

SIMULASI DOCKING KURKUMIN ENOL, BISDEMETOKSIKURKUMIN DAN ANALOGNYA SEBAGAI INHIBITOR ENZIM 12-LIPOKSIGENASE

G.Syahputra^{1*}, L.Ambarsari^{1,2}, T.Sumaryada^{2,3}

¹Departemen Biokimia, FMIPA-IPB, Jalan Agatis Kampus Dramaga Bogor 16680

²Pusat Studi Biofarmaka Institut Pertanian Bogor,
Jalan Taman Kencana No.3 Bogor 16128

³Departemen Fisika, FMIPA-IPB, Jalan Meranti Kampus Dramaga Bogor 16680

*gitasyahputra@gmail.com

ABSTRACT

Docking simulations of curcumin and its analogs have been conducted on 12-Lipoxygenase receptor enzyme. Semi-flexible docking simulation has been performed using AutoDock Vina. This research is aimed to find the most stable compounds of curcumin that bind with 12-Lipoxygenase enzyme. Ligands used in this research consist of enol curcumin, bisdemetoxycurcumin, and two analogs (analog A and B). Gibbs free energy and the type of chemical bonding and binding sites of ligand-receptor docking are some of the results discussed in this paper. All simulation results of curcumin and its analogs have shown lower binding affinity compared to arachidonate acid (natural ligand of 12-Lipoxygenase) and ibuprofen which act as competitive inhibitors. Enol curcumin has been found to have the best score of Gibbs free energy $\Delta G = -8.4$ kcal/mol. Overall curcumin and its analogs have shown potential as stable inhibitors for 12-Lipoxygenase and able to block the production of Leukotrien and 12-HETE which responsible for inflammation.

Key words: curcumin, docking simulation, 12-Lipoxygenase enzyme

ABSTRAK

Telah dilakukan simulasi docking dari kurkumin dan senyawa analognya pada enzim 12-lipoksigenase. Simulasi docking dilakukan menggunakan piranti lunak AutoDock Vina. Penelitian ini bertujuan untuk mencari ligan terbaik sebagai inhibitor dari enzim 12-lipoksigenase., Energi bebas Gibbs (ΔG) dan interaksi ikatan kimia akan dibahas dalam penelitian ini. Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin, serta senyawa modifikasi analog A dan analog B. Ligan tersebut dibandingkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) dari senyawa pembanding yaitu asam arakidonat sebagai ligan alami dan ibuprofen sebagai senyawa aktif dari obat yang diketahui dapat menghambat enzim 12-lipoksigenase. Diperoleh hasil bahwa kurkumin enol memiliki skor energi bebas terbaik yaitu sebesar -8,4 kkal/mol, lebih baik dibandingkan dengan ibuprofen dan asam arakidonat. Secara umum dapat dikatakan bahwa kurkumin dan analognya memiliki potensi yang baik untuk menjadi inhibitor pada enzim 12-

lipoksigenase dan mampu menghambat produksi leukotrien dan 12-HETE yang bertanggung jawab terhadap proses inflamasi.

Kata kunci: kurkumin, simulasi docking, enzim 12-lipoksigenase,

PENDAHULUAN

Salah satu cara tubuh untuk mempertahankan diri dari agen patologis adalah dengan melakukan tindakan inflamasi. Ciri-ciri makroskopik dari proses inflamasi yaitu, rubor (merah), tumor (bengkak), dolor (nyeri), calor (panas), dan penurunan fungsi (function laesa). Agen patologis penyebab inflamasi adalah mikroba, benda tajam, suhu, sinar-X, UV, listrik, zat kimia, dan lainnya. Inflamasi yang terjadi terus menerus akan menyebabkan berbagai penyakit hingga terjadinya proliferasi sel kanker. Terapi herbal merupakan salah satu alternatif pengobatan inflamasi. Kurkumin adalah metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan untuk terapi antiinflamasi. Kurkumin dilaporkan dapat menghambat kinerja enzim lipoksigenase (LOX) yang merupakan enzim pendegradasi asam arakidonat¹⁻⁵. Namun, efek kurkumin terhadap enzim 12-lipoksigenase belum banyak dipelajari, seperti berapa besar kekuatan ikatan senyawa kurkumin terhadap enzim tersebut (*binding affinity*), dan dimanakah lokasi ikatannya (*binding sites*) belum banyak dieksplorasi. Salah satu metoda yang dapat dilakukan untuk memprediksi hal tersebut adalah metode simulasi *docking*.

Docking adalah metode yang digunakan untuk memprediksi orientasi antara satu molekul dengan molekul yang lainnya saat terjadi interaksi elektrostatis satu sama lain untuk membentuk ikatan yang stabil⁶. Prinsip *docking* adalah teknik penempatan ligan ke dalam sisi aktif reseptor yang dilanjutkan dengan evaluasi molekul berdasarkan konformasi struktur dan sifat elektrostatis⁷. Simulasi *docking* dapat dipergunakan untuk memperoleh pengertian yang lebih baik terhadap mekanisme kerja suatu senyawa kimia atau makromolekul seperti protein maupun peptida, dalam skala molekuler sehingga dimungkinkan untuk mendesain obat berbasis struktur⁸.

