juga bertujuan untuk mendapatkan titik koordinat berupa sumbu X,Y dan Z dari native ligan yang kemudian digunakan pada senyawa uji (Utami, 2022).

Tabel 1. Parameter Molekuler Docking Berdasarkan Hasil Redocking Tropolone Pada Situs Aktif Protein Tirosinase (2Y9X)

Native Ligand	Number Grid Point			Coordinate Grid Point			Spacing Grid Point	RMSD
	X	Y	Z	X	Y	Z		
Tropolone	40	40	40	-0.452	26.855	-43.163	0.375 Å	1.78 Å

Data pada Tabel 1 menunjukkan nilai titik koordinat yang mengarah pada pembuatan grid point pada situs aktif protein yang berfungsi sebagai tempat ligan melakukan konformasi atau mencari pose terbaik. Hasil redocking antara tropolone dan protein tirosinase menunjukkan nilai RMSD < 2.5 Å, sehingga metode docking yang digunakan sudah cukup valid. Berdasarkan nilai RMSD yang diperoleh, apabila divisualisasikan antara tropolone hasil redocking dan tropolone hasil kristalografi akan terlihat adanya tumpang tindih yang menunjukkan tidak adanya pergeseran yang cukup signifikan diantara keduanya (Heng Tan, 2024). Koordinat sumbu X, Y dan Z tropolone digunakan sebagai peta untuk senyawa uji. Dengan demikian posisi tropolone sebagai native ligand dapat digantikan.



Gambar 1. Tumpang Tindih Tropolone Hasil Redocking dan Kristalografi

Gambar 1 menunjukkan bagaimana nilai RMSD memberikan pengaruh terhadap posisi native ligan. Tropolone dengan warna merah merupakan hasil kristalografi, sedangkan yang berwarna magenta adalah hasil redocking. Hasil tersebut tidak menunjukkan adanya pergeseran posisi, sehingga dapat dipastikan konformasi yang terjadi akan menimbulkan interaksi dengan residu asam amino pada sisi aktif protein.

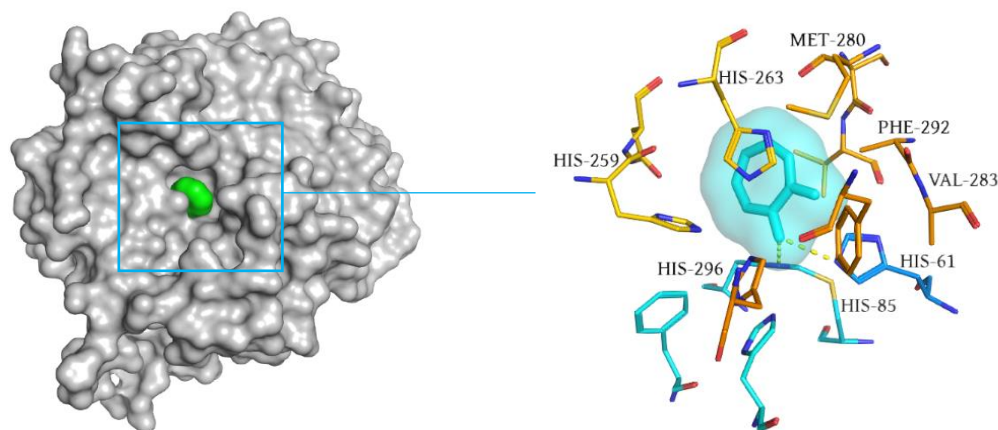
Tabel 2. Parameter Molekuler Docking Tropolone dan Quercetin Terhadap Protein Tirosinase (kode pdb : 2Y9X)

Ligan/senyawa	Afinitas energi (ΔG)	Konstanta inhibisi (Ki)	Residu asam amino	Interaksi ikatan
Tropolone	-5.01 kcal/mol	211.35 μM	Val283	Pi-Sigma
			Ala286	Pi-Alkyl
			His263	Pi-Pi Stacked

			His61	C-H Bond
Quercetin	-5.20 kcal/mol	154.02 μ M	Arg268, Gli281	H-Bond
			Glu256	Pi-Pi T-shaped
			Phe264	Pi-Alkyl
			Val283	C-H Bond
			His259, His85	

