

Homology Modeling dan Molecular Docking Senyawa Aktif dari Bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*) sebagai Inhibitor Tirosinase pada *Homo sapiens*

(Homology Modeling and Molecular Docking of Active Compounds from Bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*) as Tyrosinase Inhibitor in *Homo sapiens*)

ENDANG LUKITANINGSIH* , ANNY A. MUSTIKAWATY, ARI SUDARMANTO

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

Diterima 4 Oktober 2012, Disetujui 28 September 2013

Abstrak: Salah satu mekanisme obat pemutih adalah dengan menghambat kerja enzim tirosinase pada proses melanogenesis. Namun, enzim tirosinase manusia belum dapat dideterminasikan secara eksperimental, sehingga penelitian terhadap tirosinase manusia belum dapat dilakukan. *Homology modeling* merupakan salah satu cara yang dapat digunakan untuk memodelkan struktur tiga dimensi dari enzim tirosinase pada manusia. Dari model tersebut diprediksi interaksi senyawa dalam bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*) dalam menghambat enzim tirosinase pada manusia menggunakan pendekatan *molecular docking* yaitu dengan analisis pose. Di samping itu juga dapat diprediksi kekuatan ikatan antara senyawa ligan pada *binding site* protein target dengan menganalisis skor yang dihasilkan. *Homology modeling* dikerjakan dengan menggunakan *template Bacillus megaterium* (TyrBm) dan metode Amber99 dari piranti lunak MOE 2009.10. Model yang didapatkan dievaluasi menggunakan analisis Ramachandran plot, *z-score*, dan plot energi ProSA. Model terbaik digunakan untuk *molecular docking* menggunakan *active site ligand*, *placement method* ALPHA PMI, dan *scoring affinity* DG dari piranti lunak MOE 2009.10. Model terbaik adalah TyrHSM (*alignment default* MOE) dengan 96,7% residu berada di *allowed region* pada Ramachandran Plot, memiliki *positive region* paling sedikit, dan memiliki ratio *z-score* >1. Senyawa ligan bengkoang yang diprediksi memiliki afinitas paling baik pada tirosinase manusia adalah 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol dengan skor -0,3598 kkal/mol.

Kata kunci: tirosinase, *homology modeling*, bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*), *molecular docking*.

Abstract: One mechanism of whitening agent is to inhibit the tyrosinase enzyme in melanogenesis process. However, since the human tyrosinase has not been determined experimentally, therefore research on human tyrosinase can not be conducted. Homology modeling is one method that can be used to exhibit the three-dimensional structure of human tyrosinase. This model used to predict the interaction of bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*) active compounds with the human tyrosinase enzyme by using a molecular docking approach (pose analysis). In addition, the strength of the bond between the ligand compounds and the site protein target can be predicted by analyzing the resulting score. Homology modeling was carried out using Amber99 method of software MOE 2009.10 and *Bacillus megaterium* (TyrBm) as a template. The model obtained was evaluated using Ramachandran plot analysis, *z-score*, and the plot energy ProSA. The best model used for molecular docking using the active site ligand, ALPHA PMI placement method, and affinity DG scoring of MOE 2009.10 software. The best model is the TyrHSM (MOE default alignment) with 96.7% residues are in allowed regions of the Ramachandran plot, has the least positive region, and has a *z-score* ratio > 1. The isolated compound 2-butoxy-2,5-bis (hydroxymethyl)-tetrahydrofurane-3,4-diol is predicted have the best affinity to human tyrosinase with a score -0.3598 kcal/mol.

Keywords: tyrosinase, homology modeling, bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*), molecular docking.

* Penulis korespondensi, Hp. 081392807988
e-mail: lukitaningsih_end@yahoo.com

PENDAHULUAN

SAAT ini kosmetika telah digunakan secara luas oleh masyarakat, khususnya kosmetik pencerah kulit yang mengandung obat pemutih. Kulit yang gelap terjadi karena ada pembentukan pigmen melanin di kulit melalui oksidasi tirosin oleh enzim tirosinase membentuk L-DOPA yang selanjutnya pada tahap akhir membentuk pigmen melanin⁽¹⁾. Untuk menghambat pembentukan melanin ini, enzim tirosinase menjadi salah satu sasaran target dari obat pemutih⁽²⁾.

Tirosinase (EC = 1.14.18.1) yang juga dikenal dengan nama polifenol oksidase adalah enzim yang tersebar luas pada tumbuhan dan hewan. Enzim ini telah diisolasi dan dipelajari pada berbagai spesies tumbuhan, hewan dan jamur⁽³⁾. Tirosinase dari berbagai spesies memiliki perbedaan pada bentuk struktur primernya, ukuran, pola glikosilasi dan karakteristik aktivasinya. Akan tetapi semua tirosinase memiliki persamaan yaitu mempunyai dua atom tembaga tipe III pada sisi aktifnya yang masing-masing diikat oleh 3 residu histidin⁽⁴⁾.

