

Potensi Brazilein dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Sebagai Agen Depigmentasi Kulit Secara *In Silico*

Nugraha, I. P. W.¹, I. W. Suwartawan¹, P. A. A. Prayoga¹, N. P. L. Laksmiani¹, I. G. P. Putra¹, N. K. S. Ani¹

¹Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

*Penulis korespondensi: lindalaksmani@gmail.com

Received June 2, 2018; Accepted July 2, 2018

ABSTRAK

Hiperpigmentasi dan penggelapan kulit terjadi akibat sintesis melanin yang berlebihan yang disebabkan karena peningkatan aktivitas dari enzim tirosinase. Brazilein merupakan kandungan senyawa mayor yang terdapat dalam kayu secang (*Caesalpinia Sappan* L.) yang secara empiris mampu mencerahkan kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari brazilein sebagai agen depigmentasi kulit terhadap protein target enzim tirosinase secara *in silico* dibandingkan dengan hidrokuinon dan asam askorbat.

Tahapan penelitian ini meliputi optimasi struktur brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat 3D dengan menggunakan program Hyperchem 8, Preparasi protein target dengan menggunakan program Chimera 1.10.1, dan validasi metode *molecular docking* serta *docking* brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat pada protein target menggunakan Autodock 4.2.

Hasil pengujian *molecular docking* adalah energi ikatan. Analisis data dilakukan dengan membandingkan energi ikatan hasil *docking* brazilein pada protein target dengan hasil *docking* antara hidrokuinon dan asam askorbat dengan protein target. Nilai energi ikatan brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat dengan protein target enzim tirosinase berturut-turut adalah -6,70 kkal/mol, -3,78 kkal/mol dan -3,84 kkal/mol. Nilai energi ikatan brazilein lebih rendah dibandingkan hidrokuinon dan asam askorbat pada protein target. Semakin rendah energi ikatan ligan dengan protein target, maka semakin kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dengan protein target dan begitu juga afinitas dari ligan terhadap protein target yang berbanding lurus dengan kekuatan dan kestabilan ikatan tersebut. Perbandingan nilai energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi lebih besar sebagai agen depigmentasi kulit dibandingkan dengan hidrokuinon dan asam askorbat dengan mekanisme menghambat enzim tirosinase secara *in silico* dengan metode *molecular docking*.

Kata Kunci: brazilein, *in silico*, depigmentasi, *molecular docking*, hidrokuinon, asam askorbat

ABSTRACT

Hyperpigmentation and skin darkened occur due to oversynthesis of melanin as result of increased activity of tyrosinase enzyme. Brazilein is the major content which found in kayu secang (*Caesalpinia Sappan* L.) which is empirically able to brighten the skin. The aim of this study was to determine the potential of brazilein as a skin depigmentation agent against protein target tyrosinase enzyme with a *in silico* test compared with hydroquinone and ascorbic acid.

The stages of this study were optimization of brazilein, hydroquinone and ascorbic acid 3D structure using Hyperchem 8, Preparation of protein targets using Chimera 1.10.1, validation of *molecular docking* and *Docking* of brazilein, hydroquinone and ascorbic acid on protein target using Autodock 4.2.

The result of *molecular docking* was bond energy. Analysis was done by comparing the results of *docking* brazilein on protein targets with result of *docking* hydroquinone and ascorbic acid on protein target. The bond energy values between brazilein, hydroquinone and ascorbic acid on protein target respectively -6,70, -3,78 and -3,84 kcal/mol. The value of brazilein bond energy was less than hydroquinone and ascorbic acid in the protein target. The lower of ligand bonding energy with the protein target, then the stronger of bond formed between ligand with the protein target and the affinity of the ligand against protein target was directly proportional to the strength and stability of the bond.

