

**Aktivitas Antihiperlipidemia Andrografolid dari Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness) secara *In Silico***Susanti, N. M. P.¹, Warditiani, N. K.¹, Dewi, K. A. S.¹, Oka, M.¹¹Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Korespondensi: Ni Made Pitri Susanti

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

Jalan Kampus Unud-Jimbaran, Jimbaran-Bali, Indonesia 80361 Telp/Fax: 0361-703837

Email: dekpitsusanti@unud.ac.id

ABSTRAK

Andrografolid merupakan kandungan utama yang terdapat dalam sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Ness). Andrografolid memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia. Hiperlipidemia merupakan abnormalitas yang terjadi pada komponen lemak plasma dapat berupa peningkatan kadar kolesterol, trigliserida, LDL atau penurunan HDL. Enzim HMG-CoA Reduktase merupakan enzim yang berperan dalam proses pembentukan kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas andrografolid sebagai antihiperlipidemia dengan berikatan pada enzim HMG-CoA Reduktase sehingga sintesis kolesterol akan terhambat. *Docking molecular* merupakan suatu metode *in silico* yang digunakan untuk mengetahui aktivitas *molecular* suatu senyawa. Tahapan dalam penelitian ini meliputi penyiapan database protein dan struktur 3 dimensi andrografolid, optimasi struktur 3 dimensi andrografolid, preparasi protein HMG-CoA Reduktase (3CCW), validasi metode *docking* dan *docking molecular* andrografolid pada protein target, analisis afinitas ikatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa andrografolid memiliki aktivitas sebagai antihiperlipidemia melalui pembentukan ikatan hidrogen dengan asam amino SER684 dan LYS 691 pada enzim HMG-CoA reduktase dengan energi sebesar -3,63 kkal/mol, serta memiliki energi yang lebih rendah dibandingkan energi yang dibentuk oleh *native ligand* yaitu -1,02 kkal/mol.

Keyword : sambiloto, andrografolid, antihiperlipidemia, HMG-CoA Reduktase, *docking molecular*

1. PENDAHULUAN

Andrografolid merupakan komponen utama pada tanaman sambiloto yang dapat ditemukan pada semua bagian tanaman sambiloto. Bagian daun sambiloto memiliki kandungan senyawa andrografolid paling tinggi yaitu 2,5-4,8% dihitung terhadap berat keringnya (Prapanza dan Marito, 2003). Andrografolid memiliki beberapa aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antihiperlipidemia, analgesik, antidiabetes, hepatoprotektif, antipiretik, antioksidan, antihiperlikemik, antihelmintik, antikanker (Dhiman *et al.*, 2012; Nugroho *et al.*, 2012).

Hiperlipidemia merupakan abnormalitas komponen lemak dalam plasma berupa peningkatan kadar kolesterol, LDL dan trigliserida serta dapat berupa penurunan

jumlah HDL (DiPiro *et al.*, 2008). Enzim HMG-CoA reduktase yang berfungsi untuk mengubah HMG-CoA menjadi asam mevalonat yang selanjutnya menjadi kolesterol. Penghambatan enzim HMG-CoA reduktase dapat mengurangi sintesis kolesterol dalam hati, sehingga akan terjadi peningkatan jumlah reseptor LDL, LDL masuk ke hati kemudian diekskresi melalui empedu dan kadar LDL dalam plasma menurun (NCEP, 2002).

Docking molecular mampu memperkirakan konformasi ikatan yang paling baik antara *ligand* dengan protein (Morris and Marguerita, 2008). Metode *docking molecular* dapat digunakan sebagai pengujian awal untuk mengetahui aktivitas

dari suatu senyawa karena dapat memberikan gambaran mengenai proses atau mekanisme yang terjadi antara protein target dengan senyawa (*ligand*). Sehingga dilakukan suatu penelitian *in silico* untuk mengetahui aktivitas andrografolid sebagai antihiperlipidemia melalui proses *docking molecular*.

2. BAHAN DAN METODE

2.1 Bahan

Struktur 3D enzim HMG-CoA Reduktase (3CCW) yang diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) dan struktur 3D Andrografolid sari sambiloto

2.2 Alat

Komputer dengan perangkat lunak Chimera 1.10., HyperChem 8, Avogadro dan Autodock 4.2.