Berbagai penelitian eksperimental dilakukan untuk mencari senyawa yang aktif sebagai inhibitor tirosinase. Sebagian besar menggunakan jamur untuk meneliti kemampuan inhibisi dari senyawa tersebut. Sistem biologis dari jamur sendiri sangat berbeda dengan manusia, sehingga senyawa yang aktif menghambat tirosinase pada jamur belum tentu bersifat aktif menghambat tirosinase pada manusia. Oleh karena itu, perlu diteliti aktivitas antitirosinase pada tirosinase manusia.

Enzim tirosinase manusia belum dapat dideterminasikan secara eksperimental, sehingga penelitian terhadap tirosinase manusia belum dapat dilakukan. Kimia komputasi merupakan satu cara yang dapat menjembatani masalah ini. Dengan kimia komputasi dapat dibangun model struktur tiga dimensi dari tirosinase manusia dengan *homology modeling*. Selanjutnya dengan memanfaatkan model struktur tiga dimensi dari tirosinase manusia ini akan dapat diprediksi interaksi dan afinitas suatu senyawa dalam menghambat enzim tirosinase manusia.

Senyawa yang diteliti kemampuannya dalam menginhibisi tirosinase manusia adalah senyawa aktif dari bengkoang (*Pachyrrhizus erosus*). Seperti diketahui, sejak zaman nenek moyang bengkoang dipercaya memiliki khasiat sebagai penghalus dan pemutih kulit. Pada penelitian sebelumnya, telah dilakukan analisis terhadap senyawa isolat dari bengkoang untuk mengetahui kemampuan isolat dalam menghambat enzim tirosinase. Penelitian dilakukan dengan menggunakan jamur *Aspergillus oryzae* sebagai subjek uji yang mempunyai enzim

tirosinase, dan menggunakan *kojic acid* sebagai kontrol positif⁽⁵⁾.

Tulisan ini melaporkan pemodelan struktur tiga dimensi dari enzim tirosinase pada manusia dengan metode *homology modeling*. Dari model tersebut dapat diprediksi interaksi senyawa dalam bengkoang dalam menghambat enzim tirosinase pada manusia menggunakan pendekatan kimia komputasi, yaitu dengan analisis pose dari hasil *molecular docking*. Dari *molecular docking* juga dapat diprediksi kekuatan ikatan antara senyawa aktif bengkoang pada *binding site* protein target dengan menganalisis skor yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Struktur *template* didapatkan dari situs *Protein Data Bank* (PDB) yang diunduh dari situs <http://www.rcsb.org/pdb>. *Template* yang diunduh adalah struktur kristalografi sinar-X tirosinase pada *Bacillus megaterium* (3NQ1:A), sedangkan sekuens protein yang berupa *file* fasta enzim tirosinase *Homo sapiens* dengan kode uniprot P14679 diunduh dari <http://www.uniprot.org/>. Struktur senyawa ligan uji seperti pada Tabel 1 merupakan senyawa yang diperoleh secara eksperimental melalui isolasi terhadap ekstrak bengkoang dan diketahui memiliki aktivitas inhibitor tirosinase *Aspergillus oryzae*.

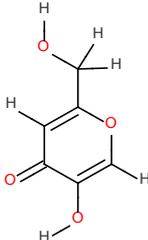
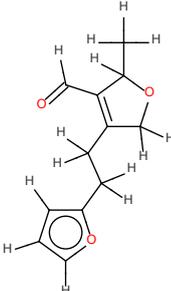
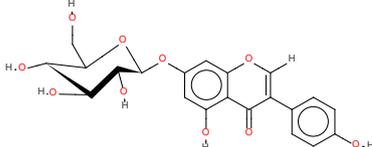
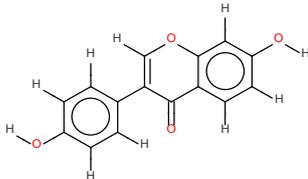
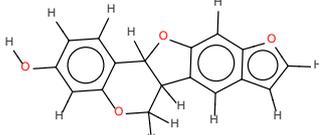
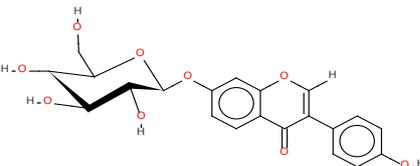
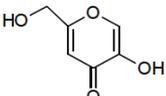
METODE. Identifikasi struktur yang homolog. Pencarian struktur protein yang homolog dengan tirosinase *Homo sapiens* dilakukan dengan analisis BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) dan SAS (<http://www.ebi.ac.uk>). Analisis tersebut akan menghasilkan berbagai macam protein dari spesies lain yang memiliki kemiripan tinggi dengan tirosinase *Homo sapiens* (P14679).