This comparison of bond energy values indicates that brazilein has a greater potential as a skin depigmentation agent compared with hydroquinone and ascorbic acid with a mechanism of inhibiting tyrosinase enzyme with *in silico* test by molecular docking method

Keyword: brazilein, *in silico*, depigmentation, hydroquinone and ascorbic acid

1. Pendahuluan

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh yang berfungsi untuk pertahanan terhadap bakteri, virus dan agen toksik lainnya terutama paparan UV. Pembentukan melanin pada kulit merupakan suatu upaya alami dari tubuh kita untuk perlindungan kulit dari efek buruk radiasi ultraviolet (Djuanda, 2007). Namun kadar melanin yang berlebihan akan menyebabkan kulit menjadi gelap yang akan menimbulkan masalah bagi semua orang terutama wanita.

Kulit gelap menyebabkan seseorang menjadi kurang percaya diri terhadap penampilannya, karena menganggap bahwa kulit yang cerah merupakan dasar dari penampilan seseorang. Sehingga untuk memaksimalkan penampilan tersebut, berbagai cara dilakukan terutama untuk memutihkan kulit, salah satunya dengan menghambat proses pembentukan melanin. Penghambatan pembentukan melanin pada kulit dapat dilakukan salah satunya dengan menghambat aktivitas tirosinase (Lloyd *et al.*, 2011).

Tirosinase berperan sebagai katalis pada dua reaksi yang berbeda yaitu proses hidroksilasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA quinon (Fais *et al.*, 2009). Tirosinase pada jaringan kulit diaktivasi oleh radiasi sinar UV matahari sehingga mempercepat produksi melanin. Penghambatan pada aktivitas tirosinase memberikan efek yang menguntungkan terutama pada kalangan wanita muda karena penghambatan tirosinase akan meningkatkan kecerahan kulit dengan mengurangi efek penggelapan kulit (depigmentasi) (Ebanks *et al.*, 2009).

Saat ini, banyak beredar produk pemutih kulit di pasaran dengan berbagai bahan aktif. Bahan pemutih kulit yang dapat digunakan untuk menghambat tirosinase adalah hidrokuinon, arbutin, merkuri dan asam kojat. Dari beberapa penelitian tentang kosmetik menunjukkan bahwa banyak bahan pemutih kulit tersebut tidak aman dan menimbulkan efek samping bagi kulit.

Pemakaian hidrokuinon, asam azelaik dan asam kojat yang umum digunakan dalam produk pemutih kulit pada jangka panjang dapat menyebabkan iritasi, alergi akut, dermatitis, rasa terbakar pada kulit bahkan kanker kulit. Sehingga perlu dilakukan pengembangan senyawa pemutih kulit yang lebih aman dengan efek samping kecil diantaranya penggunaan pemutih kulit dari bahan alam (Kim dan Uyama, 2005).

Berdasarkan data secara empiris menunjukkan bahwa kayu secang sering dimanfaatkan untuk perawatan kulit dengan cara berendam atau dilulurkan. Kayu secang ini terbukti secara empiris mampu menghaluskan kulit (Nala, 1995) sehingga kemungkinan juga dapat digunakan sebagai pencerah atau pemutih kulit. Kandungan utama dari kayu secang ini adalah brazilein, dimana zat inilah yang diduga mampu memberikan efek menghaluskan atau mencerahkan kulit. Sehingga untuk mengetahui aktivitas brazilein sebagai pemutih kulit, perlu dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan *molecular docking* yang merupakan bagian dari kimia komputasi. Kimia komputasi ini memiliki keunggulan aman, bebas dari limbah bahan kimia, mudah, hemat biaya dan dapat mempersingkat waktu penelitian (Makheswari, 2012).

Untuk mengetahui potensi aktivitas depigmentasi brazilein, perlu juga dilakukan perbandingan menggunakan bahan pemutih kulit yang telah terbukti secara ilmiah seperti hidrokuinon dan asam askorbat yang berasal dari alam untuk mengetahui bagaimana potensi dari brazilein sebagai pemutih kulit. Teknik *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi afinitas dari senyawa aktif terhadap protein target, sehingga aktivitasnya dapat diprediksi. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui potensi dan mekanisme dari brazilein sebagai agen depigmentasi kulit secara *in silico*.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Bahan

Struktur 3 dimensi enzim tirosinase (PDB ID: 2Y9X) yang diunduh dari <http://www.rcsb.org/pdb/home.do>. Kemudian struktur 3 dimensi dari brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat yang akan digunakan diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>.