Parameter yang ditunjukkan pada Tabel 2 menggambarkan data nilai afinitas dan konstanta inhibisi dari senyawa tropolone dan quercetin. Nilai afinitas menunjukkan kemampuan suatu senyawa dalam menembus membran sel protein. Sedangkan konstanta inhibisi (K_i) menunjukkan kemampuan suatu senyawa dalam menghambat enzim atau protein. Pada data tersebut, tropolone memiliki afinitas (ΔG) -5.01 kcal/mol dan konstanta inhibisi (K_i) 211.35 μ M. Data tersebut juga menunjukkan nilai afinitas dari quercetin yaitu (ΔG) -5.20 kcal/mol dan konstanta inhibisi (K_i) 154.02 μ M. Penelitian lain menunjukkan bahwa quercetin memiliki afinitas pengikatan (ΔG) -6,06 kcal/mol, posisi pengikatan senyawa tersebut terletak pada situs aktif tirosinase (Chatatikun et al. 2023).

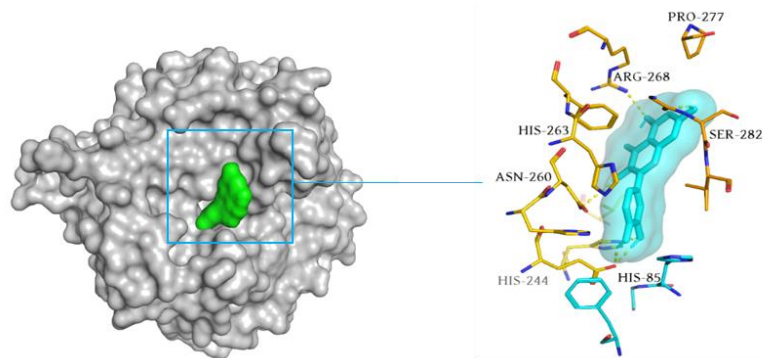
Berdasarkan nilai afinitasnya tropolone dan quercetin dapat dikatakan sebagai inhibitor yang mampu memberikan penghambatan terhadap aktivitas protein tirosinase, dibuktikan dengan adanya interaksi hidrofobik yang terbentuk pada binding site protein dengan residu asam amino Val283, Ala286, His263 dan His61. Sedangkan quercetin membentuk interaksi dengan residu asam amino Arg268, Gli281, Glu256, Phe264, Val283, His259 dan His85. Berbeda dengan tropolone, quercetin membentuk intraksi ikatan hidrogen (H-Bond) pada residu Arg268, Gli281 dan Glu256. Interaksi tersebut yang kemudian digunakan untuk mengidentifikasi target molekular lebih spesifik, memungkinkan pengembangan terapi yang lebih tepat sasaran.



Gambar 2. Interaksi Pengikatan Tropolone di Situs Aktif protein *Agaricus bisporus* (AbTYR) tirosinase – Chain B

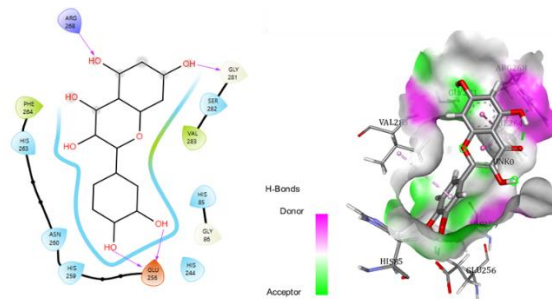
Situs pengikatan yang terlihat pada Gambar 2 menunjukkan bagaimana posisi teropolon terikat pada situs pengikatan protein tirosinase. Adanya grid box atau batas konformasi ligan memungkinkan interaksi yang terbentuk dengan residu asam amino berada tepat di sisi aktif protein. Ruang konformasi menggambarkan berbagai bentuk molekul saat atom-atomnya bergerak dan berputar, dikarenakan area binding site adalah area yang memiliki energi terendah dalam struktur protein

memungkinkan pengikatan ke substrat yang memicu perubahan kimia. Chain-B protein tirosinase yang mengandung sub-unit L tidak menunjukkan urutan atau kesamaan struktural dengan protein caddie dari tirosinase ScTYR. Lipatan β -trefoil dari sub-unit L sama sekali berbeda dari struktur heliks R β -sheet beruntai-6 seperti domain SH2 dari caddie protein seperti yang terlihat pada Gambar 2. Sub-unit L juga mengikat daerah yang sangat berbeda dari domain tirosinase. Sementara caddie protein memblokir situs aktif ScTYR, sub-unit L AbTYR berjarak 25 Å dari situs aktif, dan tidak ada residu yang memblokir akses ke situs aktif (Ismaya et al. 2011).