Pemilihan *template*. Pemilihan *template* didasarkan pada resolusi, skor, *sequence identity*, dan *E-value* (*expectation value*). Pertimbangan atas parameter-parameter tersebut, maka terpilih kompleks tirosinase *Bacillus megaterium* dengan inhibitor *kojic acid* (3NQ1:A) sebagai *template* untuk membangun model struktur 3D dari tirosinase manusia.

Alignment (penyejajaran) antara *template* dengan target (MOE, BLAST, SAS). Pada tahap ini dilakukan pemasangan residu-residu asam amino antara sekuens/urutan asam amino *template* dengan urutan asam amino target. Ada tiga macam penyejajaran yang dilakukan yaitu penyejajaran otomatis dengan MOE, penyejajaran berdasarkan BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/) dan penyejajaran berdasarkan SAS (<http://www.ebi.ac.uk>).

Homology modeling. Piranti lunak akan membangun model tiga dimensi dari protein target

Tabel 1. Daftar ligan untuk uji dan ligan pembanding.

No.	Nama dan (IC ₅₀ , mM)	Struktur
1.	2-butoxy-2,5-bis(hydroxymethyl)-tetrahydrofuran-3,4-diol (0,198 ± 0,004)	
2.	4-(2-(furan-2-yl)ethyl)-2-methyl-2,5-dihydrofuran-3-carbaldehyde (1,21 ± 0,02)	
3.	5-hydroxy-daidzein-7-O-β-glucopyranose (4,38 ± 0,01)	
4.	daidzein (5,35 ± 0,03)	
5.	(,9)-furanyleptocarpan-3-ol (7,19 ± 0,11)	
6.	daidzein-7-O-β-glucopyranose (22,20 ± 0,27)	
7.	kojic acid (ligan pembanding) (0,07 ± 0,001)	

berdasarkan perhitungan koordinat atom *template* serta penyejajaran yang digunakan untuk menentukan posisi atom target. Preparasi enzim ini dilakukan dengan metode Amber99. Piranti lunak yang digunakan adalah MOE 2009.10.

Optimasi model (*energy minimization*). Tahap *energy minimization* berguna untuk mengoptimasi konformasi protein, sehingga didapatkan konformasi yang optimal.

Evaluasi model. Tahap ini dilakukan dengan mengevaluasi *outlier* dari plot Ramachandran, *z-score* dari ProSa dan plot energi dari ProSa. Kemudian dipilih model tirosinase manusia terbaik yang kemudian digunakan untuk *docking* terhadap ligan uji.

Preparasi ligan. Senyawa isolat dari bengkoang digambarkan struktur dua dan tiga dimensinya dengan MOE, kemudian struktur yang terbentuk diprotonasi dengan *protonate 3D* dan diberi muatan dengan

muatan parsial. Ligan yang telah memiliki atom hidrogen dan bermuatan lalu di minimasi energinya (*energy minimization*) untuk mendapatkan konformasi yang paling stabil.

Docking terhadap model terbaik. Model terbaik yang didapat kemudian digunakan untuk menguji sifat tirosinase inhibitor dari senyawa isolat bengkoang. *Docking* molekuler dilakukan pada situs yang dibangun berdasar ligan nativ (*kojic acid*) dari enzim. Metode *placement* yang digunakan adalah Alpha PMI dan metode *scoring affinity* DG.

Analisis hasil. Analisis *molecular docking* antara senyawa aktif bengkoang dan konformasi model enzim tirosinase *Homo sapiens* dilakukan dengan pengamatan pada pose ligan dari bengkoang untuk melihat interaksi, *overlapping* gugus serupa dan skor interaksi. Skor masing-masing ligan eksperimental yang didapat kemudian diplotkan dengan pIC_{50} dari ligan tersebut. Semakin besar koefisien korelasi (r^2), maka analisis dengan *in silico* memiliki korelasi yang baik dengan pIC_{50} hasil analisis *in vitro*. Semakin rendah skornya, energi interaksi semakin rendah sehingga ikatan lebih mudah terbentuk dan senyawa mempunyai afinitas yang tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Template yang digunakan untuk *homology modeling* adalah tirosinase *Bacillus megaterium* (TyrBM) dengan kode PDB 3NQ1:A. Hasil dari analisis SAS menunjukkan TyrBM memiliki kemiripan tertinggi dengan tirosinase *Homo sapiens* (TyrHS) dengan nilai *sequence identity* dari TyrBM adalah 32,5% yang artinya 32,5% asam amino tirosinase manusia identik dengan tirosinase *Bacillus megaterium*. Nilai *E-value* dari TyrBM adalah 3,5 e-07. Nilai *E-value* yang kecil tersebut menunjukkan bahwa kemiripan kedua sekuens bukan merupakan suatu kebetulan. Semakin mendekati 0, maka semakin homolog kedua sekuens tersebut. Resolusi dari TyrBm adalah 2,30 Å. TyrBM dinyatakan memiliki resolusi sedang karena berada pada kisaran 2,0-2,5 Å(6). Penyejajaran sekuens antara TyrBM dan TyrHSM dapat dilihat pada Gambar 1.