2.3 Prosedur Kerja

2.3.1 Preparasi Protein HMG-CoA Reduktase

Preparasi protein dilakukan dengan memisahkan *native ligand* dari protein, untuk menyediakan ruang (*pocket/cavity*) pada struktur 3D protein dengan menggunakan program Chimera 1.10.1.

2.3.2 Optimasi Struktur 3D Andrografolid

Optimasi struktur 3D andrografolid dilakukan dengan menggunakan program Avogadro dan HyperChem 8. Optimasi dilakukan menggunakan perhitungan Semi-empiris AM1 dengan gradien energi 0,01 kkal/Å.

2.3.3 Validasi Metode

Validasi metode dilakukan dengan *docking*-kan protein (HMG-CoA Reduktase) dan *native ligand*. Validasi dilakukan menggunakan program Autodock 4.2.

2.3.4 Docking Andrografolid dan Enzim HMG-CoA Reduktase

Andrografolid hasil optimasi di-*docking*-kan pada enzim HMG-CoA Reduktase yang sudah dihilangkan *native ligand*-nya dengan program Autodock 4.2. dengan menggunakan *flexible ligand rigid receptor*.

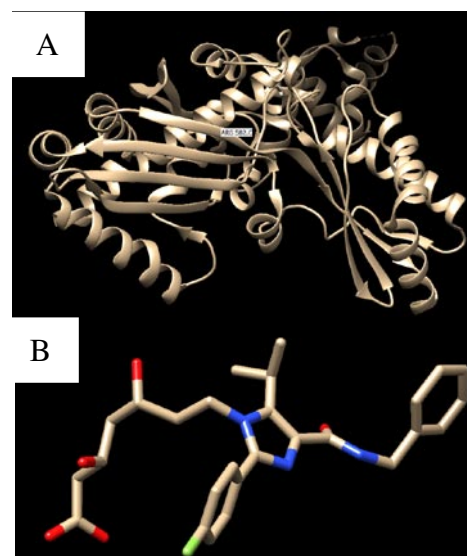
2.3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan *docking score*. *Docking score* menunjukkan energi ikatan dari *ligand* dan protein target. *Docking score* andrografolid dibandingkan dengan *docking score native ligand* terhadap enzim HMG-CoA Reduktase. Energi ikatan yang rendah menunjukkan kekuatan dan stabilitas ikatan yang lebih baik, sehingga andrografolid berpotensi sebagai antihiperlipidemia.

3. HASIL

3.1 Preparasi Protein HMG-CoA Reduktase

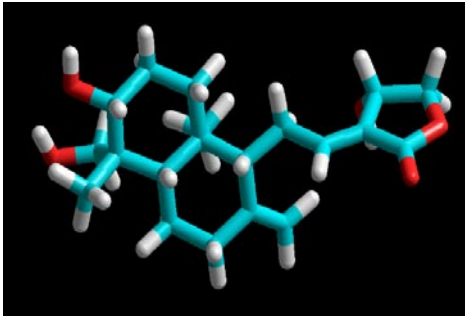
Protein HMG-CoA Reduktase yang digunakan diperoleh dari laman <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> dengan kode ID 3CCW. Preparasi protein dilakukan dengan menggunakan program Chimera 1.10.1. Struktur HMG-CoA Reduktase serta *native ligand*nya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur HMG-CoA Reduktase (A) dan *native ligand*

3.2 Optimasi Struktur 3D Andrografolid

Struktur 3D andrografolid yang diperoleh dari laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound> dengan kode 5318517 dioptimasi dengan menggunakan bantuan program HyperChem 8. Struktur 3D andrografolid hasil optimasi ditampilkan pada Gambar 2.



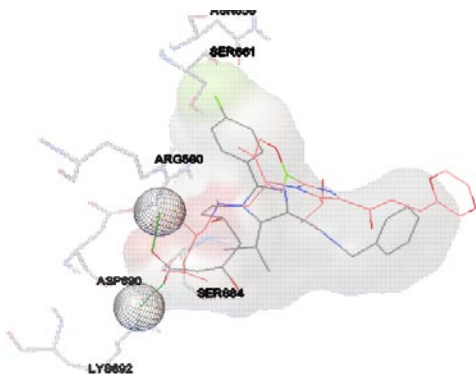
Gambar 2. Hasil optimasi struktur 3D andrografolid

3.3 Validasi Metode

Validasi dilakukan dengan proses *redocking* HMG-CoA Reduktase dan *native ligand* nya. Hasil dan interaksi pada validasi metode *docking molecular* ditampilkan pada Tabel 1 dan Gambar 3.

