

LAPORAN PENELITIAN

**STUDI DINAMIKA MOLEKULAR SAPPAN KALKON DARI KAYU SECANG  
(*Caesalpinia sappan* L.) SEBAGAI PENGHAMBAT XANTIN OKSIDASE PADA  
HIPERURISEMIA**



Tim Pengusul

Ketua Peneliti : Rizky Arcintha Rachmania, M.Si. (0305018603)  
Anggota Peneliti : Apt. Hariyanti, M.Si., (0311097705)

PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA  
2020

## HALAMAN PENGESAHAN

**Judul Penelitian** : **STUDI DINAMIKA MOLEKULAR SAPPAN KALKON DARI KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) SEBAGAI PENGHAMBAT XANTIN OKSIDASE PADA HIPERURISEMIA**

**Ketua Peneliti** :

**a. Nama Lengkap** : Rizky Arcinthya Rachmania, M.Si.  
**b. NIDN** : 03.050186.03  
**c. Jabatan Fungsional** : Lektor  
**d. Program Studi** : Farmasi FFS UHAMKA  
**e. Nomor HP** : 081389476372  
**f. Alamat(e-mail)** : [arcinthya.rizky@gmail.com](mailto:arcinthya.rizky@gmail.com)

**Anggota Peneliti (1)** :

**a. Nama Lengkap** : apt. Hariyanti, M.Si.  
**b. NIDN** : 03.110977.05  
**c. Jabatan Fungsional** : Lektor  
**Program Studi/Fakultas** : Farmasi/Farmasi dan Sains  
**Lama Penelitian** : 6 bulan  
**Biaya Penelitian** : Rp. 5.000.000.

Menyetujui  
Ketua Program Studi

(apt. Kori Yati, M.Farm.)  
NIDN. 03.240678.02

Jakarta, 8 Agustus 2020  
Ketua Peneliti,

(Rizky Arcinthya Rachmania, M.Si.)  
NIDN: 03.050186.03

Disyahkan Oleh

Dekan

(Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si.)  
NIDN. 03.250672.01

## ABSTRAK

Hiperurisemia adalah kondisi dimana terjadi peningkatan kadar asam urat diatas normal sehingga dapat menyebabkan penumpukan kristal asam urat di jaringan. Xantin oksidase merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan asam urat. Obat tradisional yang digunakan secara empiris untuk menurunkan asam urat adalah kayu secang. Sappankalkon pada kayu secang telah diketahui memiliki afinitas terhadap enzim yang meghamba produksi asam urat yaitu xantin oksidase secara penambatan molekul, namun belum diketahui kestabilan kalkon dalam berinteraksi dengan xantin oksidase. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kestabilan sappan kalkon terhadap enzim xantin oksidase. Metode pengujian kestabilan menggunakan simulasi dinamika molekular dengan *software* GROMACS dengan waktu pergerakan atom 10 ns. Hasil dari pengujian parameter simulasi dinamika molekular yaitu RMSD, RMSF dan energi potensial menunjukkan bahwa sappan kalkon menunjukkan afinitas terhadap xantin oksidase yang lebih stabil dibandingkan allopurinol. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu sappan kalkon dapat digunakan sebagai kandidat obat untuk digunakan sebagai antihiperurisemia.

**Kata kunci** : Kayu Secang, Hiperurisemia, Xantin Oksidase, sappan kalkon, dinamika molekular

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>iii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>iv</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN.....</b>	<b>11</b>
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>18</b>
<b>BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>28</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>29</b>

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Hiperurisemia merupakan kondisi asimtomatik yang umumnya terjadi pada manusia dengan peningkatan kadar asam urat dalam darah. Peningkatan kadar asam urat dalam darah dapat terjadi pengendapan kristal asam urat disendi dan ginjal, menyebabkan artritis gout dan nephrolithiasis asam urat (Dipiro et al, 2008). Asam urat adalah asam yang berbentuk kristal yang merupakan hasil akhir dari metabolisme purin, yaitu salah satu komponen asam nukleat yang terdapat di inti sel tubuh. Purin yang berasal dari katabolisme asam nukleat dalam diet diubah menjadi asam urat secara langsung. Secara alami, asam urat diproduksi dalam tubuh melalui jalur metabolisme yang menggunakan makanan dan minuman sebagai substrat. Makanan dengan kandungan purin tinggi seperti kacang-kacangan, melinjo, jeroan, dan minuman yang mengandung kafein seperti kopi, teh serta minuman yang mengandung gas atau CO<sub>2</sub> dapat menaikkan kadar asam urat dalam darah (Sustrani 2005).

Asam urat menjadi salah satu penyakit yang umum ditemukan di masyarakat dengan insidensi dan prevalensi yang semakin meningkat pada dekade terakhir. Insidensi asam urat lebih tinggi pada laki-laki dibandingkan pada wanita dan meningkat seiring pertambahan usia. Prevalensi asam urat yang ditemukan pada laki-laki 4 kali lebih besar dibandingkan wanita, pada usia dibawah 65 tahun. Secara keseluruhan, prevalensi asam urat bervariasi antara 0,03% - 15,2% dengan persentase kejadian pada laki-laki mencapai 1-2% (Smith et al. 2010). Obat sintetik yang biasa digunakan untuk mengatasi asam urat adalah allopurinol.

Allopurinol merupakan penurun asam urat yang efektif dengan bekerja menghambat xantin oksidase. Allopurinol bekerja sebagai analog asam urat, yang bekerja menghambat aktivitas enzim xantin oksidase. Xantin oksidase adalah enzim yang berperan sebagai katalisator dalam proses oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat, yang merupakan jalur degradasi purin (Price dan Wilson, 2005). Namun, allopurinol memiliki efek samping seperti kemerahan pada kulit, leukopenia, masalah gastrointestinal, sakit kepala, dan urtikaria (Dipiro et al. 2008). Sehingga banyak masyarakat yang menggunakan tanaman obat sebagai obat tradisional karena mudah didapatkan dan harganya relatif murah dibandingkan obat sintetik (Pertamawati 2015). Sebagai pengganti obat sintetik, orang-orang mencari alternatif baru dengan mengembangkan penggunaan obat tradisional. Tanaman yang dimanfaatkan sebagai bahan

untuk pengobatan asam urat secara empiris salah satunya adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.).

Kayu secang selain digunakan untuk antidiare, juga dapat digunakan sebagai pengobatan asam urat. Berbagai macam zat yang terkandung dalam kayu secang antara lain brazilin, alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenilpropana dan terpenoid. Selain itu juga mengandung asam galat, delta-aphellandrene, oscimene, resin dan resorin (Pertamawati 2015). Pengujian penghambatan aktivitas xantin oksidase telah banyak dilakukan pada berbagai tanaman obat yang berpotensi sebagai antihiperurisemia.

Pertamawati dan Mutia Hardhiyuna (2015) telah meneliti sebelumnya dengan melakukan penelitian uji penghambatan aktivitas enzim xantin oksidase terhadap ekstrak kulit kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dengan hasil bahwa ekstrak kulit kayu secang diduga bermanfaat sebagai anti asam urat dengan persen (%) inhibisi sebesar 58,922%, sementara persentase (%) allopurinol sebesar 87,47%.

Molecular docking merupakan suatu perangkat yang dapat digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. Molecular docking membantu dalam mempelajari interaksi obat/ ligan dengan reseptor/protein. Molecular docking dilakukan dengan cara mengidentifikasi sisi aktif yang cocok pada reseptor/protein, memperoleh geometri terbaik dari ligan – kompleks reseptor dan menghitung energi interaksi tiap ligan yang berbeda untuk merancang ligan yang lebih efektif. Putri (2019) telah melakukan molecular docking terhadap kandungan senyawa flavonoid kayu secang terhadap enzim xantin oksidase dan diperoleh senyawa Sappan Kalkon memiliki energy bebas pengikatan yang lebih baik dibandingkan dengan allopurinol.

Pada penelitian ini dilakukan studi dinamika molekular untuk mengetahui kestabilan senyawa Sappan Kalkon terhadap penghambatan xantin oksidase. Dinamika molekular memberikan solusi untuk mereproduksi tingkah laku mikroskopis suatu makromolekul dengan sistem-sistem model yang sesuai dengan keadaan aslinya.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah senyawa Sappan Kalkon memiliki kestabilan dalam penghambatan xantin oksidase dibandingkan dengan allopurinol.

## **1.3. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan Sappan Kalkon dalam penghambatan xantin oksidase dibandingkan dengan allopurinol .

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini diharapkan memperoleh informasi mengenai kestabilan Sppan Kalkon dalam penghambatan xantin oksidase sebagai antihiperurisemia.

#### **1.5. Urgensi (Keutamaan) Riset**

Indonesia memiliki kekayaan herbal yang melimpah, salah satunya tanaman kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Kandungan senyawa pada kayu secang yang diduga berpotensi sebagai antihiperurisemia adalah flavonoid. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan, tanaman kayu secang diketahui memiliki aktivitas sebagai antihiperurisemia secara *in vitro/in vivo*. Sappan kalkon merupakan salah satu senyawa yang dapat menghambat enzim xantin oksidase secara molecular docking (Putri 2019). Kemampuan Sappan kalkon dalam menghambat xantin oksidase menyebabkan terhambatnya pembentukan asam urat yang menyebabkan hiperurisemia.

Oleh karena itu penelitian penemuan obat dari senyawa bahan alam dalam rangka menemukan antihiperurisemia yang poten dan selektif sangat urgen untuk dilakukan. Bahan baku obat-obat yang beredar di Indonesia hampir 100% impor. Kondisi ini tidak menguntungkan bagi ketahanan nasional. Upaya mengembangkan bahan obat dari bahan alam dengan memanfaatkan produk dari alami Indonesia sangat perlu dilakukan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Deskripsi dan Tata Nama

#### a. Taksonomi Tanaman Kayu Secang

Divisi	: Spermatophyta
Sub. Divisi	: Dycotyledoneae
Bangsa	: Fabales
Suku	: Leguminosae
Marga	: Caesalpinia
Jenis	: <i>Caesalpinia sappan L.</i>
Sinonim	: <i>Biancaea sappan (L.) Tadaro</i>



Nama umum : Kayu Secang, secang (BPOM RI 2008)

**Gambar 2.1. Kayu secang (BPOM RI 2008)**

#### b. Kandungan Kimia

Kayu secang mengandung asam galat, tanin, alkaloid, saponin, fenolik, flavonoid, terpenoid dan minyak atsiri (Haryanto 2009).