Fungsi dari *docking* adalah mencakup pembuatan konformasi-konformasi ligan-protein yang disebut "posisi/pose" yang mungkin pada kantung ikatan protein. Secara umum program *docking* melakukan proses pencarian posisi dengan pola ligan yang fleksibel dan protein yang kaku. Setiap posisi dievaluasi (dinilai) berdasarkan bentuk dan karakteristik seperti elektrostatis untuk menemukan posisi yang paling disukai⁹.

Kunyit dan temulawak dilaporkan mengandung senyawa kurkuminoid yang bermanfaat untuk terapi penyembuhan berbagai macam penyakit. Temulawak diketahui mengandung turunan kurkuminoid, yaitu kurkumin dan demetoksikurkumin, sedangkan kunyit mengandung senyawa kurkumin, bisdemetoksikurkumin, dan demetoksikurkumin¹⁰. Dalam perkembangannya, kurkumin dilaporkan

juga memiliki manfaat lain sebagai antioksidan^{7,8}, antikanker^{4,5,11,12,13}, antiHIV^{14,15,16}, *hepatoprotektif* dan *neprotektif*¹⁷, dan antiinflamasi^{2,3,4,5}.

Berdasarkan analisis struktur, aktivitas farmakologi dari *kurkumin* ditentukan oleh jenis gugus fungsionalnya, seperti ikatan rangkap pada rantai tengah, gugus β -diketon, dan gugus *hidroksi fenolik*. Sebuah studi melaporkan bahwa aktifitas antiinflamasi oleh *kurkumin* terdapat pada gugus fungsi *hidroksi fenolik*¹⁸. *Kurkuminoid* diketahui memiliki kemampuan untuk menghambat enzim *12-lipoksigenase* pada trombosit manusia. *Kurkumin* dalam dosis tertentu dapat menekan pembentukan *leukotrien B4*. Hasil penelitian lainnya⁴ juga menyebutkan bahwa dosis *kurkumin* 5-10 μM berpotensi menghambat metabolisme asam arakidonat hingga 50%. *Kurkumin* dikenal memiliki tingkat kelarutan yang rendah dalam air dan memiliki tingkat bioavailabilitas yang rendah¹⁹ sehingga memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan menjadi senyawa aktif bagi penemuan obat baru.

Strategi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencari senyawa aktif *kurkumin* yang baru melalui modifikasi struktur secara *in silico* untuk memperoleh senyawa yang lebih potensial, stabil, aman, dan memiliki aktivitas yang lebih spesifik²⁰. Pendekatan secara *in silico* ini dapat menjadi langkah awal proses perancangan obat yang lebih efektif dan menguntungkan baik dari segi penghematan waktu dan biaya, sebelum dilakukan penelitian secara *in vivo* dan *in vitro*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kekuatan ikatan (binding affinity) dan lokasi pengikatan (binding sites) dari beberapa senyawa turunan *kurkumin* dan analognya terhadap enzim *12-lipoksigenase*. Beberapa parameter kestabilan yang akan diuji adalah binding affinity atau energi bebas Gibbs (ΔG), jenis ikatan kimia yang terbentuk, panjang ikatan, serta daerah pengikatan. Simulasi *docking* dilakukan secara *blind docking* (ligan bebas menghampiri reseptor di daerah manapun), target, keadaan semi *fleksibles* serta menggunakan piranti lunak AutoDock Vina.

EKSPERIMENTAL

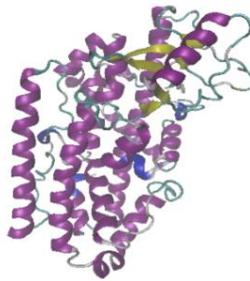
Penelitian ini dilakukan secara *in silico* alat yang digunakan berupa seperangkat peralatan komputer beserta perangkat lunak pelengkapannya. Bahan pada penelitian ini berupa struktur kimia dari reseptor dan ligan *kurkumin* yang dapat diperoleh dari website Protein Data Bank (PDB) dan PubChem²¹.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini dibagi dalam dua kelompok, yaitu piranti keras dan piranti lunak. Piranti keras yang digunakan dalam penelitian memiliki spesifikasi *Random Access Memory* (RAM) 12GB, prosesor Intel Core i7 3,3 GHz. Piranti lunak yang digunakan dalam penelitian ini adalah Marvin Sketch 6.0, AutoDock Vina, PyMol 1.3, LigPlot ++ 1.4.5.