Dari penggunaan 3 macam penyejajaran, dihasilkan 3 model enzim tirosinase manusia yaitu

TyrHSM (dengan penyejajaran MOE), TyrHSS (dengan penyejajaran SAS) dan TyrHSB (dengan penyejajaran BLAST). Sekuens yang termodelkan dengan penyejajaran MOE, SAS dan BLAST berturut-turut adalah 116-449; 142-449 dan 116-449. Ketiga metode penyejajaran yang digunakan dapat memodelkan daerah *conserve domain* yaitu sekuens 170-405. Sesuai dengan *template* 3NQ1:A yang merupakan kristal tirosinase dalam bentuk Met, model yang dibangun merupakan tirosinase dalam bentuk Met. Pada bentuk met ini, dua buah atom Cu dihubungkan oleh jembatan air dan setiap atom Cu dikelilingi oleh residu histidin.

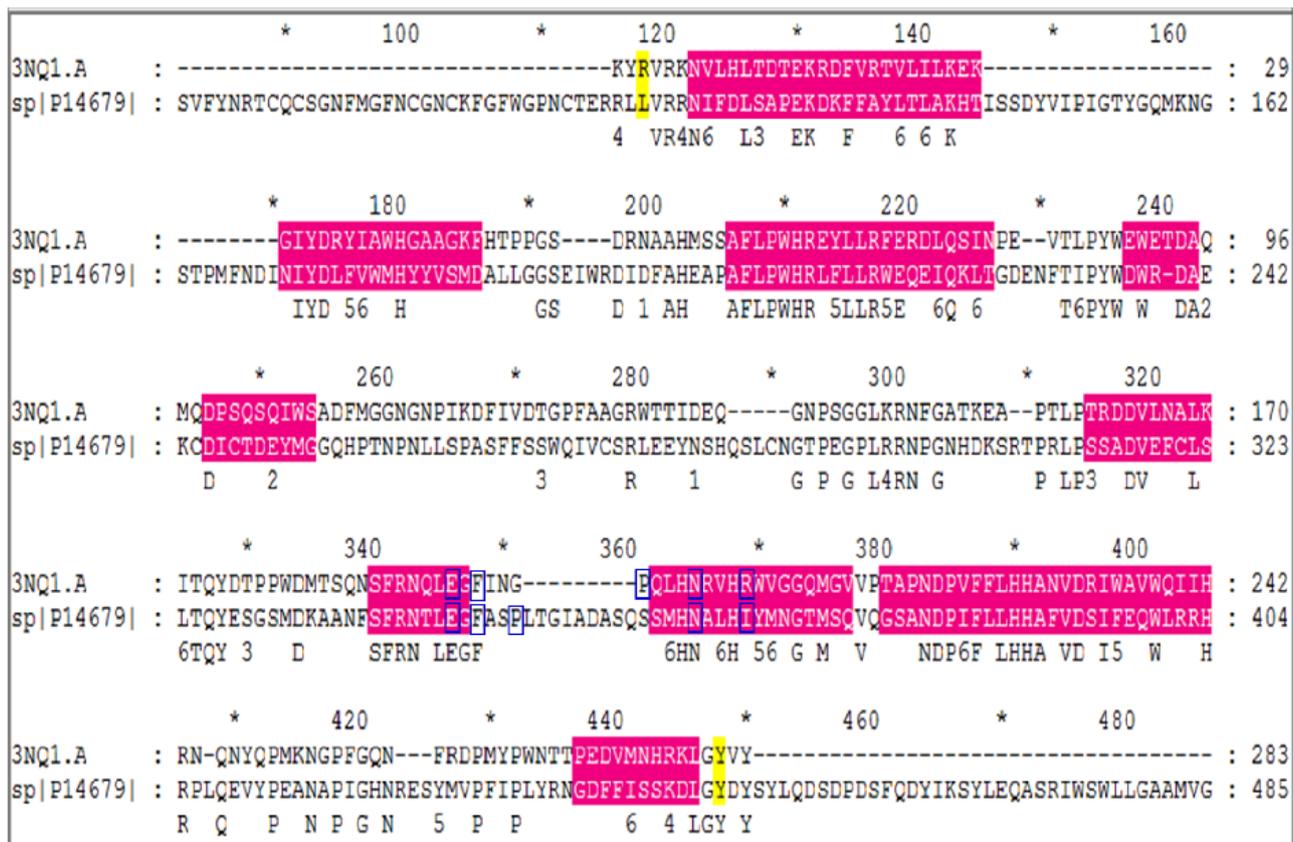
Kualitas dari model dilihat berdasarkan analisis ProSa dan analisis plot Ramachandran (Tabel 2). ProSa adalah alat diagnostik yang secara luas digunakan untuk memeriksa model 3D dari berbagai struktur protein, baik itu yang berasal dari eksperimental maupun protein yang dimodelkan secara teoritis⁽⁷⁾. Dari analisis dengan ProSa akan didapatkan luaran antara lain berupa nilai *z-score* dan plot energi. Nilai *z-score* yang berada di luar rentang khas suatu *native protein* yang berukuran mirip, mengindikasikan adanya kekeliruan pada struktur⁽⁷⁾.