### 2.2. Khasiat Kayu Secang

Tanaman secang memiliki banyak khasiat yang digunakan untuk pengobatan yaitu menurut Kim *et al.* (2004) sebagai anti inflamasi, tetanus, abses, analgesik, dan pengobatan trombosis, menurut Rina *et al.* (2012) secang digunakan sebagai antioksidan, menurut Kusmiati (2014)

digunakan sebagai antimikroba, antidiare (Depkes RI 1977), dan secara empiris dimanfaatkan sebagai bahan untuk pengobatan penyakit asam urat (Pertamawati 2015).

### **2.3.Enzim Xantin Oksidase**

Enzim adalah biomolekul berupa protein yang berfungsi sebagai katalis dalam suatu reaksi kimia organik. Organisme hidup mampu mendapatkan dan menggunakan energi dengan cepat karena adanya katalis biologis yang disebut enzim. Sebagaimana katalis anorganik, enzim mengubah kecepatan suatu reaksi kimia. Tetapi tidak mempengaruhi kesetimbangan akhir reaksi. Enzim dibutuhkan dalam jumlah kecil untuk perubahan besar pada molekul substrat. Enzim hanya akan bekerja dalam kondisi yang sesuai, seperti pH, suhu, konsentrasi, kofaktor, dan sebagainya (Bintang 2010).

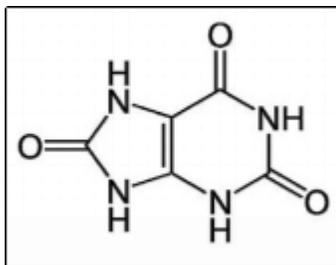
Xantin oksidase adalah enzim yang berperan sebagai katalisator dalam proses oksidasi hipoxantin menjadi xantin dan kemudian menjadi asam urat. Xantin oksidase merupakan enzim yang mereduksi  $O_2$  menjadi  $H_2O_2$  dalam sitosol dan diperkirakan faktor utama dalam cedera iskemia terutama pada sel mukosa usus. Xantin oksidase merupakan homodimer katalitik subunit independent adalah enzim yang mengkatalisis hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat, yang merupakan jalur degradasi purin (Pertamawati 2015).

### **2.4.Asam Urat**

#### **a. Sifat fisika dan kimia asam urat**

Asam urat dikenal dengan nama IUPAC 7,9-dihidro-1 H-purin-2,6,8 (3H)-trion atau dengan nama lain 2,6,8-trioksipurina. Dengan rumus molekul  $C_5H_4N_4O_3$ . Asam urat memiliki berat molekul 168,11 g/mol. Asam urat merupakan senyawa yang berbentuk kristal tidak berwarna. Asam urat memiliki sifat sukar larut dalam air, dan mudah larut dalam asam sulfat pekat (Merck 2001). Dasar kelarutan produk dari natrium urat pada suhu 37 °C dan penambahan 0,4 mg/dl untuk batas urat dalam plasma adalah 6,8 mg/dl. Nilai diatas dapat berpotensi sebagai endapan dari kristal urat yang ada. Kelarutan dari natrium urat dalam plasma pada suhu 30 °C hanya 4 mg/dl, yang menjelaskan bahwa bentuk

kristal lebih baik di dalam suhu tubuh yang rendah (Merck 2001).



**Gambar 2.2 Rumus bangun asam urat (Merck 2001)**

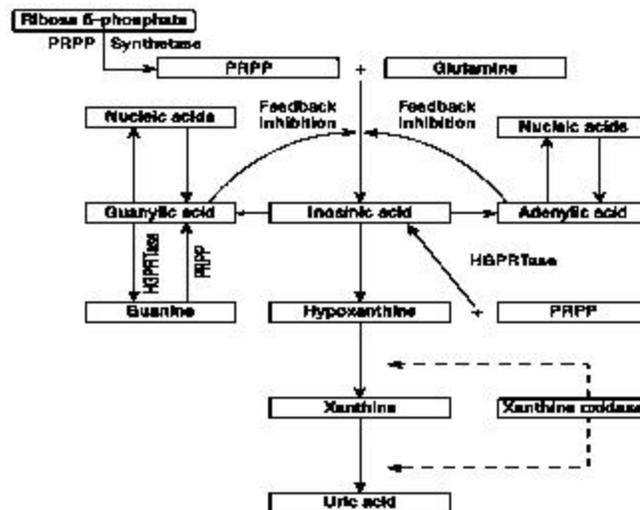
### **b. Metabolisme Asam Urat**

Dua pertiga total urat tubuh berasal dari pemecahan purin endogen, hanya sepertiga yang berasal dari diet yang mengandung purin. Pada pH netral asam urat dalam bentuk ion asam urat (kebanyakan dalam bentuk monosodium urat), banyak terdapat di dalam darah. Konsentrasi normal kurang dari 420  $\mu\text{mol/L}$  (7,0 md/dL). Kadar urat tergantung jenis kelamin, umur, berat badan, tekanan darah, fungsi ginjal, status peminum alkohol dan kebiasaan memakan makanan yang mengandung diet purin yang tinggi. Kadar Asam Urat mulai meninggi selama pubertas pada laki-laki tetapi wanita tetap rendah sampai menopause akibat efek urikosurik estrogen. Dalam tubuh manusia terdapat enzim asam urat oksidase atau urikase yang akan mengoksidasi asam urat menjadi allantoin. Defisiensi urikase pada manusia akan mengakibatkan tingginya kadar asam urat dalam serum. Urat dikeluarkan di ginjal (70%) dan traktus gastrointestinal (30%). Kadar asam urat di darah tergantung pada keseimbangan produksi dan ekskresinya (Dianita 2015).

Sintesis asam urat dimulai dari terbentuknya basa purin dari gugus ribosa, yaitu 5-phosphoribosyl-1-pirophosphat (PRPP) yang didapat dari ribose 5fosfat yang disintesis dengan ATP (Adenosinetriphosphate) dan merupakan sumber gugus ribosa. Reaksi pertama, PRPP bereaksi dengan glutamin membentuk fosforibosilamin yang mempunyai sembilan cincin purin. Reaksi ini dikatalisis oleh PRPP glutamil amidotranferase, suatu enzim yang dihambat oleh produk nukleotida inosin monofosfat (IMP), adenine monofosfat (AMP) dan guanin monofosfat

(GMP). Ketiga nukleotida ini juga menghambat sintesis PRPP sehingga memperlambat produksi nukleotida purin dengan menurunkan kadar substrat PRPP.

Inosin monofosfat (IMP) merupakan nukleotida purin pertama yang dibentuk dari gugus glisin dan mengandung basa hipoxanthine. Inosinemonophosphat berfungsi sebagai titik cabang dari nukleotida adenin dan guanin. Adenosin monofosfat (AMP) berasal dari IMP melalui penambahan sebuah gugus amina aspartat ke karbon enam cincin purin dalam reaksi yang memerlukan GTP (Guanosine triphosphate). Guanosin monofosfat (GMP) berasal dari IMP melalui pemindahan satu gugus amino dari amino glutamin ke karbon dua cincin purin, reaksi ini membutuhkan ATP. Adenosine monophosphate mengalami deaminasi menjadi inosin, kemudian IMP dan GMP mengalami defosforilasi menjadi inosin dan guanosin. Basa hipoxanthine terbentuk dari IMP yang mengalami defosforilasi dan diubah oleh xantine oksidase menjadi xantine serta guanin akan mengalami deaminasi untuk menghasilkan xantine juga. Xantine akan diubah oleh xantine oksidase menjadi asam urat, seperti yang tertera pada gambar 3 (Dipiro *et al.* 2014).



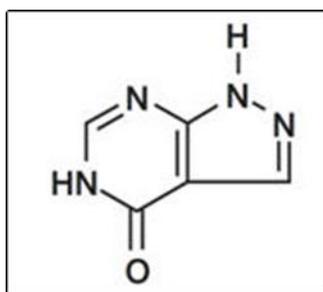
Gambar 2.3. Metabolisme asam urat (Dipiro *et al* 2014)

## 2.5.Hiperurisemia

Hiperurisemia merupakan kondisi dimana tingginya konsentrasi serum asam urat dalam darah, konsentrasi normal asam urat pada pria 3,0-7,0 mg/dl dan pada wanita yaitu 2,4-6,0 mg/dl. Penyakit ini lebih banyak menyerang pria dari pada wanita, karena pria memiliki kadar asam urat yang lebih tinggi dari pada perempuan selain itu karena perempuan mempunyai hormon esterogen yang ikut membuang asam urat melalui urin (Carter 2010). Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi peningkatan kadar asam urat dalam darah dan merupakan faktor resiko terjadinya hiperurisemia. Faktor tersebut adalah peningkatan pembuatan asam urat, penurunan eliminasi asam urat dan gabungan antara kedua faktor tersebut. Pengobatan hiperurisemia dapat dilakukan dengan meningkatkan eliminasi asam urat atau dengan cara menghambat enzim xantin oksidase. Terdapat obat konvensional yang dapat digunakan dalam mengurangi gejala penyakit ini yaitu allopurinol (Jang *et al.* 2014)

## 2.6. Allopurinol

Allopurinol adalah salah satu obat yang paling sering digunakan untuk mengatasi penyakit hiperurisemia atau gout dengan mekanisme penghambatan xantin oksidase digunakan untuk mencegah dan mengurangi terbentuknya asam urat. Allopurinol mempengaruhi perubahan hipoxantin menjadi xantin dan xantin menjadi asam urat. Allopurinol dapat dengan cepat diabsorpsi dengan pemberian oral. Metabolit utama dari allopurinol adalah oksipurinol tetapi kurang aktif dibandingkan dengan allopurinol. Metabolit dari allopurinol mempunyai waktu paruh yang panjang yaitu 12 sampai 40 jam, sedangkan allopurinol sekitar 0,5 sampai 2 jam. Sehingga pemberian allopurinol biasanya cukup diberikan satu kali sehari dengan dosis oral harian sebesar 300 mg (Dipiro *et al.* 2014).