2.2. Alat

Seperangkat komputer dengan spesifikasi *Windows 8 64 bit* dan program Autodock 4.2, Open Babel, Chimera 1.10.1, dan HyperChem 8

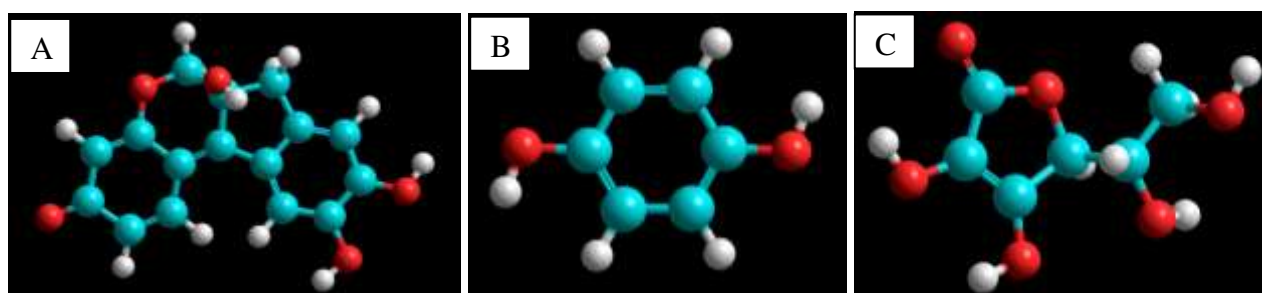
2.3. Metode Penelitian

2.3.1. Preparasi Enzim Tirosinase

Proses preparasi enzim tirosinase dengan menggunakan *software* Chimera 1.10.1 sehingga protein akan terpisah dengan ligananya..

2.3.2. Validasi Metode Docking Molecular

Validasi metode *docking molecular* dilakukan dengan men-*docking*-kan kembali *Native ligand* pada enzim yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya menggunakan program Autodock 4.2. Hasil analisis menunjukkan senyawa dengan konformasi yang memiliki energi ikatan terendah untuk berikatan dengan protein target. Jika nilai *Root mean square distances* (RMSD) $\leq 3 \text{ \AA}$, protokol diterima dan *docking* senyawa uji pada enzim target dapat dilakukan (Jain dan Nicholls, 2008).



Gambar 1. Hasil Optimasi Struktur 3 Dimensi Senyawa Brazilein (A), Hidrokuinon (B) dan Asam Askorbat (C)

2.3.3. Optimasi Brazilein, Hidrokuinon dan Asam Askorbat 3D

Struktur 3 dimensi senyawa uji brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat yang telah diunduh dioptimasi dengan menggunakan bantuan program HyperChem 8. Optimasi dilakukan pada struktur 3 dimensi senyawa brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat lengkap dengan atom hidrogennya, metode komputasi semi-empiris AM1, dan kalkulasi dengan *single point* serta geometri optimisasi.

2.3.4. Docking Brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat pada Enzim Tirosinase

Senyawa uji brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat hasil optimasi selanjutnya di-*docking*-kan pada protein yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya menggunakan program Autodock 4.2. Hasil analisis akan menunjukkan konformasi energi ikatan terendah untuk berikatan dengan protein target.