Nilai *z-score* dari TyrBM, TyrHSM, TyrHSB dan TyrHSS berturut-turut adalah -6,1; -6,4; -5,57; -4,49 dan ketiga model memiliki nilai *z-score* yang berada pada rentang *native protein*. Nilai *z-score* dari model ini kemudian harus dibandingkan dengan nilai *z-score* struktur *template* TyrBM. Nilai rasio yang >1 menunjukkan bahwa pemodelannya efisien dan model yang didapatkan lebih bagus daripada *template*⁽⁸⁾. Dari ketiga model yang dibangun, hanya model TyrHSM (Gambar 2) yang memiliki kualitas lebih baik daripada *template* TyrBM karena memiliki rasio >1.

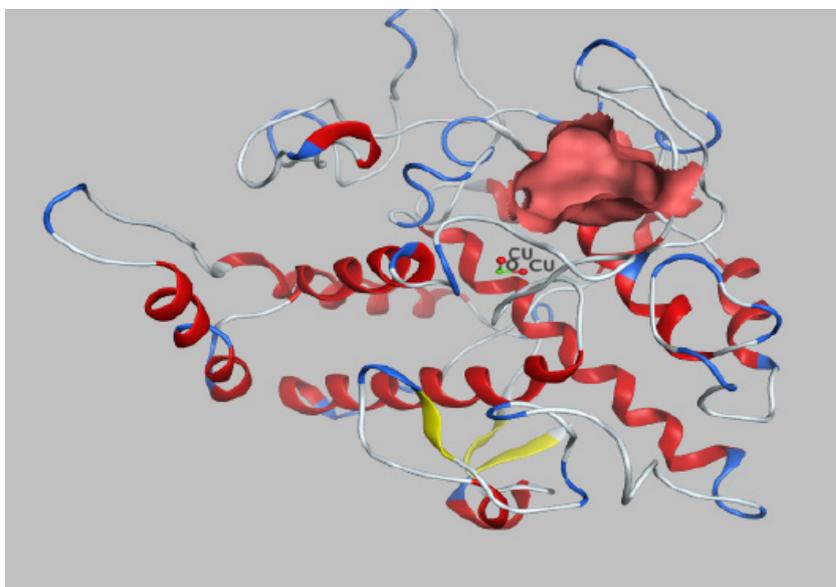
Luaran ProSa lainnya adalah plot energi yang dapat menunjukkan kualitas model dengan melakukan plot energi sebagai fungsi dari posisi sekuens asam amino. Secara umum, bagian yang memiliki nilai positif berhubungan dengan kesalahan dari model⁽⁷⁾. Dari plot energi yang didapatkan, dapat diketahui bahwa model TyrHSM adalah model yang memiliki bagian positif yang paling sedikit dibandingkan kedua model lainnya. Hal ini berarti model TyrHSM memiliki tingkat kesalahan yang lebih sedikit

Tabel 2. Kalkulasi % residu di *allowed region* plot Ramachandran dan *z-score* dari analisis ProSa.

No.	Nama	Sekuens yang termodelkan	Jumlah residu termodelkan	Jumlah outlier	% residu di <i>allowed region</i>	<i>z-score</i>
1	TyrHSM	116-449	333	11	96,7%	-6.40
2	TyrHSB	116-449	333	19	94,29%	-5.57
3	TyrHSS	142-449	307	18	94,13%	-4.49
	TyrBM					-6.10



Gambar 1. Penyejajaran sekuens 3NQ1.A (TyrBM) dan sp|P14679| (TyrHSM). Warna merah menunjukkan struktur sekunder α -helix, kuning adalah β -sheet, dan residu yang berinteraksi dengan ligan *kojic acid* ditandai dengan kotak biru.



Gambar 2. Model TyrHSM dengan *binding site* di dekat atom Cu.

dibandingkan dengan kedua model yang lain.