**Gambar 2.4. Struktur Allopurinol (Depkes RI 2014)**

## 2.7. Simulasi *Molecular Dynamic* (MD)

Dinamika molekuler adalah suatu bentuk simulasi komputer dimana atom dan molekul yang diizinkan untuk berinteraksi selama jangka waktu tertentu dengan pendekatan secara fisik yang diketahui, memberikan pandangan dari gerak dan partikel. *Molecular dynamics* merupakan tahapan lebih lanjut dari pendekatan *molecular mechanic* dan didasari dari ide bahwa atom dari suatu molekul merasakan kekuatan untuk bergerak (Becker *et al.*, 2001). Simulasi secara virtual dapat digunakan untuk memahami sifat dari suatu molekul berdasarkan struktur dan interaksi mikroskopik antar molekul. Dua teknik utama dalam simulasi molekul secara virtual adalah dinamika molekuler (*molecular dynamics*) dan Monte Carlo (MC), selain itu terdapat juga teknik yang merupakan gabungan dari dua teknik tersebut.

Keunggulan dari teknik dinamika molekuler yaitu dapat memberikan rute terhadap sifat dinamika dan suatu sistem seperti koefisien transport, respon terhadap gangguan yang bergantung pada waktu dan sifat rheologi. Simulasi dinamik ini secara virtual dapat melakukan pekerjaan yang mustahil untuk dilakukan secara nyata di laboratorium seperti bekerja pada suhu atau tekanan yang ekstrim (Allen, 2004). Simulasi dinamika molekuler dapat digunakan dengan menggunakan beberapa aplikasi seperti Amber dan Gromac. Melalui simulasi dinamika molekuler yang dilakukan, maka informasi kinetika dan termodinamika suatu protein dapat ditelusuri lebih lanjut (Karplus & Kuriyan, 2007).

Aplikasi dan Metode yang digunakan:

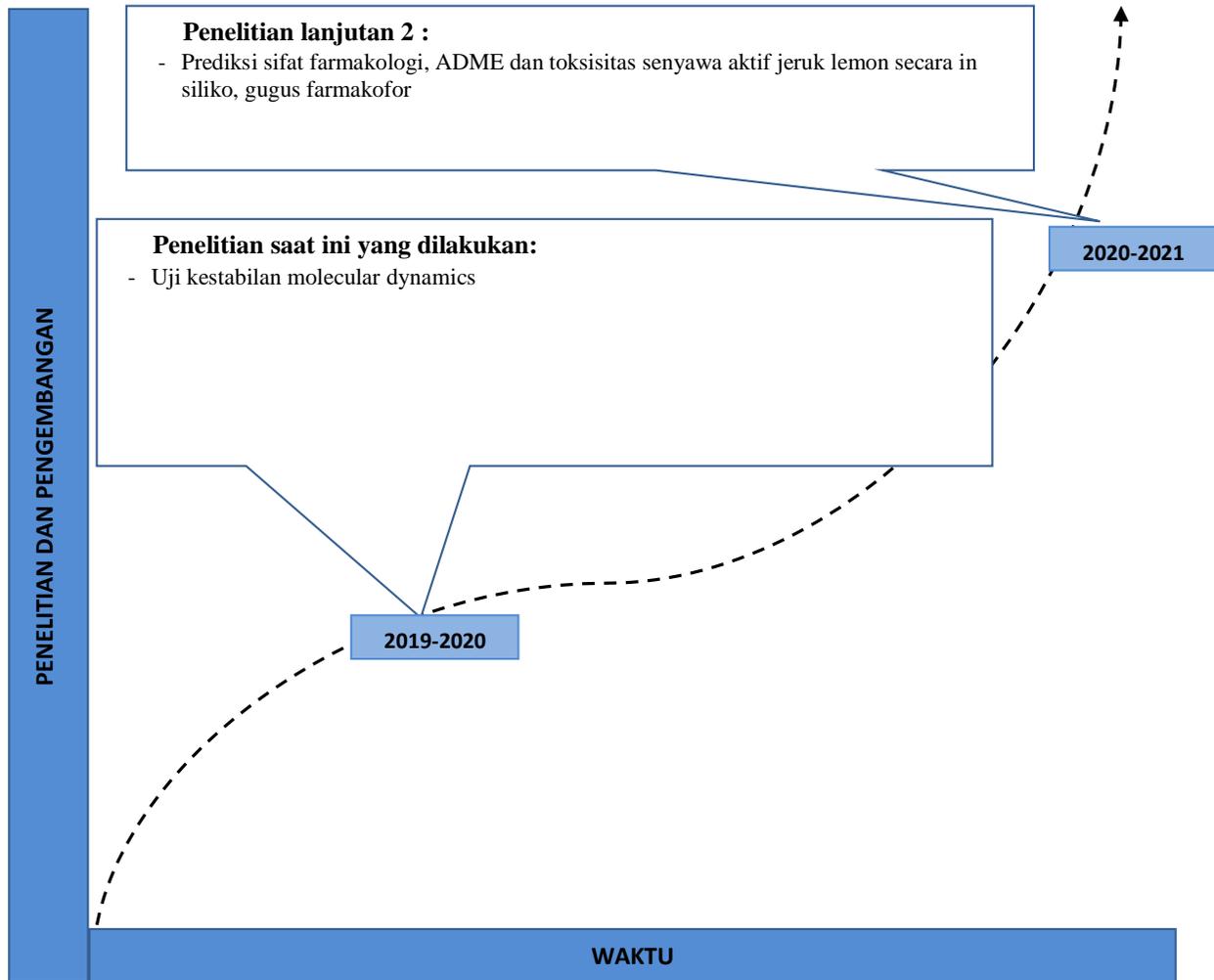
**1. Simulasi *Molecular Dynamic* (MD) dengan Aplikasi GROMACS versi 5.1.2**

Tujuan dari *Molecular Dynamic* adalah untuk melihat kestabilan senyawa terbaik yang didapat dari hasil *molecular docking*.

**2. Visualisasi Hasil *Molecular Dynamic* dengan *Discovery studio***

Pada visualisasi ini digunakan aplikasi *Discovery studio*, yang bertujuan untuk melihat ikatan yang terjadi dan kemudian akan dibandingkan dengan hasil ikatan *molecular docking*.

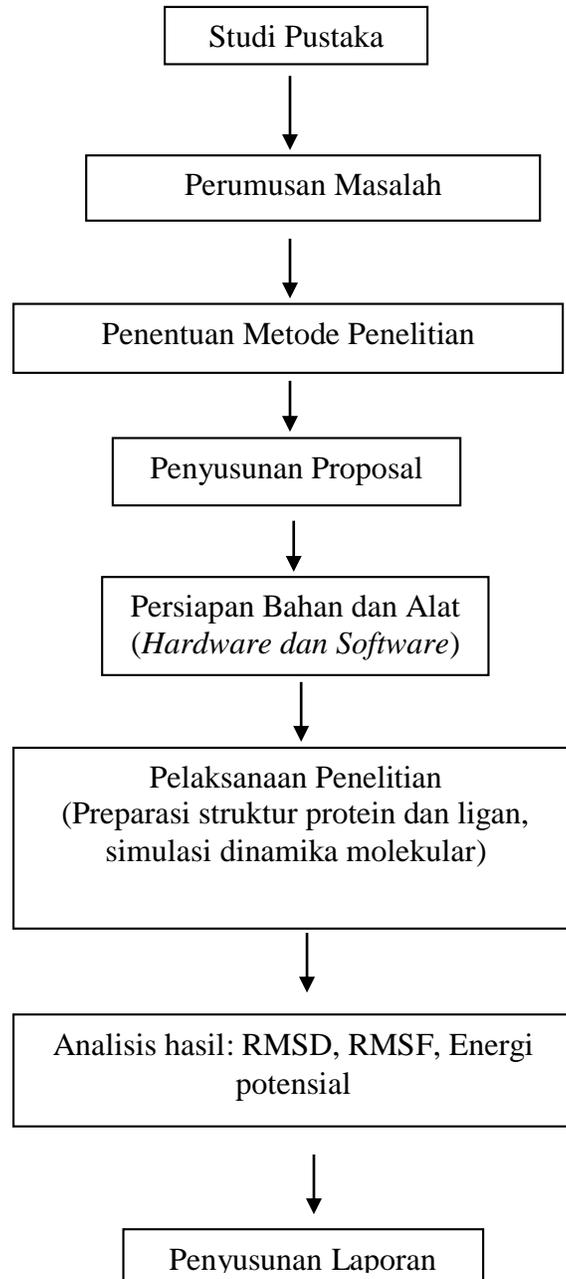
## 2.8. Road Map Penelitian



Gambar 2.5. Road Map Penelitian

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1. Alur/Langkah Penelitian



**Gambar 3.1. Alur Langkah Penelitian**

### **3.2.Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Komputasi Fakultas Farmasi dan Sains UHAMKA

### **3.3. Konsep Metode Penelitian yang digunakan**

Konsep metode penelitian ini adalah simulasi dinamika molecular senyawa sappan kalkon. Metode ini dapat mensimulasi bagaimana interaksi kestabilan Sappan kalkon dengan protein target yaitu enzim xantin oksidase.

### **3.4. Desain Penelitian Yang digunakan**

Desain penelitian yang digunakan menggunakan metode eksperimental.

### **3.5. Populasi dan Sampel atau Subjek Penelitian/Informan Penelitian**

Subjek penelitian yang digunakan adalah senyawa sappan kalkon.

### **3.6. Cara Pengumpulan Data**

Cara pengumpulan data subyek penelitian dengan cara restropektif berdasarkan jurnal-jurnal yang membahas tentang skrining senyawa pada kayu secang.