2.3.5. Analisis Data

Hasil *docking molecular* adalah energi ikatan. Nilai energi ikatan menunjukkan kekuatan ikatan

antara senyawa dan reseptor. Semakin rendah harga energi ikatan, maka ikatannya semakin kuat dan stabil. Jika energi ikatan antara brazilein dengan enzim tirosinase lebih rendah, dibandingkan dengan energi ikatan hidrokuinon dengan enzim tirosinase dan asam askorbat dengan enzim tirosinase, maka potensi brazilein sebagai agen pemutih kulit semakin besar, karena semakin rendah energi ikatan maka makin kuat interaksi yang terjadi antara brazilein dengan tirosinase, sehingga brazilein yang ada dalam tanaman kayu secang berpotensi lebih besar sebagai penghambat enzim tirosinase dibandingkan hidrokuinon dan asam askorbat

3. HASIL

3.1. Optimasi Struktur 3 Dimensi Brazilein, Hidrokuinon dan Asam Askorbat

Optimasi struktur yang telah diunduh dilakukan dengan menggunakan program Hyperchem 8. Hasil dari optimasi struktur brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat ditunjukkan pada gambar 1

3.2. Preparasi Enzim Tirosinase

Preparasi dilakukan dengan menggunakan program Chimera 1.10.1 sehingga dihasilkan struktur enzim tirosinase tanpa *native ligand*-nya dan struktur *native ligand* yang terpisah seperti gambar 2.

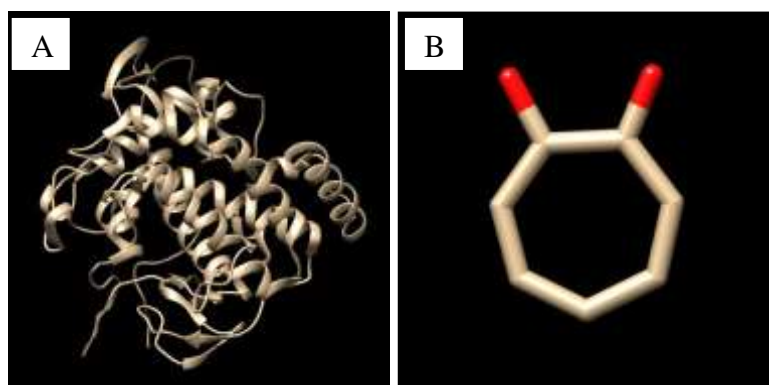
3.3. Validasi Metode

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan *redocking native ligand* pada enzim tirosinase tanpa *native ligand* dengan menggunakan Autodock 4.2. Hasil dan visualisasi interaksi validasi metode

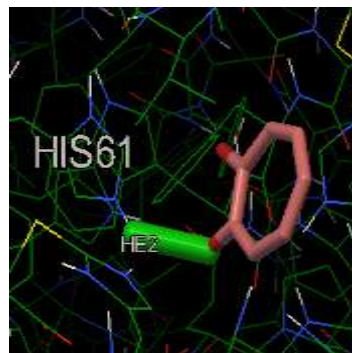
molecular docking dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 3.

Tabel 1. Hasil Validasi Metode *Molecular Docking*

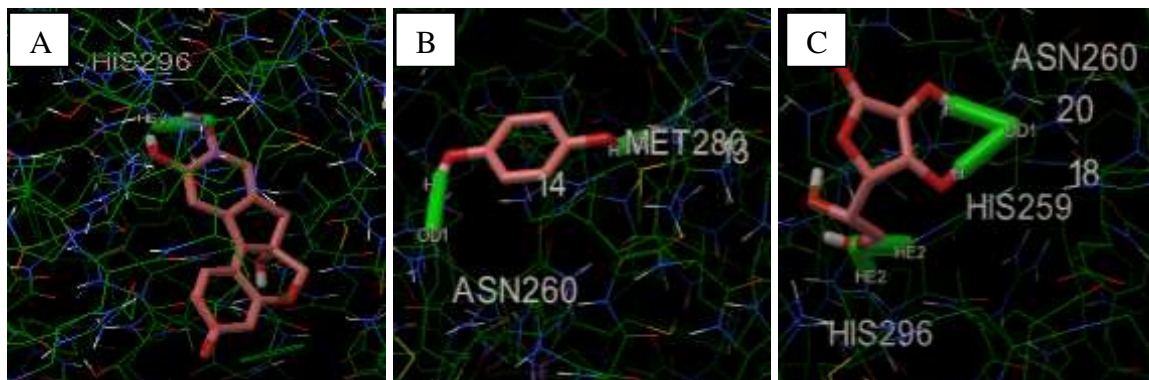
Ligan	Energi Ikatan (Kkal/mol)	RMSD (Å)	Ikatan Hidrogen
<i>Native Ligand</i>	-4,79	2,03	HIS61