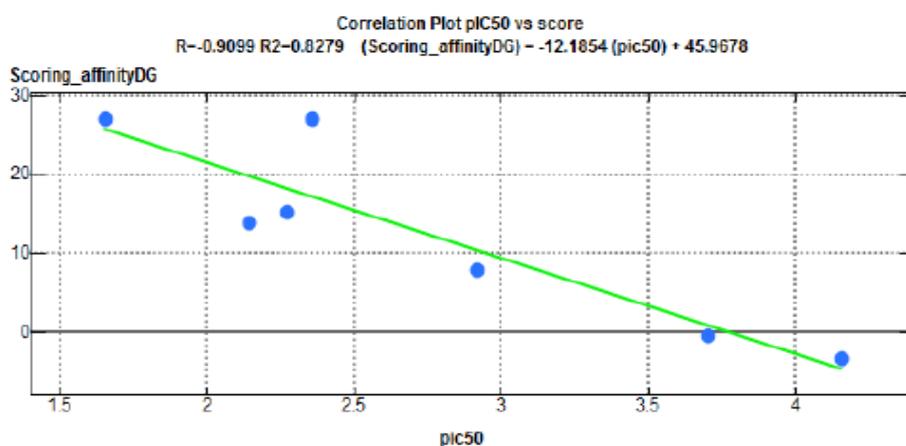
Plot Ramachandran merupakan plot sebaran 2D yang didapatkan dari perbandingan pasangan *backbone torsion angle* π (phi) dan ψ (psi) untuk memprediksi sebarannya. Plot Ramachandran adalah indikator untuk mengetahui kualitas intrinsik dari struktur 3D⁽⁹⁾. Jumlah residu yang berada di *allowed region* pada plot Ramachandran dari model TyrHSM,

TyrHSB, TyrHSS berturut-turut adalah 96,7%, 94,29% dan 94,13%.

Dari analisis plot Ramachandran, *z-score* ProSa dan plot energi ProSa, maka model terbaik adalah model TyrHSM. Model ini digunakan untuk analisis selanjutnya yaitu *molecular docking*. Dari hasil simulasi *docking* didapatkan luaran berupa *scoring* dan pose. Tabel 3 menunjukkan bahwa *kojic acid*

Tabel 3. Nilai skor ligan hasil *docking* dan aktivitas inhibisi tirosinase⁽⁵⁾.

No.	Nama	IC ₅₀ (mM)	pIC ₅₀	Score (kkal/mol)
1.	<i>Kojic acid</i>	0,070 ± 0,001	4,155	-3,2880
2.	<i>2-butoxy-2,5-bis(hydroxymethyl)-tetrahydrofurane-3,4-diol</i>	0,198 ± 0,004	3,703	-0,3598
3.	<i>4-(2-(furane-2-yl)ethyl)-2-methyl-2,5-dihydrofurane-3-carbaldehyde</i>	1,21 ± 0,02	2,917	7,9002
4.	<i>5-hydroxy-daidzein-7-O-β-glucopyranose</i>	4,38 ± 0,01	2,358	27,0154
5.	<i>Daidzein</i>	5,35 ± 0,03	2,272	15,3536
6.	<i>(8,9)-furanyle-pterocarpan-3-ol</i>	7,19 ± 0,11	2,143	13,9938
7.	<i>Daidzein-7-O-β-glucopyranose</i>	22,20 ± 0,27	1,654	27,1747

Gambar 3. Plot pIC₅₀ ligan vs skor pada model tirosinase *Homo sapiens* (TyrHSM).

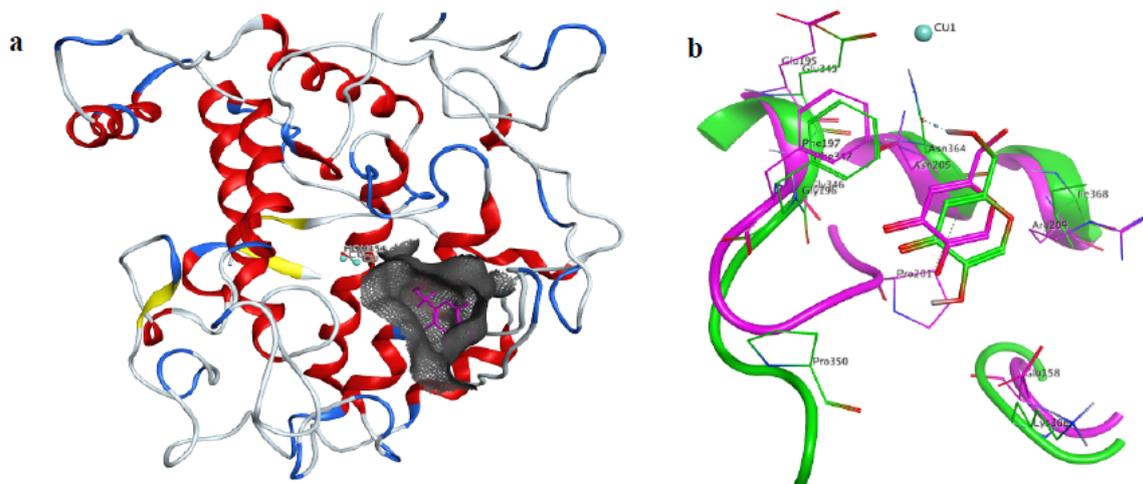
memiliki skor yang paling rendah dibandingkan dengan 6 senyawa isolat dari bengkoang, yang berarti bahwa 6 senyawa isolat dari bengkoang belum mampu menandingi *kojic acid* dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase pada proses melanogenesis. Hasil analisis *in silico* ini memiliki kesesuaian dengan hasil analisis secara *in vitro* yang dilakukan sebelumnya yang menunjukkan bahwa senyawa isolat bengkoang belum mampu menandingi *kojic acid*⁽⁵⁾.