### **3.7. Instrumen yang digunakan, Manajemen Analisis Data**

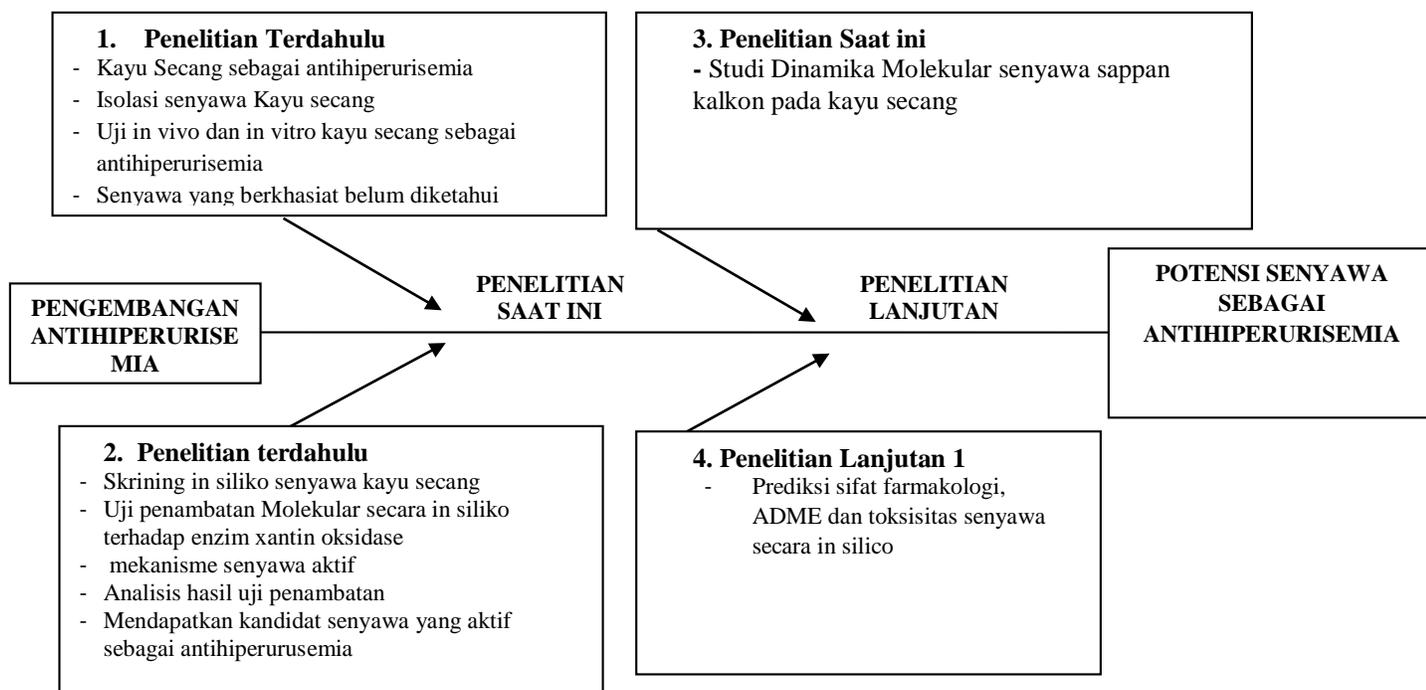
Analisis data yang digunakan dengan cara analisis in silico di antaranya dikenal sebagai *dinamika molekular*. Tujuan analisis adalah melakukan uji kestabilan senyawa terhadap xantin oksidase.

### **3.8. Indikator Capaian Hasil Penelitian**

Indikator capaian hasil penelitian adalah

- Didapatkan kestabilan sappan kalkon pada waktu pergerakan atom protein xantin oksidase 10 ns.

### 3.9. Fishbond Penelitian



Gambar 3.2. Fishbond Penelitian

#### A. Prosedur Penelitian

##### 1. Alat

Perangkat lunak berupa AutoDock Tools (Morris et al. 2009), Discovery Studio ([www.3dsbiovia.com](http://www.3dsbiovia.com), dikembangkan oleh Dassault Systèmes Biovia Corp), PyMOL ([www.pymol.org](http://www.pymol.org), dikembangkan oleh DeLano Scientific LLC), Chemicalize ([www.chemicalize.com](http://www.chemicalize.com), dikembangkan oleh ChemAxon), GROMACS (Abraham et al. 2015), MM-PBSA (Miller et al. 2012).

Perangkat keras berupa personal computer (PC) dengan spesifikasi operating system Ubuntu 18.04.1 LTS, AMD Ryzen 7 2700x eight-core processor x 16, GNOME 3.28.2, 64-bit Operating System, HDD 4 TB.

##### 2. Bahan

###### a. Struktur 3D Reseptor dari Xantin Oksidase

Struktur 3D dari reseptor xantin oksidase diunduh dari *Protein Data Bank* dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb>. yang berformat .pdb.

#### **b. Struktur 3D Senyawa Sappan Kalkon**

Struktur 3D yang digunakan adalah senyawa sappan kalkon (Putri, 2019)

### **3. Cara Kerja**

Tahap Pengunduhan dan Penggunaan aplikasi Gromacs:

#### **a. GROMACS 5.1.2**

Aplikasi Gromacs diunduh melalui website <http://www.gromacs.org>. Setelah itu akan diaktifkan melalui terminal pada linux (Astuti & Mutiara, 2011).

#### **b. Cara kerja MD**

Simulasi MD merupakan model prediksi interaksi ligan-protein dalam kondisi biologis, sehingga model kompleks harus diatur berada dalam lingkungan yang menyerupai keadaan pada sistem biologis. Perlakuan yang digunakan antara lain adalah solvasi kompleks hasil docking dengan model air, penambahan ion ( $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ ), ekuilibrisasi temperatur pada 310 K dengan *thermostat velocity rescale* dan tekanan pada 1 bar dengan barostat Parrinello-Rahman. Demi menjaga konsistensi proses, tahapan minimisasi energi kompleks dilakukan dengan medan gaya dari gromacs. Yang kemudian didapatkan hasil yang merupakan *file* Trayektori berupa diagram (Manna dkk, 2017). Analisa data perbandingan nilai dinyatakan dengan RMSD (*Root Mean Square Deviation*), metode dikatakan baik jika nilai RMSD-nya lebih kecil atau sama dengan 2,5 ( $\leq 2,5$ ). Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2,5 ( $> 2,5$ ), metode yang digunakan tidak dapat dipercaya (Rollando, 2018). Nilai *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) menunjukkan fluktuasi residu asam amino penyusun reseptor selama proses simulasi sehingga dapat merepresentasikan fleksibilitas residu (Dermawan, 2019).

#### **c. Tahapan Aplikasi Gromacs**

##### **1) Konversi PDB file**

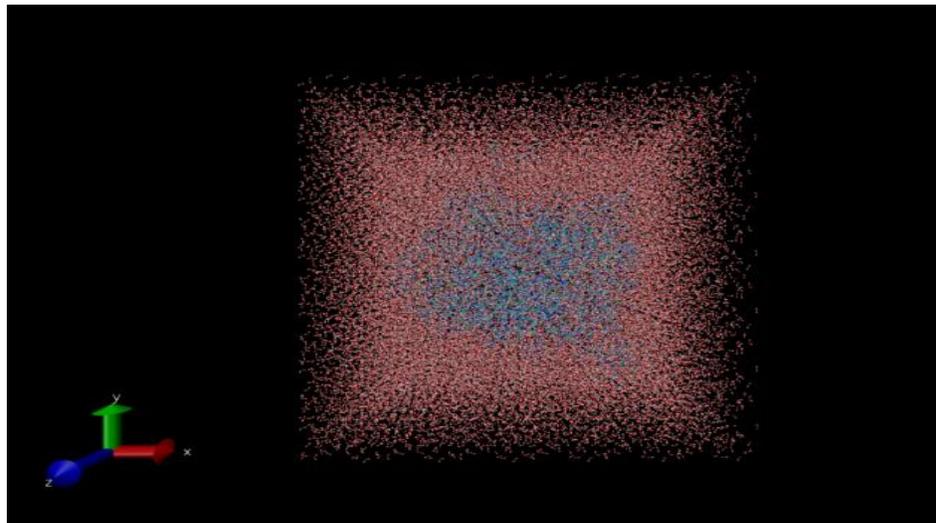
File yang berformat pdb pada tahap ini diubah menjadi file gromos (.gro) dengan program pdb2gmx. Kemudian pdb2gmx juga membentuk file topologi ber-extension (.top).

## 2) Pembentukan Box

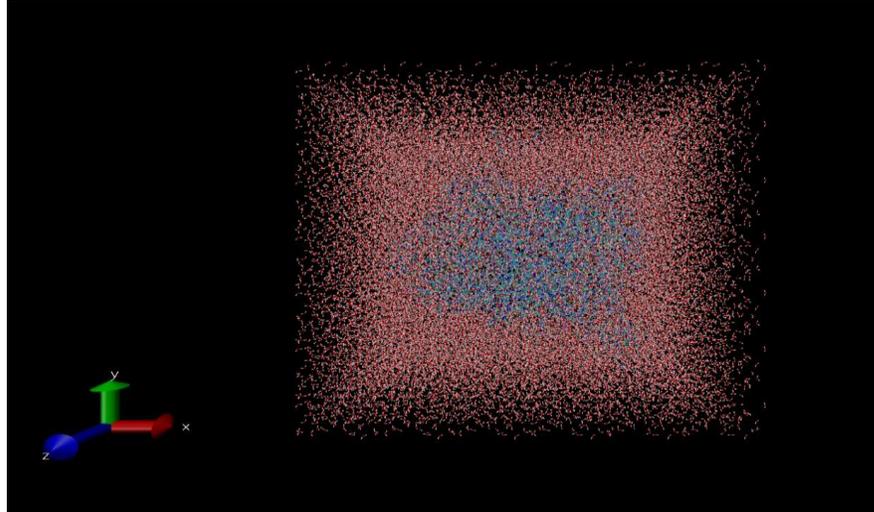
Pada Gromacs menyediakan 3 bentuk yaitu cubic, triclinic, dan octahedron. Agar simulasi terlihat nyata maka molekul harus dilarutkan ke dalam air. Pada tahap ini, program editconf (untuk mendefinisikan model box air yang akan digunakan untuk mesimulasikan suatu protein. Program ini tidak hanya mendefinisikan saja modelnya tapi juga mengatur jarak relatif antara tepi box dengan molekul) akan menentukan jenis box serta ukuran box yang akan digunakan dalam simulasi (Prayoga dkk. 2018).