Gambar 2. Struktur Enzim Tirosinase tanpa *native ligand* (A) dan *native ligand* (B)



Gambar 3. Visualisasi interaksi antara *native ligand* dengan enzim tirosinase



Gambar 4. Visualisasi Interaksi dengan enzim tirosinase dengan brazilein (A), hidrokuion (B) dan asam askorbat (C).

3.4. Docking Brazilein, Hidrokuinon dan Asam Askorbat pada Enzim Tirosinase

Senyawa brazilein, hidrokuion dan asam askorbat yang telah teroptimasi di-docking-kan pada enzim tirosinase tanpa *native ligand* dengan menggunakan Autodock 4.2 pada kordinat yang sama dan telah tervalidasi pada saat validasi metode. Perbandingan hasil dan visualisasi interaksi *docking* yang terjadi antara brazilein, hidrokuion dan asam askorbat dengan enzim tirosinase dapat dilihat pada tabel 2 dan gambar 4.

4. PEMBAHASAN

Optimasi struktur 3D senyawa dilakukan dengan metode kalkulasi *single point* dan *geometry optimization* untuk mendapatkan struktur dengan total energi terendah. Proses kalkulasi *single point* brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat menghasilkan energi total untuk masing-masing struktur 3D berturut-turut yakni -3764,78 kkal/mol, -1520,83 kkal/mol dan -2026,32 kkal/mol. Proses optimasi struktur 3D brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat menghasilka

Tabel 2. Hasil *Docking* antara brazilein, hidrokuion dan asam askorbat dengan enzim tirosinase

Ligan	Energi Ikatan (Kkal/mol)	RMSD (Å)	Ikatan Hidrogen
Hidrokuinon	-3,78	52,27	MET280
			ASN260
Asam Askorbat	-3,84	50,17	ASN260
			HIS296
			HIS259
Brazilein	-6,70	51,52	ASN260
			HIS296

energi total untuk masing-masing struktur 3D berturut-turut yakni -3773,21 kkal/mol, -1522,94 kkal/mol dan -2036,36 kkal/mol. Dalam proses optimasi geometri ini, energi total diminimalisasi untuk mendapatkan struktur yang paling stabil (Fitriasari dkk., 2008).

Proses pemisahan protein target enzim tirosinase dengan *native ligand* berhasil dilakukan yang menghasilkan file struktur protein target yang terpisah dengan *native ligand* dan *native ligand* dalam format .pdb. Pada proses validasi metode *docking molecular*, diperoleh 10 konformasi dan dipilih satu konformasi dengan nilai RMSD terendah.

RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang diprediksi atau merupakan nilai penyimpangan antara satu konformasi ligan yang tertambat pada protein dibandingkan dengan situs yang berikatan *native ligand* pada protein. semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi

semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native* (Nauli, 2014). Hasil validasi metode *molecular docking* menunjukkan bahwa nilai $RMSD \leq 3 \text{ \AA}$ yang menyatakan bahwa metode yang digunakan telah memenuhi syarat penggunaannya (Jain dan Nicholls, 2008).

Pengujian *in silico* dilakukan dengan men-docking-kan masing-masing struktur 3D brazilein, hidrokuinon dan asam askorbat yang telah teroptimasi pada protein target enzim tirosinase tanpa ligan dengan metode yang telah tervalidasi secara bergantian. Hasil *docking* tersebut ditunjukkan pada tabel 2. Masing-masing *docking* menghasilkan 10 konformasi, kemudian dipilih satu konformasi dengan energi ikatan terendah yang merupakan konformasi dengan ikatan yang paling stabil. Potensi afinitas dari senyawa uji dapat diketahui dengan membandingkan nilai energi ikatan senyawa dengan *native ligand* pada protein target (Laksmiani *et al.*, 2016). Nilai energi ikatan yang diperoleh dari hasil *docking* protein target dengan *native ligand*, hidrokuinon, asam askorbat dan brazilein kemudian dibandingkan

untuk mengetahui potensi brazilein sebagai *skin whitening agent* melalui mekanisme penghambatan enzim tirosinase.