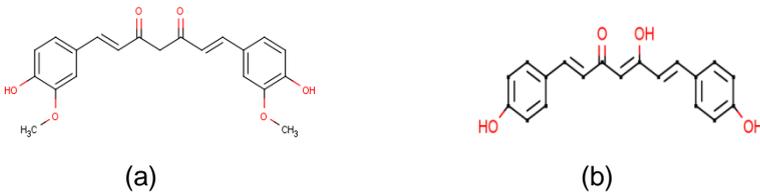
Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur molekul enzim *12-lipoksigenase*, *kurkumin enol*, *bisemetoksikurkumin*,

serta dua buah analog (analog A dan analog B). Kontrol agonis adalah substrat asam arakidonat yang berikatan secara normal dengan enzim 12-lipoksigenase, sedangkan sebagai kontrol antagonis digunakan ibuprofen..

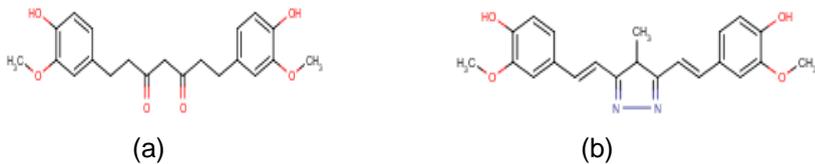
Penelitian ini secara umum dibagi dalam tiga bagian yaitu pencarian struktur reseptor dan ligan, simulasi docking, dan evaluasi hasil docking. Struktur protein target yang digunakan adalah enzim 12-lipoksigenase dapat diunduh melalui situs www.rcsb.org/pdb, adapun struktur ligan diperoleh dengan cara menggambarkan struktur 2 dimensi (2D) dan 3 dimensi (3D) menggunakan piranti lunak MarvinSketch. Data-data struktur tersebut perlu diubah dari format ekstensi.pdb ke format .pdbqt. Format .pdb pada ligan dan reseptor menunjukkan tidak adanya muatan pada molekul tersebut, sedangkan format .pdbqt menunjukkan adanya muatan parsial pada masing-masing atom.



Gambar 1 Struktur enzim 12-lipoksigenase



Gambar 2 Struktur (a) kurkumin enol (b) bisdemetoksikurkumin



Gambar 3 Struktur (a) analog A (b) analog B

Proses persiapan lain yang dilakukan sebelum dilakukan simulasi docking adalah mengidentifikasi jumlah rotatable bond untuk mengetahui fleksibilitas suatu ligan. Semakin banyak jumlah rotatable bond, maka ligan yang digunakan makin fleksibel. Proses lain adalah penentuan grid box untuk menentukan ruang rotasi ligan terhadap posisi reseptor. Penelitian ini menggunakan grid box yang besar, agar ligan dapat berotasi bebas untuk mencari tempat paling stabil pada reseptor²⁵. Data struktur molekul dan lainnya perlu disimpan dalam satu folder pada satu direktori kerja untuk memudahkan pekerjaan kita.

Setelah struktur protein target dan ligan diperoleh, maka simulasi docking siap dilakukan dengan menggunakan piranti lunak AutoDockVina. Pada penelitian ini dilakukan 10 kali docking pada tiap ligan untuk mendapatkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) terbaik..

Tahap terakhir adalah evaluasi konformasi struktur molekul hasil docking dengan menggunakan piranti lunak Ligplot⁺⁺ dan PyMol. Hasil yang didapatkan adalah interaksi antara kurkumin dengan enzim 12-lipoksigenase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reseptor dan Ligan

Protein Data Bank (PDB) adalah arsip dari data structural makromolekular biologis yang mencakup lebih dari 32.500 struktur. Data tersebut terdiri atas proyek yang menyumbangkan struktur, pengidentifikasi target, nama protein, organisme sumber, status produksi (klon, ekspresi, dan kristalisasi), referensi terkait, serta link untuk proyek terkait. Protein target dapat dicari berdasarkan nama protein, nama pengidentifikasi target, sekuens yang mirip, program, atau organism asal. Hasil yang disimpan dalam format FASTA, .txt, dan .pdb²². *MarvinSketch* merupakan aplikasi menggambar struktur kimia yang dapat menampilkan karakteristik dari struktur tersebut dengan menggunakan menu-menu yang disediakan.

Enzim 12-Lipoksigenase

Struktur dari enzim 12-lipoksigenase dapat diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB). Struktur makromolekul yang dipilih pada penelitian ini adalah dengan indeks 3D3L (*A crystal structure of lipoxigenase domain of human arachidonate 12-lipoxygenase, 12S-type (CASP Target)*). Makromolekul 3D3L adalah struktur enzim 12-lipoksigenase yang berikatan dengan Fe. Makromolekul 3D3L terdapat pada sitoplasma sel yang diteliti pada jaringan kulit manusia. Protein ini merupakan monomer dengan dua subunit, yang tiap subunitnya memiliki 663 residu asam amino. Kristal 3D3L memiliki resolusi 2,6 Å dan menempati volume sebesar 5,9 x 7,0 x 7,8 (nm³)²³.