## 3) Solvasi Protein-ligan

Perlakuan yang digunakan antara lain adalah solvasi kompleks hasil docking dengan model air, penambahan ion ( $\text{Na}^+$  dan  $\text{Cl}^-$ ), ekuilibrisasi temperatur pada 310 K dengan *thermostat velocity rescale* dan tekanan pada 1 atm dengan barostat Parrinello-Rahman (Kusuma & Hadi, 2019).



**Gambar 3.4. Visualisasi File solv.gro Penambahan Molekul Air Menyesuaikan Box *Triclinic* yang Berisi Kompleks Protein-Sappankalkon.**



**Gambar 3.5. Visualisasi File solv.gro Penambahan Molekul Air Menyesuaikan Box *Triclinic* yang Berisi Kompleks Protein-Allopurinol.**

#### 4) Penyusutan Energi

Sistem box di minimisasi menggunakan *script* yang telah disiapkan dengan suhu 310° K dan tekanan 1 bar, minimisasi energi dilakukan sebanyak 5000 *step* (Roy, 2018).

#### 5) Simulasi MD

Pada simulasi ini dilakukan proses *running* hampir sama dengan minimisasi energi. Grompp menyiapkan file input untuk menjalankan mdrun. Proses simulasi juga memerlukan file mdp untuk men-*setup* parameter. Sebagian besar option mdrun pada dinamika molekuler digunakan juga pada penyusutan energi kecuali *-x* untuk membentuk file trajektori (Astuti & Mutiara, 2011).

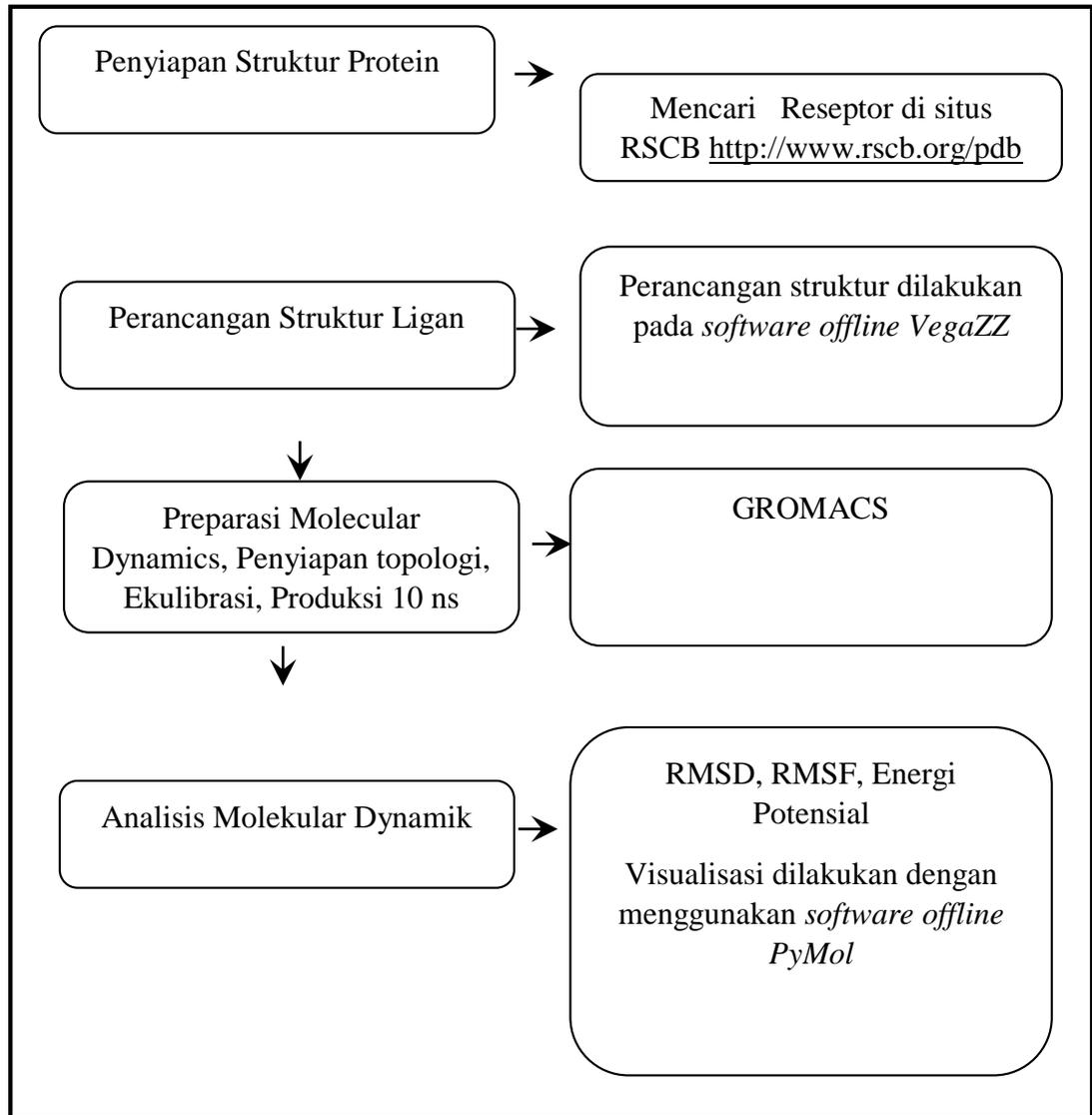
##### a) Ekuilibrase

Tahap ekuilibrase dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrase untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan suhu dari 0° K menjadi 310° K. Ekuilibrase tahapan kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada suhu dan tekanan yang konstan (Aulia, 2012).

##### b) Produksi

Pada penelitian ini ingin dihasilkan simulasi dinamika molekuler selama 10 *nanosecond* (ns). Program mdrun bisa dijalankan setelah waktunya diatur. Hasil yang didapatkan dari aplikasi GROMACS ini yaitu RMSD dan RMSF. *Root Mean*

*Standart Deviasion* (RMSD) yang bertujuan agar memperlihatkan protein dalam keadaan tetap stabil dan tidak terdenaturasi (Prayoga dkk. 2018). Nilai *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) menunjukkan fluktuasi residu asam amino penyusun reseptor selama proses simulasi sehingga dapat merepresentasikan fleksibilitas residu (Dermawan, 2019).

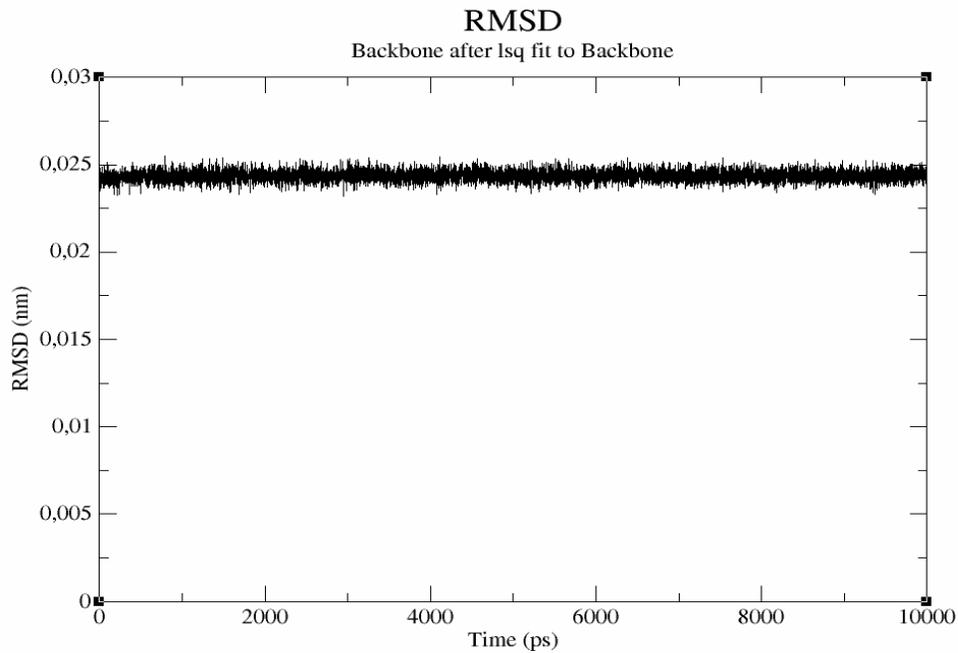


**Gambar 3.6. Alur Prosedur Penelitian**

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

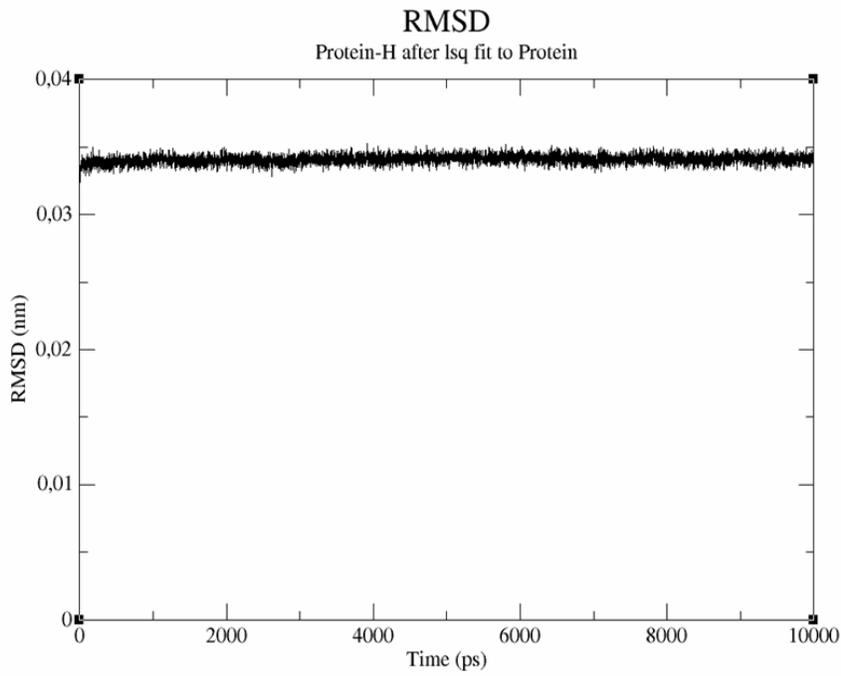
### 4.1.RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

Hasil dari simulasi dinamika molekul perlu dilakukan analisis seperti analisis *Root Mean Standart Deviasion* (RMSD) yang bertujuan agar memperlihatkan protein dalam keadaan tetap stabil dan tidak terdenaturasi. Nilai RMSD sangat baik apabila tidak terjadi fluktuasi yang terlalu tajam hingga 0.1 nm (Abraham *et al.*, 2016).