Gambar 3. Interaksi Pengikatan Quercetin di Situs Aktif protein tirosinase (2Y9X) – Chain B

Pengikatan quercetin pada chain-B situs aktif protein AbTYR tirosinase menunjukkan interaksi di area polar kontak dengan residu asam amino Arg268, His263, Asn260, His244 dan His85. Polar kontak merupakan interaksi non-kovalen antara atom-atom dalam molekul protein yang memiliki perbedaan muatan. Interaksi ini bisa berupa ikatan hidrogen atau interaksi elektrostatik lainnya yang terjadi antara atom-atom yang memiliki muatan parsial positif dan negatif. Posisi quercetin pada situs aktif protein berdasarkan koordinat dari tropolone, hal ini dimaksudkan untuk menggantikan posisi tropolone di Chain-B sebagai inhibitor protein tirosinase. Interaksi yang terbentuk menandakan bahwa quercetin memiliki pengikatan yang cukup baik terhadap protein tirosinase (Xia, 2022).



Gambar 4. Interaksi pengikatan H-Bond Antara Quercetin dan Reseptor Protein 2Y9X – Chain B

Hasil docking molekuler antara quercetin dan protein tirosinase menunjukkan adanya interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk pada gugus (-OH) terhadap residu asam amino Arg268, Gly281 dan Glu256 seperti yang terlihat pada Gambar 3. Gugus hidroksil (-OH) pada struktur kuersetin memainkan peran penting dalam aktivitas biologisnya, terutama sebagai antioksidan. Gugus hidroksil ini memungkinkan kuersetin untuk menangkap radikal bebas dengan cara menyumbangkan atom hidrogen, sehingga menstabilkan radikal bebas tersebut dan mencegah kerusakan sel (Ran et al. 2023). Selain itu, jumlah dan posisi gugus hidroksil pada kuersetin juga mempengaruhi kelarutannya dalam berbagai pelarut dan interaksinya dengan molekul lain. Kuersetin memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan enzim tirosinase, terutama tirosinase-related protein 1, yang berperan dalam produksi melanin (Chatatikun et al. 2023).

Melalui interaksi tersebut, kuersetin dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase sehingga mengurangi produksi melanin dan membantu mengurangi hiperpigmentasi. Kuersetin, yang merupakan senyawa flavonoid, berpotensi sebagai agen antihiperpigmentasi. Senyawa ini bekerja dengan cara menghambat enzim tirosinase, yang terlibat dalam produksi melanin, pigmen yang menyebabkan penggelapan kulit. Dengan menghambat tirosinase, kuersetin dapat membantu mengurangi hiperpigmentasi dan mencerahkan kulit. Ikatan hidrogen (H-bond) adalah gaya tarik menarik yang terjadi antara atom hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif (seperti oksigen atau nitrogen) dengan atom elektronegatif lain yang memiliki pasangan elektron bebas. Ikatan ini bersifat kuat dibandingkan dengan gaya antar-molekul lainnya seperti gaya Van der Waals. Ikatan hidrogen membantu mempertahankan lipatan yang tepat yang diperlukan untuk fungsionalitas seperti yang terlihat pada Gambar 3, interaksi H-Bond donor sebanyak 5 dan akseptor sebanyak 7 atom merujuk pada peran suatu zat dalam reaksi kimia, terutama reaksi transfer elektron atau proton (Crane-Robinson and Privalov 2022).

KESIMPULAN

Molekuler docking antara kuersetin biji Kalangkala (*Litsea angulata*) dan protein protein tirosinase memiliki nilai afinitas binding (ΔG) dan konstanta inhibisi (Ki) sebesar -5.20 kcal/mol dan 154.02 μ M. Interaksi ikatan hidrogen yang terbentuk pada quercetin menunjukkan afinitas yang lebih baik dibandingkan tropolone, sehingga berpotensi sebagai kandidat inhibitor tirosinase yang baru.