Struktur protein 3D3L hanya digunakan salah satu subunitnya saja²³, Hal ini dikarenakan kedua subunit memiliki jumlah, urutan asam amino, sifat fisik serta asam amino pengikat ligan yang sama. Struktur protein yang diunduh dari PDB umumnya memiliki struktur protein yang

masih mengandung molekul pelarut (air), dan residu lainnya. Oleh karena itu struktur protein diedit menggunakan *Notepad⁺⁺*, dengan menghilangkan molekul ligan dan air dan diakhiri dengan menambahkan kata END. Penghilangan molekul ligan dan air digunakan untuk mendapatkan struktur sekunder makromolekul 3D3L. Hasil yang didapatkan adalah satu subunit protein 12-lipoksigenase tanpa adanya molekul ligan dan air, kemudian disimpan dalam format .pdb.

Kurkumin dan Analognya

MarvinSketch merupakan piranti lunak yang dapat digunakan untuk membuat struktur molekul ligan dalam dua atau tiga dimensi. Ligan yang dibuat sketsanya pada penelitian ini adalah kurkumin enol, bisdemetokskurkumin, analog A, analog B, ibuprofen, dan asam arakidonat. Struktur ligan dapat diketahui dari website www.ncbi.nih.gov/pubmed.

Penelitian ini menggunakan dua analog kurkumin yang telah dimodifikasi dari penelitian ilmuwan sebelumnya²⁴. Alasan penggunaan dua analog tersebut karena struktur dari kedua analog tersebut masih mempertahankan topografi dari struktur kurkumin asli, sehingga diharapkan memiliki aktivitas biologi yang sama. Penambahan gugus fungsi pada analog dengan gugus yang lebih polar memungkinkan adanya interaksi yang lebih baik terhadap residu asam amino enzim 12-lipoksigenase.

Sebelum dilakukan simulasi *docking* perlu dilakukan pengecekan sifat-sifat dari ligan yang digunakan, apakah memenuhi aturan Lipinski. Adapun aturan Lipinski tersebut adalah suatu molekul dapat dilanjutkan simulasi *docking* apabila (1) berat molekul kurang dari 500 Da (2) nilai logP kurang dari 5, (3) jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan (4) jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10²⁵.

Tabel 1. Sifat ligan berdasarkan Aturan Lipinski

Nama Struktur	Rumus Struktur	Berat Molekul	Log P	Jumlah donor ikatan H	Jumlah akseptor ikatan H
Kurkumin enol	C ₂₁ H ₂₀ O ₆	368,3799	3,76	3	6
Bisdemetoksi kurkumin	C ₁₉ H ₁₆ O ₄	308,3279	4,07	3	4
Analog A	C ₂₁ H ₂₄ O ₆	372.4117	3,96	2	6
Analog B	C ₂₂ H ₂₂ N ₂ O ₄	378.4211	4,74	2	6
Ibuprofen	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206.2808	3,84	1	2
Asam arakidonat	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304,4669	6,59	0	2

Berdasarkan data dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa kurkumin dan analognya memiliki berat molekul kurang dari 500 mg/mol, nilai donor maupun akseptor ikatan hidrogen, dan nilai log P yang memenuhi kriteria dari Aturan Lipinski.

Aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia ligan untuk menentukan karakter hidrofobik/hidrofilik suatu senyawa untuk melalui

membran sel oleh difusi pasif. Nilai log P menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak/air yang memiliki rentang -0,4 – 5. Berat molekul yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membrane sel. Semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada *lipid bilayer* dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena jika molekul tersebut tidak dapat melewati membran *lipid bilayer*. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi. Secara umum aturan Lipinski menggambarkan solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membran sel oleh difusi pasif²⁵.

Simulasi Docking

Docking merupakan metode simulasi untuk mengetahui orientasi antara ligan dengan reseptor. Proses *docking* terbagi atas dua jenis, yaitu *blind docking* dan *oriented docking*. *Blind docking* merupakan proses *docking* yang dilakukan tanpa mengetahui letak sisi aktif dari reseptor dengan tepat, sedangkan *oriented docking* merupakan proses *docking* yang dilakukan dengan telah mengetahui letak sisi aktif dari reseptor dengan tepat. Penelitian ini dilakukan dengan proses *blind docking*, karena belum mengetahui parameter *grid box* dari enzim 12-lipoksigenase. Proses *docking* yang dilakukan bersifat semi fleksibel, karena reseptor yang digunakan bersifat rigid sedangkan ligan bersifat fleksibel.