Tabel 1 dan tabel 2 menunjukkan bahwa senyawa brazilein dalam kayu secang memiliki nilai energi ikatan yang lebih rendah daripada *native ligand*, hidrokuinon dan asam askorbat pada protein target enzim tirosinase. Semakin rendah energi ikatan ligan dengan protein target, maka semakin kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dengan protein target (Laksmiani *et al.*, 2016). begitu juga afinitas dari ligan terhadap protein target yang berbanding lurus dengan kekuatan dan kestabilan ikatan tersebut. Perbandingan nilai

energi ikatan pada table 2 menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi lebih besar sebagai agen depigmentasi kulit dibandingkan dengan hidrokuinon dan asam askorbat dengan mekanisme menghambat enzim tirosinase secara *in silico* dengan metode *molecular docking*.

5. KESIMPULAN

Brazilein memiliki potensi sebagai agen depigmentasi yang lebih besar dibandingkan dengan hidrokuinon dan asam askorbat dengan menghambat aktivitas dari protein target enzim tirosinase secara *in silico*

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen-dosen, keluarga penulis, teman-teman dan semua pihak yang telah sangat membantu dalam penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Djuanda, A. 2007. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Edisi kelima. Jakarta: Balai Penerbit FKUI
- Ebanks, J. P., R. R. Wickett, and R. E. Boissy. 2009. Mechanisms Regulating Skin Pigmentation: The Rise and Fall of Complexion Coloration. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol.10: 4066-4087.
- Fais, A., M. Corda, B. Era, M. B. Fadda, M. J. Matos, E. Quezada, L. Santana, C. Picciau, G. Podda, and G. Delogu. 2009. Tyrosinase Inhibitor Activity of Coumarin-Resveratrol Hybrids. *Molecules*. Vol.14: 2514-2520.
- Fitriasari, A., N. K. Wijayanti, N. Ismiyati, D. Dewi, W. Kundarto, B. S. A. Sudarmanto dan E. Meiyanto. 2008. Studi Potensi Kurkumin dan Analognya sebagai Selective Estrogen Receptor Modulator (SERMs): Docking pada Reseptor Estrogen β . *Pharmakon*. Vol.9(1): 1-6
- Jain, A. J., dan A. Nicholls. 2008. Recommendations for evaluational methods. *J. Comput. Aided Mol.* Vol.22: 133-139
- Kim, Y. J., and H. Uyama. 2005. Tyrosinase Inhibitors from Natural and Synthetic Sources: Structure, Inhibition Mechanism and Perspective for The Future. *Cellular and Molecular Life Sciences*. Vol. 62(15): 1707–1723
- Laksmiani, N. P. L., N. L. P. V. Paramita, and I. M. A. G. Wirasuta. 2016. In Vitro and In Silico Antioxidant Activity of Purified Fractions from Purple Sweet Potato Ethanolic Extract. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol.8(8): 177-181
- Lloyd, H. W., N. Jenna, and B. A. Kammer. (2011). Treatment of Hyperpigmentation. *Semin Cutan Med Surg*. Vol.30: 171-175
- Makheswari, U. and Sudarsanam D. 2012. A Review on Bio Informatics for Diabetic Mellitus. *International Journal of Pharma Sciences and Research*. Vol.3(6): 1-6
- Nala, S. 1995. *Usadha Bali*. Denpasar: Usadha
- Nauli, T. 2014. Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus Niger* dengan *Docking* Ligan. *JKTI*. Vol.16(2): 1-6