Tabel 1. Validasi metode *docking*

Konformasi	RMSD (Å)	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen
1	2,44	-1,02	ARG590 LYS692
2	3,26	-1,0	ARG590 SER684
3	3,33	-0,64	ARG590 ARG590
4	4,56	-0,33	ARG590 SER661
5	3,34	-0,24	SER684
6	3,01	-0,23	ARG590 SER684 LYS692
7	3,37	-0,13	SER684
8	2,87	0,01	SER684
9	4,04	0,16	ARG590 SER661
10	3,2	0,49	ARG590 ARG590



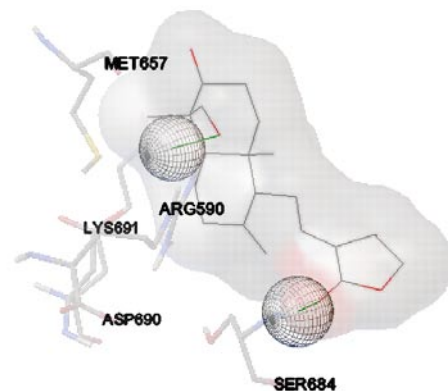
Gambar 3. Interaksi yang terjadi antara *native ligand* dan HMG-CoA Reduktase

3.4 Docking Andrografolid dan Enzim HMG-CoA Reduktase

Proses *docking molecular* dilakukan dengan men-*docking*-kan antara struktur 3D andrografolid hasil optimasi dan struktur HMG-CoA Reduktase hasil preparasi, serta menggunakan parameter yang sama seperti pada proses validasi. Hasil dan interaksi pada proses *docking molecular* ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 4.

Tabel 2. Energi ikatan dan ikatan hidrogen andrografolid dan HMG-CoA Reduktase

Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen
1	-3,63	SER684 LYS691
2	-3,5	ARG590 LYS692
3	-3,48	ARG590 LYS692
4	-3,47	ARG590 LYS692
5	-3,08	ARG590 SER684
6	-3,07	ARG590 SER684
7	-2,89	ARG590 SER684
8	-2,88	ARG590 SER684
9	-2,78	ARG590 SER661
10	-2,63	ARG590 SER661



Gambar 4. Interaksi yang terjadi antara andrografolid dan HMG-CoA Reduktase

4. PEMBAHASAN

Proses preparasi protein HMG-CoA Reduktase dilakukan dengan menggunakan

rantai B. Para proses preparasi akan diperoleh struktur protein tanpa *native ligand* dan struktur *native ligand*, sehingga akan tersedia ruang (*pocket/cavity*) pada protein. Struktur protein yang diperoleh adalah protein yang telah kehilangan *native ligand*, molekul lain seperti air (H₂O) serta atom-atom tunggal lainnya, sehingga pada saat proses *docking* yang berinteraksi hanya senyawa uji dengan protein (Kitchen *et al.*, 2004).

Proses optimasi andrografolid bertujuan untuk memperoleh konformasi struktur 3 dimensi andrografolid yang paling stabil. Optimasi senyawa dilakukan dengan menggunakan perhitungan Semi-empiris AM1 dengan gradien energi 0,01 kkal/Å (Hypercube, 1996). Energi hasil optimasi yang diperoleh sebesar -5509,50 kkal/mol.

Validasi metode dilakukan untuk mengetahui apakah metode *docking* dengan parameter yang telah ditentukan dapat digunakan untuk proses *docking* selanjutnya. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan suatu parameter yang menunjukkan kedekatan atau kemiripan *native ligand* struktur kristalografi dengan eksperimental yang di-*docking*-kan pada suatu protein. Hasil validasi menunjukkan nilai RMSD 2,44 Å, dimana nilai tersebut berada pada rentang validitas 1-3 Å (Betancourt *and* Jeffrey, 2001; Chao *et al.*, 2005).