AutoDock Vina adalah salah satu piranti lunak *docking*, dirancang untuk memprediksikan bagaimana molekul-molekul kecil seperti inhibitor terikat pada reseptor dalam bentuk struktur 3D. Pada dasarnya, *AutoDock Vina* terdiri dari dua program utama, yaitu *AutoDock* yang membantu proses *docking* dari *ligand* ke sekumpulan *grids* yang mendeskripsikan protein yang dituju, *AutoGrid* yang membantu perhitungan *grids* tersebut. Hal ini dapat digunakan sebagai pedoman dalam perancangan struktur kimia agar diperoleh ikatan yang lebih baik lagi. Bahan yang telah siap dipreparasi dengan parameter *AutoGrid*, kemudian dilakukan validasi menggunakan kontrol agonis dan antagonis. Setelah itu, dilakukan *docking* dan dilakukan analisis visual dengan menggunakan beberapa piranti lunak lainnya seperti *Ligplot ++1.4.5* dan *PyMol1.3*²⁶.

Proses *docking* pada *AutoDock Vina* menggunakan algoritma *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA). Algoritma tersebut merupakan penggabungan antara algoritma *Local Search* dan *Genetic Algorithm*. Nilai energi hasil *docking* dipengaruhi oleh *search run*, yang merupakan pengulangan yang dilakukan dalam proses *docking*²⁷. Penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 10 kali dalam sekali *docking*, sehingga akan dihasilkan 10 *pose* pada ligan untuk mendapatkan energi bebas Gibbs (ΔG) terbaik.

Evaluasi Simulasi Docking

Simulasi *docking* pada penelitian ini dilakukan dalam kondisi ligan fleksibel. Kondisi fleksibel digunakan untuk penyesuaian struktur ligan yang paling stabil berinteraksi dengan reseptor. Parameter kestabilan yang diamati adalah energi bebas Gibbs (ΔG). Semakin negatif nilai ΔG menunjukkan tingkat kestabilan yang baik antara ligan dan reseptor, sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat. Tabel 2 menunjukkan energi bebas Gibbs (ΔG) hasil simulasi *docking*.

Tabel 2 Energi bebas Gibbs (ΔG) hasil *docking*

No.	Nama Senyawa	Energi Bebas Gibbs (ΔG) (kkal/mol)
1	Kurkumin enol	-8,4
2	Bisdemetoksikurkumin	-7.8
3	Analog A	-7.3
4	Analog B	-7.5
5	Ibuprofen	-7,1
6	Asam arakidonat	-7,1

Hasil simulasi *docking* yang dilakukan sebanyak 10 kali memiliki 10 pose hasil *docking* yang memiliki energi ikatan masing-masing. Adapun energi ikatan yang diambil adalah yang paling negatif karena memiliki interaksi yang kuat. Hal ini dikarenakan adanya gugus-gugus fungsi polar pada ligan seperti metil ($-\text{CH}_3$), hidroksil ($-\text{OH}$) dan amina ($-\text{NH}_3$) pada ligan kurkumin dan analognya.

Tabel 2 menunjukkan bahwa analog B memiliki kestabilan yang paling baik dibandingkan dengan analog A dilihat dari energi bebas Gibbs (ΔG). Senyawa kurkumin dan turunan alami (no. 1 dan 2) yang paling baik ditunjukkan oleh kurkumin enol dengan nilai (ΔG) sebesar -8,4 kkal/mol. Kurkumin dan analognya dilaporkan menunjukkan aktivitas antiinflamasi dengan menghambat metabolisme asam arakidonat melalui enzim lipoksigenase dan menghambat radikal bebas pada jalur enzimatik tersebut²⁸.

Semua senyawa kurkumin dan analognya dapat menghambat asam arakidonat. Hal ini ditunjukkan dengan nilai (ΔG) senyawa kurkumin dan analognya lebih kecil dari pada asam arakidonat (-7,1 kkal/mol). Data tersebut menunjukkan bahwa reseptor 12-lipoksigenase akan lebih stabil berikatan dengan senyawa kurkumin dan analognya dibanding asam arakidonat. Asam arakidonat akan menghasilkan leukotrien akibat reaksi enzimatik oleh enzim 12-lipoksigenase sehingga dapat terjadinya inflamasi. Senyawa kurkumin dan analognya dapat menghambat pembentukan leukotrien sehingga menghambat terjadinya inflamasi¹.

Ibuprofen memiliki nilai ΔG yang lebih besar dari pada senyawa kurkumin dan analognya. Hal ini menyatakan bahwa senyawa kurkumin dan analognya dapat berikatan secara lebih stabil dengan reseptor enzim 12-lipoksigenase dibandingkan dengan senyawa aktif dari obat antiinflamasi yang ada di pasaran, yaitu ibuprofen..