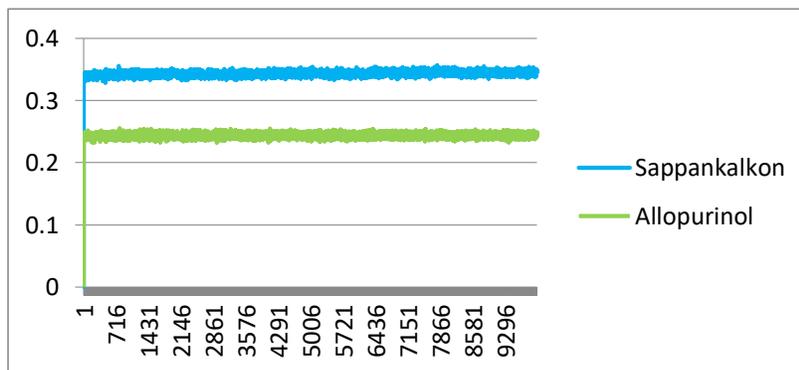


RMSD Allopurinol

Fluktuasi grafik RMSD yang terlalu tajam berarti adanya ikatan dari protein yang terlepas sejauh jarak tertentu sehingga protein dapat terdenaturasi (Prayoga dkk 2018).



RMSD Sappankalkon



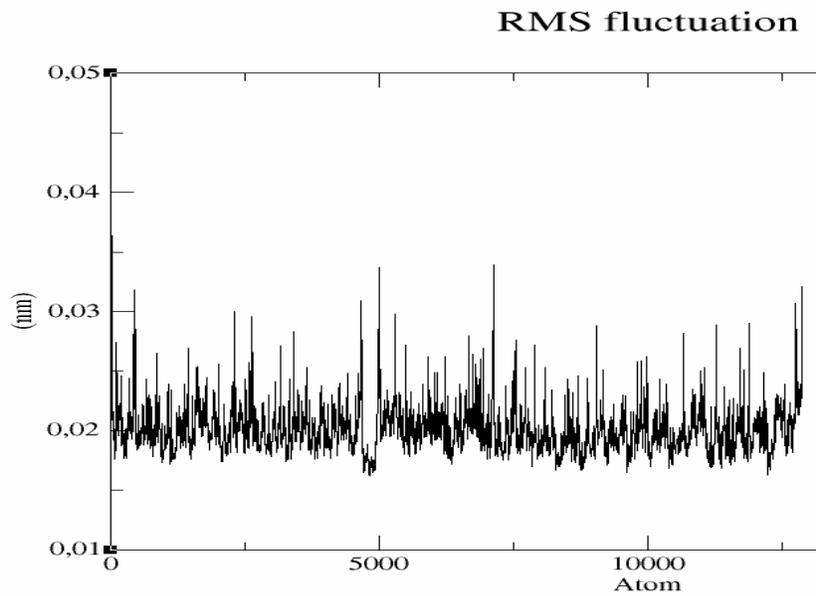
**Gambar 4.1. Grafik RMSD Hasil *Molecular Dynamic* Allopurinol dan Sappankalkon**

Grafik pada Gambar 4.1 menunjukkan hasil RMSD *molecular dynamic* antara kompleks Sappankalkon dan Allopurinol. Pergerakan molekul dikatakan stabil jika RMSD-nya lebih kecil atau sama dengan 2,5 (<2,5). Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2,5 (>2,5), berarti metode yang digunakan tidak dapat dipercaya (Rollando, 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa kestabilan yang dihasilkan oleh

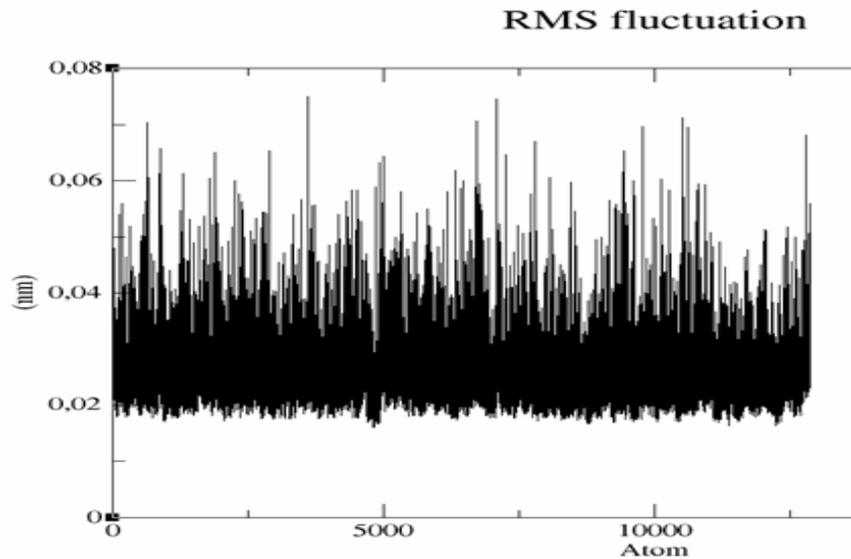
sampangkalkon kurang baik karena hasil RMSD diatas 3 Å. Hasil pada allopurinol pergerakan molekul dikatakan stabil karena nilai RMSD nya dibawah 3.

#### 4.2.RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*)

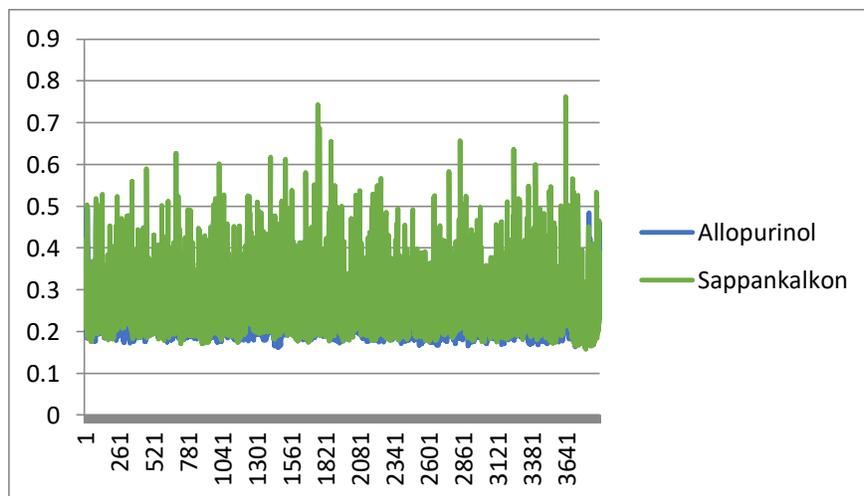
Nilai *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) menunjukkan fluktuasi residu asam amino penyusun reseptor selama proses simulasi sehingga dapat merepresentasikan fleksibilitas residu (Dermawan, 2019).



RMSF Allopurinol



RMSF Sappankalkon



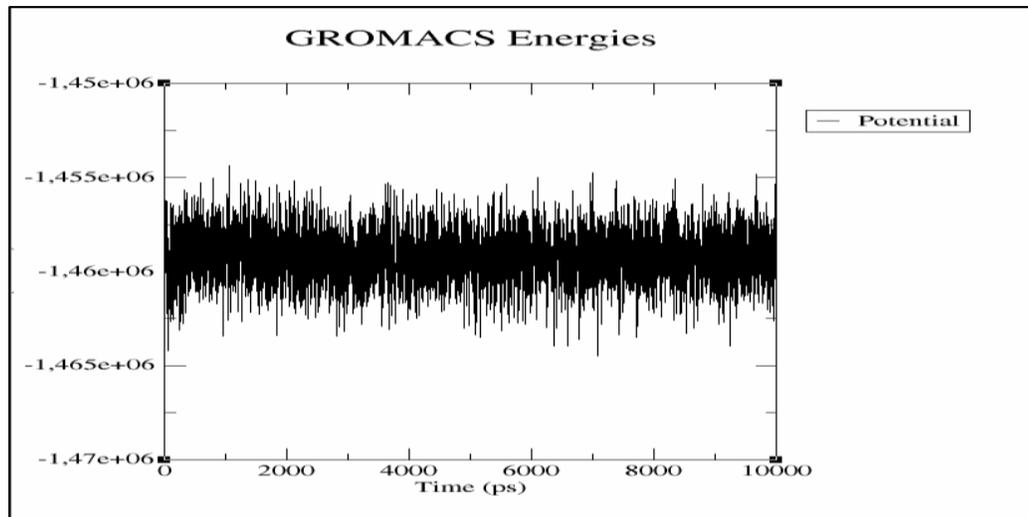
**Gambar 4.2 Grafik RMSF Hasil *Molecular Dynamic* Sappankalkon dan Allopurinol**

Hasil grafik Gambar 4.2 adalah grafik RMSF MD antara sappankalkon dan allopurinol. Hasil grafik RMSF menunjukkan bahwa kompleks Sappankalkon dengan reseptor memiliki atom-atom yang kurang stabil daripada kompleks Allopurinol dengan reseptor. Hal tersebut dikarenakan fluktuasi yang terjadi pada sappankalkon sangat jauh jaraknya sehingga kurang stabil. Jarak yang terdapat pada allopurinol yaitu berkisar rata-rata 2 rmsd sehingga jarak tersebut menunjukkan kestabilan, sedangkan pada