Berdasarkan hasil *docking* pada tabel 2, nilai energi ikatan terendah yang diperoleh adalah -3,63 kkal/mol dengan ikatan hidrogen yang terbentuk adalah terhadap asam amino SER684 dan LYS 691. Untuk mengetahui aktivitas andrografolid sebagai antihiperlipidemia, maka hasil dari *docking* andrografolid dibandingkan dengan hasil *docking* dari *native ligand* terhadap protein HMG-CoA Reduktase. Energi ikatan terendah hasil *docking native ligand* terhadap HMG-CoA Reduktase yaitu -1,02 kkal/mol. Energi ikatan andrografolid lebih rendah dibandingkan dengan *native ligand*, sehingga ikatan andrografolid terhadap HMG-CoA Reduktase semakin kuat dan stabil. Untuk mengetahui afinitas andrografolid pada protein HMG-CoA Reduktase, maka dilakukan *docking* terhadap obat yang bekerja

pada protein yang sama. Rosuvastatin merupakan obat yang bekerja pada protein HMG-CoA Reduktase, dimana rosuvastatin merupakan obat yang telah terbukti memiliki aktivitas antidiidlipidemia dengan mengatur kadar kadar kolesterol, trigliserida, LDL dan HDL didalam tubuh (Bullano *et al.*, 2006). Energi ikatan yang terbentuk dari rosuvastatin adalah -1,48 kkal/mol, dimana nilai ini lebih besar jika dibandingkan dengan andrografolid, sehingga andrografolid berpotensi sebagai antihiperlipidemia.

5. KESIMPULAN

Andrografolid berpotensi sebagai antihiperlipidemia melalui interaksi dengan protein HMG-CoA Reduktase, energi ikatan -3,63 kkal/mol dengan ikatan hidrogen pada asam amino SER684, LYS691.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Betancourt, M.R., and Jeffrey S. 2001. Universal Similarity Measure for Comparing Protein Structures. *Biopolymers*. Vol. 59. P. 305-309.
- Bullano, MF, Wertz DA, Yang GW, Kamat S, Borok GM, Gandhi S, McDonough KL, Willey VJ.** 2006. Effect of Rosuvastatin Compared with Other Statins on Lipid Levels and National Cholesterol Education Program Goal Attainment for Low-Density Lipoprotein Cholesterol in a Usual Care Setting. *Pharmacotherapy*. Vol 26, no. 4.
- Chao, A.E., Victor G., Bruce J.B., and Richard F. 2005. Importance of Accurate Charges in Molecular Docking: Quantum Mechanical/Molecular Mechanical (QM/MM) Approach. *Journal of Computational Chemistry*. Vol 26. No 9. P. 915-931.
- Dhiman A., Goyal J., Sharma K., Nanda A., and Dhiman S. 2012. A Riview on

- Medicinal Prospectives of *Andrographis paniculata* Ness. *Jurnal of Pharmaceutical and Scientific Innovation*. JPSI 1(1). P. 1-4.
- DiPiro, J. T., R. L. Talbert, G.C. Yee, G. R. Matzke, B. G. Wells, dan L. M. Posey. 2008. *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. USA: McGraw-Hill Medical Publishing Division.
- Hypercube. 1996. *HyperChem® Computational Chemistry*. Canada: Hypercube Inc.
- Kitchen, D.B., H. Decornez, J.R. Furr, and J. Bajorath. 2004. Docking and Scoring in Virtual Screening for Drug Discovery: Methods and Applications. *Drug Discovery*. Vol. 3. P. 935-949.
- Morris G.M and Marguerita L.W. 2008. Molecular Docking. *Methods Mol Biol*. 443: 365-382.
- NCEP. 2002. Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterolin Adults (Adult Treatment Panel III). *National Cholesterol Education Perangkat lunak National Heart, Lung and Blood Institute National Institutes of Health NIH Publication*. No. 02-5215.
- Nugroho, A.E., M. Andrie., N.K Warditiani., E. Siswanto., S. Pramono and E. Lukitaningsih. 2012. Antidiabetic and Antihiperlipidemic Effect of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Andrographolide in High-Fructose-Fat-Fed Rats. *Indian J Pharmacol*. Vol. 44(3). Pp 377-381.
- Prapanza, E. dan L.M. Marianto. 2003. *Khasiat dan Manfaat Sambiloto: Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta: AgroMedia Pustaka. P. 3-9.