Ikatan Hidrogen dan Kontak Residu

Pengamatan ikatan hidrogen dilakukan menggunakan piranti lunak LigPlot ++. Meskipun ikatan yang mungkin terjadi tidak hanya ikatan hydrogen, namun karena adanya keterbatasan piranti lunak, hanya ikatan hidrogen antara ligan dan reseptor enzim 12-lipoksigenase saja yang dimunculkan.

Ikatan kimia selain ikatan hidrogen dapat terjadi akibat ligan yang fleksibel berinteraksi dengan reseptor. Interaksi dapat berupa interaksi non kovalen atau non ikatan (*non-bonded interaction*) yang terjadi antara ligan dan reseptor dapat meningkatkan afinitas ligan terhadap reseptor. Ikatan yang paling umum terjadi adalah interaksi elektrostatik dan ikatan van der Waals. Tabel 3 menunjukkan ikatan hidrogen dan interaksi asam amino

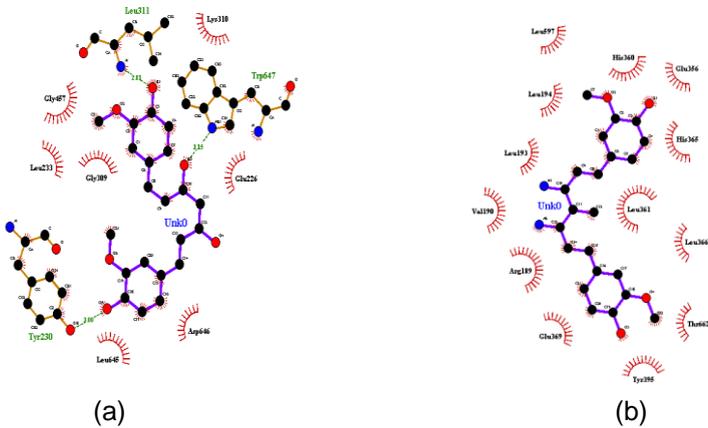
Tabel 3 dapat digambarkan ikatan hidrogen dan asam amino yang berinteraksi antara reseptor enzim 12-lipoksigenase. Semua ligan kecuali kurkumin keto, analog 1, tidak ditemukan ikatan hidrogen, kemungkinan ikatan yang terjadi adalah ikatan elektostatik atau van der Waals. Simulasi *docking* juga dapat mengetahui interaksi hidrofobik antara ligan dengan residu asam amino dari enzim 12-lipoksigenase dalam konformasi yang paling stabil (nilai ΔG kecil). Data dari residu asam amino dari enzim 12-lipoksigenasedisajikan pada Tabel 4.

Tabel 3 Ikatan hidrogen dan interaksi asam amino

Senyawa	Hasil Simulasi <i>Docking</i>	
	Jarak ikatan (Å)	Asam amino dan gugus fungsi yang berikatan
Kurkumin enol	3.17	Arg (189) N-O
	3.08	Arg (189) N-O
Bisdemetoksikurkumin	3.00	Trp (647) O-N
	2.89	Tyr (230) OH-O
	3,07	Leu (311) O-N
Analog A	2,81	Leu (311) O-N
	3.15	Trp (647) O-N
	3.00	Tyr (230) O-O
Analog B	-	-
Ibuprofen	3.00	Leu (311) O-N
Asam arakidonat	3,18	Leu (311) O-N

Tabel 4 Kontak residu asam amino

No.	Nama Senyawa	Residu Asam Amino pada Jarak 5 Å
1	Kurkumin enol	Cys (559), Ile (593), Gln (590), Ser (594), Glu (356), His (360), His (365), Leu (361), Arg (189), Val (190), Leu (597), Phe (352)
2	Bisdemetoksikurkumin	Leu (311), Lys (310), Gly (457), Asn (308), Tyr (230), Leu (645), Leu (459), Trp (647), Glu (226)
3	Analog A	Leu (311), Lys (310), Trp (647), Glu (226), Asp (646), Leu (645), Tyr (230), Gly (309), Leu (233), Gly (457)
4	Analog B	Leu (597), His (360), Glu (356), His (365), Leu (361), Leu (366), Thr (662), Tyr (395), Glu (369), Arg (189), Val (190), Leu (193), Leu (194), Leu (597)
5	Ibuprofen	Trp (647), Leu (227), Tyr (230), Leu (233), Gly (309), Leu (311), Lys (310), Glu (226)
6	Asam arakidonat	Gly (309), Leu (311), Lys (310), Trp (647), Leu (645), Glu (226), Tyr (230), Leu (227), Leu (233)



Gambar 4 Konformasi enzim 12-lipoksigenase dengan (a) analog A (b) analog B

Pengamatan kontak residu bertujuan untuk mengetahui interaksi selain ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan dan protein target. Residu yang membuat kontak dengan ligan memiliki interaksi non-ikatan antara ligan dan protein target yang akan meningkatkan afinitas dan aktivitas inhibisi terhadap enzim 12-lipoksigenase. Interaksi non-ikatan yang umumnya terjadi adalah interaksi elektrostatis dan interaksi van der Waals. Pada gambar 4 ditunjukkan beberapa visualisasi dua dimensi dari kontak residu asam amino enzim 12-lipoksigenase dengan ligan kurkumin dan analognya.