Untuk melihat korelasi antara skor *docking* dan aktivitas inhibisi tirosinase dari setiap ligan uji digunakan metode regresi linier⁽¹¹⁾. Kesesuaian antara hasil analisis *in vitro* dan *in silico* ini dapat dilihat dari plot pIC₅₀ vs skor pada Gambar 2 yang menunjukkan korelasi yang cukup baik, yaitu nilai koefisien korelasinya (R) mendekati 1 atau -1, yaitu -0,9099. Korelasi yang baik antara analisis secara *in vitro* dan *in silico* ini dapat diarahkan untuk mencari inhibitor yang lebih poten menggunakan skrining secara *in silico*.

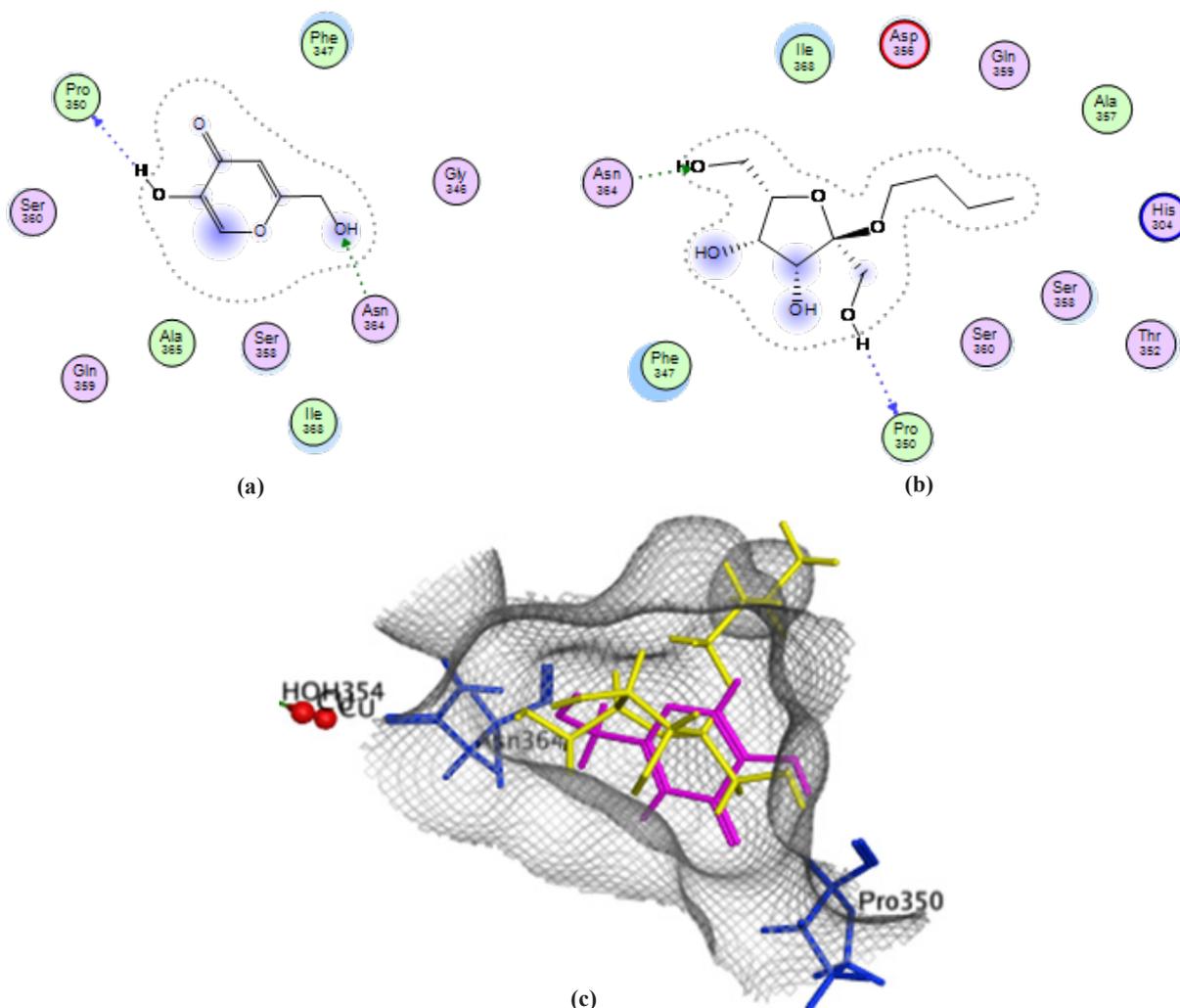
Analisis interaksi ligan dengan *binding site* menunjukkan bahwa ligan *native kojic acid* mengadakan ikatan hidrogen dengan Pro350 dan Asn364 (Gambar 5a). Dari kristalisasi TyrBM diketahui bahwa *kojic acid* yang berhasil terdeterminasi pada struktur kristal