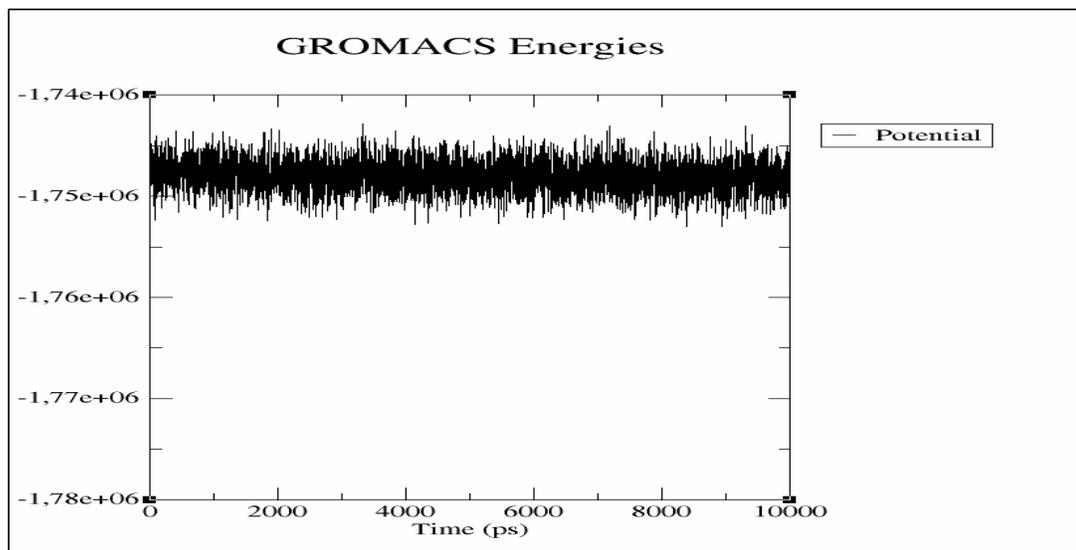
sappankalkon jaraknya kurang stabil karena seperti terlihat pada waktu antara 1821, 2861, 3641 mengalami kenaikan rmsd yang sangat jauh yaitu sampai 5-7 rmsd.

### 4.3. Energi Potensial

Energi potensial dianalisis dari berkas .out hasil produksi yang kemudian di ekstrak dan diubah format. Berkas yang didapat dibuka dengan program *excel* dan dibuat kurva hubungan antara energi potensial terhadap waktu.



Energi Potensial Allopurinol

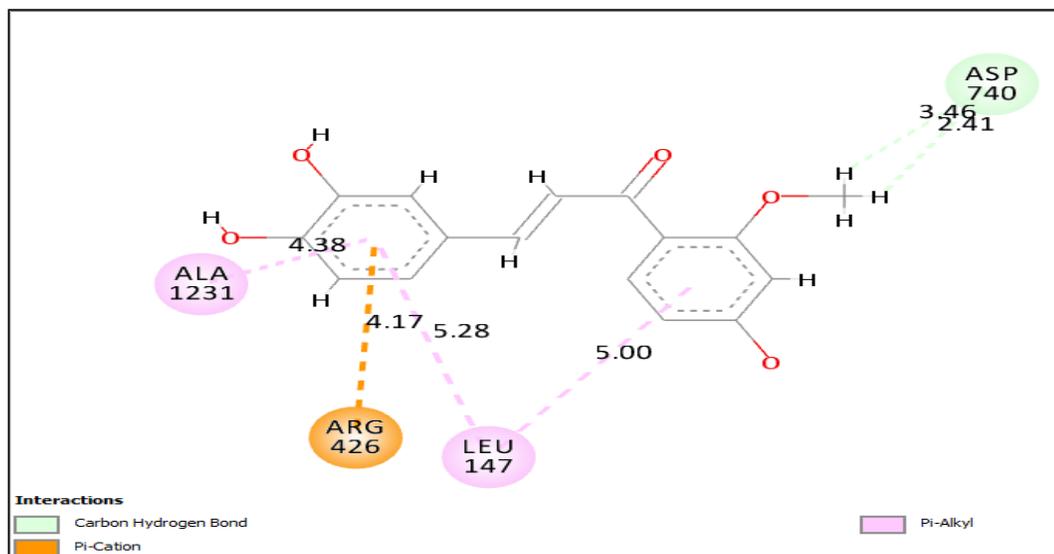


Energi Potensial Sappankalkon

Berdasarkan data energi potensial diatas menunjukkan kompleks reseptor-ligan memiliki energi potensial dengan kisaran -1455000-1465000 kkal/mol. Secara keseluruhan, kompleks allopurinol memiliki nilai energi potensial yang stabil. Nilai energi potensial dari kompleks sappankalkon melebihi 1455000-1465000 kkal/mol, kompleks sappankalkon dikatakan tidak stabil karena melebihi batas kisaran (Simanjuntak, 2015).

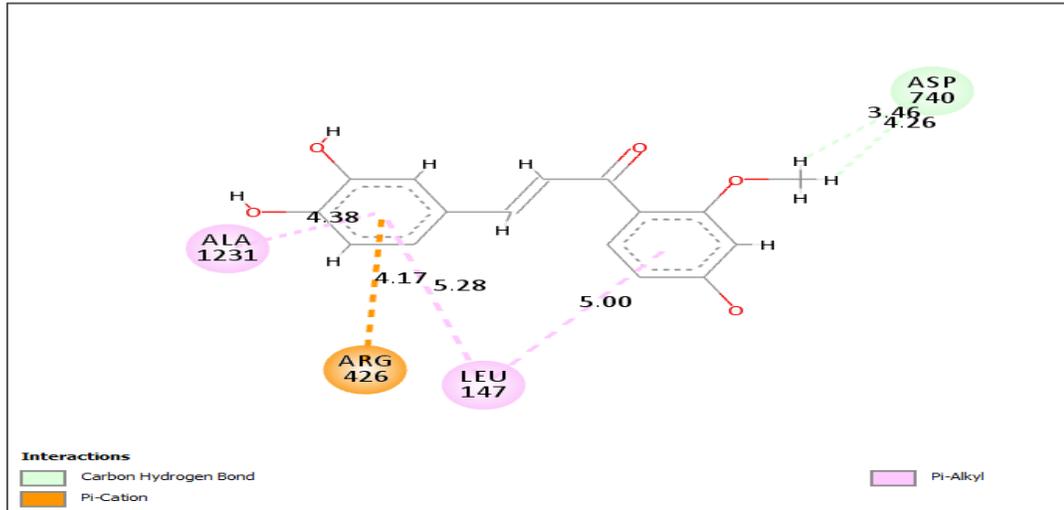
#### 4.4. Visualisasi Hasil *Molecular Dynamic*

Aplikasi yang digunakan untuk visualisasi *molecular dynamic* adalah *Discovery studio*. Tujuan nya yaitu untuk melihat ikatan yang terjadi dan kemudian akan dibandingkan dengan hasil ikatan *molecular docking*.



**Gambar 4.3** Visualisasi Ligan kayu secang terbaik (Sappankalkon) dari hasil *Molecular Docking*

Hasil visualisasi pada gambar 5 menunjukkan perbandingan antara hasil visualisasi molekular docking sappankalkon.



**Gambar 4.4. Visualisasi Ligan kayu secang terbaik (Sappankalkon) dari hasil *Molecular Dynamic***

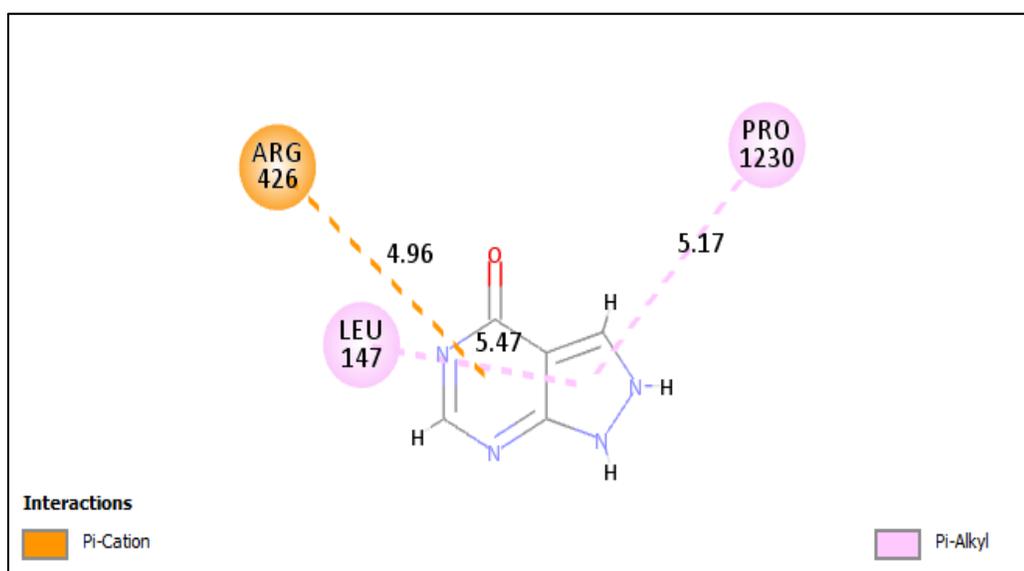
Hasil visualisasi pada gambar 6 menunjukkan perbandingan antara hasil visualisasi molekular dinamik sappankalkon setelah dilakukan *Molecular Dynamic* selama 10 ns (nanosecond).