Berdasarkan visualisasi hasil *docking*, residu asam amino dari enzim 12-lipoksigenase yang memiliki interaksi paling banyak dengan ligan yaitu Leu (311), Lys (310), Trp (647), Glu (226), Leu (233).

Penelitian melaporkan bahwa lipoksigenase dapat mengikat ion besi dengan residu His (360), His (365), His (453), His (450) yang merupakan residu aktif enzim tersebut²⁹. Data yang dihimpun dari *www.uniprot.org* juga menyebutkan bahwa residu His (360), His (365), His (540), Asn (544), dan Ile (663) merupakan residu sisi aktif enzim 12-lipoksigenase yang berfungsi sebagai pengkhelat unsur besi (Fe).

Lokasi konformasi stabil dari bisdemetoksi kurkumin, analog A, ibuprofen sama dengan asam arakidonat. Hal ini menandakan bahwa bisdemetoksi kurkumin, analog A dan ibuprofen merupakan inhibitor kompetitif.

Lokasi konformasi stabil dari kurkumin enol dan analog B berbeda dengan asam arakidonat. Hal ini menandakan bahwa jenis inhibitor kurkumin enol dan analog B adalah inhibitor non kompetitif

SIMPULAN

Analog B memiliki kestabilan yang paling baik dibandingkan dengan analog A dilihat dari energi bebas Gibbs (ΔG). Senyawa kurkumin dan turunan alami yang paling baik ditunjukkan oleh kurkumin enol dengan nilai ΔG sebesar -8,4 kkal/mol. Ibuprofen memiliki nilai ΔG yang lebih besar dari pada senyawa kurkumin dan analognya. Artinya, senyawa kurkumin dan analognya memiliki potensi sebagai antiinflamasi, dan dapat digunakan sebagai alternatif terapi herbal. Jenis inhibitor dari bisdemetoksikurkumin, analog A dan ibuprofen adalah inhibitor kompetitif. Sedangkan kurkumin enol dan analog B adalah jenis inhibitor kompetitif. Baik senyawa kurkumin maupun analognya, semua menunjukkan potensi yang baik dalam menghambat enzim 12-lipoksigenase dan menghambat produksi dari leukotrien dan 12-HETE yang bertanggung jawab terhadap inflamasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Para penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sangat tinggi kepada Direktorat Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia atas dukungan dana penelitian yang diperoleh melalui skema penelitian BOPTN dengan nomor kontrak 237/IT3.41.2/L2/SPK/2013 kode 2013.089.521219

DAFTAR PUSTAKA

1. Wong, Benjamin C.Y., Wang, Wei Ping., Cho, Chi Hin., Fan, Xiao Ming., Lin, Chia Mi., Kung, Hsiang Fu., Lam, Shiu Kum. 2001. 12-Lipoxygenase inhibitor induced apoptosis in human gastric cancer cell. *Carcinogenesis*, 22, 1349-1354
2. Jankun, E.S., McCabe N.P., Selman. S.H., Jankun. J. 2000. Curcumin inhibits lipoxygenase by binding to its central cavity:

- theoretical and X-ray evidence. *International Journal of Molecular Medicine* 6, 521-526
3. Jankun, Jerzy., Aleem, A.M., Malgorzewicz, Sylvia., Szkudlarek, M., Zavodszky, M.I., DeWitt, L.D., Feig, M., Selman, S.H., Jankun, E.S. 2006. Synthetic curcuminoids modulate the arachidonic acid metabolism of human platelet 12-lipoxygenase and reduce sprout formation of human endothelial cells. *Mol Cancer Ther* 5, 1371-1382
 4. Huang, M.T., Ma, W., Lou, Y.R., Lu, Y.P., Chang, R., Newmark, L.N., and Conney, A.H. 1995. Inhibitory Effect of Curcumin on Tumorigenesis in Mice, Proceeding International Symposium on Curcumin Pharmacochimistry, 29-31 August 1995, Yogyakarta, Indonesia
 5. Aggarwal BB, Kumar A, Bharti AC. 2008. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 23, 363–98.
 6. Lengauer T, Rarey M. 1996. Computational methods for biomolecular docking. *Curr OpinStruct Biol.* Jun;6(3):402-6. Review. PubMed PMID: 8804827.
 7. Kroemer, R.T. 2003. Molecular modelling probes: docking and scoring, *Biochemical Transactions.* 31, 980-984
 8. Ali, H. I. et al., 2007. Antitumor studies. Part 3: Design, synthesis, antitumor activity, and molecular docking study of novel 2-methylthio-2-amino and 2-(N-substituted amino)-10-alkyl-2-deoxy-5-deazaflavins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*
 9. Okimoto, N., Futasugi, N., Fuji, H., Suenaga, A., Morimoto, G., et.al. 2009. High Performance Drug Discovery: Computational Screening by Combining Docking and Molecular Dynamics Simulation, *PLoS Computational Biology.* Vol 10. 1-13
 10. Kertia, N dan Sudarsono, 2005, Prospek Manfaat Rimpang Temoe Lawak bagi Kesehatan, Seminar Nasional Obat Tradisional, Dies Fakultas Farmasi UGM tanggal 25 September 2005 di Yogyakarta.
 11. Shisodia, S., Chaturvedi, M.M., Aggarwal B.B. 2007. Role of Curcumin: The Indian Solid Gold. *Adv Exp Med Biol*, 595, 1-7
 12. Kunnumakkara, A.B (a)., Anand, P., Aggarwal, B.B. 2008. Curcumin Inhibits Proliferation, Invasion, Angiogenesis and Metastasis of Different Cancers Through Interaction with Multiple Cell Signaling Proteins
 13. Kunnumakkara, A.B (b)., Diagaradjane, P., Guha, S., Deorukhar A., Shentu, S., Aggrawal, B.B., et.al. 2008. Curcumin Sensitizes Human Colorectal Cancer Xenografts in Nude Mice to Gamma-Radiation by Targeting Nuclear Factor-kappaB-Regulated Gene Products. *Clin Cancer Res.* 14. 2128-36
 14. Mazumder, A., N. Neamati, S. Sunder, J. Schultz, H. Pertz, E. Eich, and Y. Pommier. 1997. Curcumin analogs with altered potencies against HIV-1 integrase as probes for biochemical mechanisms of drug action. *Journal of Medicinal Chemistry* 40, 3057-3063

15. Majeed M., Badmaev V., Shivakumar U, and Rajendran R. 1995. Curcuminoids-Antioxidant Phytonutrients. Nutriscience Publishers, Inc., Piscataway, New Jersey
16. Barthelemy, S., L. Vergnes, M. Moynier, D. Guyot, Labidalle, and E. Bahraoui. 1998. Curcumin and curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. *Research in Virology* 149, 43-52
17. Goel A., Kunnumakkara A.B, Aggarwal, B.B. 2008. Curcumin as "Curecumin": From Kitchen to Clinic. *Biochem Pharmacol.* 75: 787-809
18. Mukhopadhyay, A., N. Basu, N. Ghatak and P.K. Gujral, 1982. Antiinflammatory and irritant activities of curcumin analogues in rats. *Agents Actions*, 12, 508-515.
19. Anand, P., Sherin, G., Thomas, Ajikumar B, *et.al.* 2008. Biological activities of curcumin and it's a analogues (congeners) made by man and mother nature. *Biochemical Pharmacology*, 76, 1590-1611
20. Ritmaleni dan S. Ari. 2010. Sintesis tetrahidro pentagamavunon-0. *Majalah Farmasi Indonesia* 21(2). 100-105.
21. Berman, H.M, Westbrook, J., Feng, Z, Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shidyyalov, I.N., Bourne, P.E. 2000. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research Vol* 28, 235-242
22. Kouranov, A., Xie, L., Cruz, Ia, J.d., Chen, L., Westbrook, J., *et al.* 2006. The RSCB PDB Information Portal for Structural Genomic, *Nucleic Acid Research*, 34. 302-305
23. Tresaugues, *et.al* 2008. The 2.6 Å Crystal structure of the lipoyxygenase domain of human arachidonate 12-lipoyxygenase, 12S-type (CASP Target). PDB. PubMED
24. Ohtsu, H., Xiao, Z, Ishida, J., *et.al.* 2002. Curcumin Analogues as Novel Androgen Receptor Antagonists with Potential as Anti-Prostate Cancer Agents. *J.Med Chem*, 45, 5037-5042
25. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 23 (1± 3), 3 ±25
26. Lindstrom, W., Morris, G.M., Weber, C., Huey, R. 2008. Using AutoDock 4 for Virtual Screening. La Jolla
27. Samira. 2009. Karya Sarjana Utama Kimia: Perancangan Peptida Siklis sebagai Inhibitor Potensial untuk Enzim NS3-NS2B Protease Virus Dengue secara In Silico Melalui Molecular *Docking*. Departemen Kimia FMIPA-UI
28. Huang M.T, Lysz T, Ferraro T. 1991. Inhibitory effects of curcumin on in vitro lipoyxygenase and cyclooxygenase activities in mouse epidermis. *Cancer Res.* 51, 813-819.
29. Steczko J, Donoho GP, Clemens JC, Dixon JE, Axelrod B. 1992. Conserved histidine residues in soybean lipoyxygenase: functional consequences of their replacement. *Biochemistry* 31. 4053-4057