DAFTAR PUSTAKA

- Chatatikun, Moragot, Aman Tedasen, Nawanwat Chainuwong Pattarangoon, Wilawan Palachum, Sirithip Chuaijit, Amron Mudpan, Supawita Pruksaphanrat.2023. "Antioxidant Activity, Anti-Tyrosinase Activity, Molecular Docking Studies, and Molecular Dynamic Simulation of Active Compounds Found in Nipa Palm Vinegar." *PeerJ* 11: 1–27. doi:10.7717/peerj.16494.
- Crane-Robinson, Colyn, and Peter Privalov. 2022. "Energetic Basis of Hydrogen Bond Formation in Aqueous Solution." *European Biophysics Journal* 51(6): 515–17. doi:10.1007/s00249-022-01611-2.
- Gajjala, S. et al. (2016) 'The comparative study of Hydroquinone and kojic acid in treatment of Melasma in Shadan Institute of Medical Science Teaching

- Hospital and Research Centre, Himayathsagar road, Hyderabad (Telangana State)', IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) e-ISSN, 15(11), pp. 1–05. doi: 10.9790/0853- 1511050105.
- Heng Tan, Lai, Chee Keong Kwoh, Yuguang Mu. 2024. "RmsdXNA: RMSD Prediction of Nucleic Acid-Ligand Docking Poses Using Machine-Learning Method." *Briefings in Bioinformatics* 25(3). doi:10.1093/bib/bbae166.
- Ismaya, Wangsa T, J Rozeboom, Amrah Weijn, Jurriaan J Mes, and Fabrizia Fusetti. 2011. "Crystal Structure of Agaricus Bisporus Tyrosinase." *Biochemistry* 50: 5477–86.
- Li, Hongdian, Ao Dong, Na Li, Yu Ma, Sai Zhang, Yuanyuan Deng, Shu Chen, Mianzhi Zhang. 2023. "Mechanistic Study of Schisandra Chinensis Fruit Mixture Based on Network Pharmacology, Molecular Docking and Experimental Validation to Improve the Inflammatory Response of DKD Through AGEs/RAGE Signaling Pathway." *Drug Design, Development and Therapy* 17(February): 613–32. doi:10.2147/DDDT.S395512.
- Mustika, R., Hindun, S., & Auliasari, N. (2020). Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 558-562.
- Ran, Yandong, Mohammed Moursy, Robert C. Hider, dan Agostino Cilibrizzi. 2023. "The Colorimetric Detection of the Hydroxyl Radical." *International Journal of Molecular Sciences* 24(4): 1–9. doi:10.3390/ijms24044162.
- Saputri, R., & Susiani, E. F. (2018). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah dan Biji Buah Kalangkala (*Litsea angulata*) asal Kalimantan Selatan. *Borneo Journal of Pharmacy*, 1(2), 81-84.
- Utami, Dwi, Syahputra Ryan, Widyaningsih Wahyu. 2022. " Studi Docking Molekular Aktivitas Panghambatan Enzim Tirosinase Ubi Jalar (*Ipomoea Batatas* L. Lam)." *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 19(1): 21–34. doi:10.23917/pharmacon.v19i1.18295.
- Widyastuti, M. D., Noviyanti, N. K. M., Sanjaya, I. K. N. S., & Susanti, N. M. P. (2020). Aktivitas Antihiperpigmentasi Likopen Secara in Silico. *Jurnal Kimia*, 14(2), 107.
- Xia, Wanqiu, Jing Liu, and Jianping Wang. 2022. "Identification and Evolution of a Natural Tetr Protein Based on Molecular Docking and Development of a Fluorescence Polari-Zation Assay for Multi-Detection of 10 Tetracyclines in Milk." *Foods* 11(23). doi:10.3390/foods11233850.
- Yang, Chao, Eric Anthony Chen, and Yingkai Zhang. 2022. "Protein–Ligand Docking in the Machine-Learning Era." *Molecules* 27(14): 1–24. doi:10.3390/molecules27144568.