**Tabel 4.1. Hasil Visualisasi Interaksi antara Ligan Kayu Secang (Sappankalkon) dengan Xantin Oksidase Menggunakan *Software Discovery Studio (Molecular docking dan Molecular dynamic)***

Ligan	<i>Molecular Docking</i>	Tipe Interaksi	<i>Molecular Dynamic</i>	Tipe Interaksi
Sappankalkon	Asam aspartat 740	Ikatan karbon Hidrogen	Asam aspartat 740	Ikatan karbon Hidrogen
	Asam aspartat 740	Ikatan karbon Hidrogen	Asam aspartat 740	Ikatan Karbon Hidrogen
	Arginine 426	Elektrostatik	Arginine 426	Elektrostatik
	Leusine 147	Hidrofobik	Leusine 147	Hidrofobik
	Leusine 147	Hidrofobik	Leusine 147	Hidrofobik
	Alanine 1231	Hidrofobik	Alanine 1231	Hidrofobik
			Asam aspartat 740	Ikatan Karbon Hidrogen

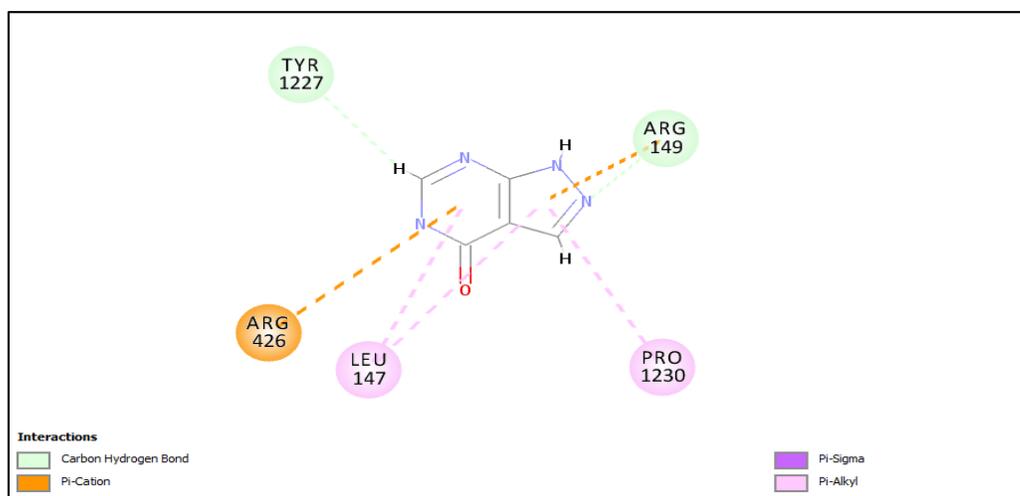
Pada kompleks sappankalkon molekular *docking* hanya terdapat 6 asam amino seperti Asam aspartat 740 ada 2, Leusine 147 ada 2, Alanine 1231, dan Arginine 426 (Putri, 2019). Kompleks sappankalkon yang sudah dilakukan *Molecular Dynamic* memiliki asam amino yaitu ada 7, Asam aspartat 740 ada 3, Leusine 147 ada 2, Alanine 1231, dan Arginine 426. Tabel 4.1 memperlihatkan

bahwa terjadi perubahan ikatan karbon hidrogen setelah dilakukan simulasi *Molecular Dynamic*. Kompleks Sappankalkon dengan reseptor sebelum dilakukan *Molecular Dynamic* memiliki 2 ikatan karbon hidrogen dan setelah dilakukan *Molecular Dynamic* memiliki 3 ikatan karbon hidrogen. Ikatan hidrogen ini terjadi ketika sebuah molekul memiliki atom N, O, atau F yang mempunyai pasangan elektron bebas, kemudian hidrogen dari molekul lain akan berinteraksi dengan pasangan elektron bebas ini membentuk suatu ikatan hidrogen dengan besar ikatan bervariasi (Aulia, 2012). Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa yang paling stabil adalah hasil setelah dilakukan *molecular dynamic* karena terdapat ikatan hidrogen. Sedangkan pada hasil molekular *docking* ikatan hidrogen hanya sedikit.



**Gambar 4.5. Visualisasi Ligan Pemandang (Allopurinol) dari hasil *Molecular Docking***

Pada gambar 4.5 memperlihatkan hasil visualisasi dari interaksi Allopurinol dengan *Molecular Docking*.



**Gambar 4.6. Visualisasi Ligan Pemanding (Allopurinol) dari hasil *Molecular Dynamic***

Gambar 4.6 adalah hasil visualisasi allopurinol setelah dilakukan *Molecular Dynamic* selama 10 ns (nanosecond). Kompleks allopurinol yang sudah dilakukan *Molecular Dynamic* memiliki atom-atom yang lebih stabil yang ditandai dengan adanya asam amino penting pada situs pengikatan ligan seperti Tyrosine 1227, arginine 426, leusine 147, arginine 149 dan proline 1230 sedangkan sewaktu belum dilakukan *Molecular Dynamic* hanya terdapat 3 asam amino seperti Arginine 426, leusine 147 dan proline 1230.

**Tabel 4.2. Hasil Visualisasi Interaksi antara Ligan Pemanding (Allopurinol) dengan Xantin Oksidase Menggunakan *Software Discovery Studio*(*Molecular docking*)**

Ligan	<i>Molecular Docking</i>	Tipe Interaksi	<i>Molecular Dynamic</i>	Tipe Interaksi
Allopurinol	Arginine 426	Elektrostatik	Tyrosine 1227	Ikatan Karbon Hidrogen
	Leusine 147	Hidrofobik	Arginine 426	Elektrostatik
	Proline 1230	Hidrofobik	Leusine 147	Hidrofobik
			Arginine 149	Ikatan Karbon Hidrogen
			Proline 1230	Hidrofobik

Hasil pada Tabel 2 menunjukkan bahwa terjadi perubahan tipe interaksi antara hasil molekular *docking* dan hasil setelah dilakukan *molecular dynamic*. Pada allopurinol *molecular docking* terdapat hasil tipe interaksi elektrostatik 1, dan hidrofobik ada 2. Sedangkan hasil setelah *molecular dynamic* terdapat tipe interaksi ikatan karbon hidrogen 2, elektrostatik 1, dan hidrofobik 2. Setelah dilakukan *molecular dynamic* didapatkan penambahan 2 ikatan karbon

hidrogen. Ikatan hidrogen adalah ikatan yang kuat. Ikatan hidrogen ini terjadi ketika sebuah molekul memiliki atom N, O, atau F yang mempunyai pasangan elektron bebas, kemudian hidrogen dari molekul lain akan berinteraksi dengan pasangan elektron bebas ini membentuk suatu ikatan hidrogen dengan besar ikatan bervariasi (Aulia, 2012). Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa yang paling stabil adalah hasil setelah dilakukan *molecular dynamic* karena terdapat ikatan hidrogen. Sedangkan pada hasil molekular *docking* tidak terdapat ikatan hidrogen.

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1. Kesimpulan**

Sappan kalkon memiliki kestabilan yang lebih baik dibandingkan dengan allopurinol.

### **5.2. Saran**

Perlu dilakukan penentuan gugus farmakofor dan prediksi toksisitas secara *in silico* terhadap senyawa Sappan Kalkon sebagai antihiperurisemia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abraham M, Berk H, David VDS, Erik L, Apol E, Apostolov R, Brendsen HJC, Bureen A, Bjekmar P, Drunen R, Feenstra A, Fritsch S, Groenhof G, Junghans C, Hub J, Kasson P, Kutzner C, Lambeth B, Larsson P, Lemkul JA, Marklund E, Meulenhoff P, Murtola T, Pall S, Pronk S, Schulz R, Shirts M, Sijbers A, Tieleman P, Wannberg C, Wolf M. (2016). *GROMACS Groningen Machine for Chemical Simulations*. University of Groningen. Netherlands Belanda.
- Allen M.P. (2004). Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *Journal Scientific Physics for Computing*. **23**(1). 1-28.
- Astuti AD, Mutiara AB. (2011). International Journal of Computer Science & Information Security. *Journal of computer science and information security*. **13**(9).
- Aulia F.(2012). Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Kompleks  $\alpha$ - Glukosidase dengan Sulokrin. Skripsi. 1-117
- Becker OM, Mackerrel AD, Roux B & Wtanabe M. (2001). *Computational Biochemistry and Biophysics*, Marcel Dekker
- Dermawan D, Riyadi S, Deti D. (2019). Molecular Dynamics Simulation of Estrogen Receptor Alpha Against Andrografolid as Anti Breast Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. **6**(2). 65-76
- Karplus, M, & Kuriyan J. (2005). Molecular Dynamics and Protein Function. PNAS. 6679-6685
- Kusuma AT, & Hadi D. 2019. Virtual Screening Natural Compounds from Plants as Inhibitor of Estrogen Receptor Alpha I (ESR1). *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. **1**(1): 30-41
- Manna A, Laksitorini MD, Hudiyanti D, Siahaan P. (2017). Molecular Docking of Interaction between E-Cadherin Protein and Conformational Structure of Cyclic Peptide ADTC3 (Ac-CADTPC-NH2) Simulated On 20 ns. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*. **20**(1). 30–36.
- Prayoga H, Yanti Y, & Agus R. (2018). Analisis Dinamika Molekul Protein Lysozyme Putih Telur Dengan Model Potensial Lennard-Jones Menggunakan Aplikasi Gromacs. *Jurnal Teori dan Aplikasi Fisika*. **06**(2). 239-248
- Purwanto, Hardjono S. (2016). Hubungan struktur, ikatan kimia dan aktivitas biologis obat. Dalam : Siswandono (ed). *Kimia Medisinal edisi kedua*. Airlangga University Press. Surabaya : 227-244
- Putri, Zara A. (2019). Molecular Docking Kandungan Senyawa Flavonoid Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap Xantin Oksidase Sebagai Anti Hiperurisemia. *Skripsi*. Fakultas Farmasi dan Sains, Universitas Prof Dr. Hamka. Jakarta.

- Rollando R. (2018). Pendekatan Struktur Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa 2-iminoethyl 2-(2-(1-hydroxypentan-2-yl) phenyl) acetate Hasil Isolasi Fungi Endofit Genus *Fusarium* sp pada Enzim  $\beta$ -ketoasil-ACP KasA Sintase dan Enzim Asam Mikolat Siklopropana Sintase. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. **3**(2). 45-51
- Roy GW. (2018). Pemodelan Molekul Pembentukan Liposom dengan Fosfolipid 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphatidylcholine (DPPC): Perbandingan Gromacs dan NAMD. Skripsi. 1-47
- Simanjuntak RM. 2015. Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Molekuler Kompleks  $\alpha$ -Glukosidase dengan Sepuluh Senyawa Kimia Tanaman Hasil Virtual Screening dari Basis Data Herbal. Universitas Indonesia.