TyrBM juga berinteraksi dengan Phe197, Pro201, Arg209 dan Asn205 (Phe347, Pro350, Ile368 dan Asn364 pada TyrHSM)⁽¹⁰⁾ (Gambar 4b). Walaupun letak *kojic acid* tidak terlalu dekat dengan pusat katalitik, namun posisi dan orientasi dari *kojic acid* ini dapat menyebabkan gangguan terhadap pusat katalitik. Hal ini dapat menjadi salah satu mekanisme penghambatan aktivitas enzim tirosinase dimana *kojic acid* menjadi 'placeholder' yang menempati jalan masuk substrat (Gambar 4a) sehingga dapat menghambat substrat untuk memasuki pusat katalisis dari tirosinase. Jika substrat terhambat untuk masuk, maka aktivitas enzimatik dapat dihambat.

Analisis *ligand interaction* juga dapat menunjukkan interaksi antara residu pada *binding site* dengan senyawa 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol yang merupakan senyawa paling poten dibandingkan senyawa lain dari bengkoang. Senyawa tersebut juga tidak berinteraksi dengan atom Cu, sebagaimana *kojic acid* yang interaksinya lebih mengarah pada residu di sekitar *binding site* (Gambar 5c). Senyawa 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol mengadakan ikatan hidrogen dengan Asn364 dan Pro350.



Gambar 4. *Kojic acid* terikat pada *binding site* tirosinase. (a) *Kojic acid* (ungu) menempati jalan masuk substrat enzim tirosinase. (b) Superposisi *kojic acid* yang terikat pada situs ikat tirosinase. Warna ungu adalah struktur kristal TyrBM (PDB 3NQ1) dan warna hijau adalah TyrHSM (model). Homologi residu antara TyrBM dan TyrHSM adalah Glu195=Glu345, Gly196=Gly346, Phe197=Phe347, Pro201=Pro350, Asn205=Asn364, dan Arg209=Ile368.



Gambar 5. Interaksi *kojic acid* dan 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol pada *binding site* TyrHSM. (a) *kojic acid* berikatan hidrogen dengan Asn364 dan Pro350 (homolog dengan Asn 205 dan Pro201 pada TyrBM). Gly346, Phe347 dan Ile 368 (homolog dengan Gly196, Phe197 dan Arg209 pada TyrBM) mengadakan interaksi hidrofobik. (b) Interaksi 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol pada *binding site* TyrHSM. (c) Superposisi senyawa 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol (kuning) dan *kojic acid* (ungu) pada *binding site* dan residu yang berinteraksi (biru).

Analisis interaksi ligan tersebut di atas menunjukkan juga bahwa residu yang berinteraksi dengan senyawa 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol sama dengan residu yang berinteraksi dengan *kojic acid*. Hal ini yang mungkin menjadi alasan bahwa senyawa 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol diprediksi menjadi senyawa aktif bengkoang yang paling poten dibandingkan dengan kelima senyawa bengkoang yang lain (Gambar 5b). Dari pose yang terlihat pada gambar dapat diusulkan mekanisme hambatan dari senyawa tersebut adalah menghambat substrat masuk ke pusat katalisis enzim atau sebagai *place holder* sama seperti *kojic acid*.

Berdasarkan hasil *docking* terhadap model TyrHSM, residu Asn364 dan Pro350 merupakan residu yang perlu diperhatikan untuk pencarian inhibitor tirosinase yang lebih poten, karena residu-residu tersebut merupakan residu yang berinteraksi dengan ligan inhibitor yang diduga paling poten dibandingkan yang lain yang *didocking* sehingga residu tersebut diduga merupakan residu kunci untuk penghambatan enzim tirosinase manusia. Fitur yang ada pada residu-residu tersebut diharapkan dapat menuntun pencarian inhibitor tirosinase baru yang lebih poten.

SIMPULAN

Homology modeling dengan penyejajaran MOE (TyrHSM) menggunakan *template* tirosinase *Bacillus megaterium* (kode PDB: 3NQ1:A) dapat memodelkan enzim tirosinase *Homo sapiens* dengan 11 *outlier* pada plot Ramachandran, nilai *z-score* -6.4 dan plot energi dengan *positive region* paling minimal pada analisis ProSA. Senyawa aktif bengkoang yang diprediksi paling poten adalah 2-butoksi-2,5-bis(hidroksimetil)-tetrahidrofuran-3,4-diol yang cenderung berinteraksi pada *binding site* model enzim tirosinase TyrHSM dengan menempati *cavity* dan mengadakan ikatan hidrogen dengan beberapa residu yaitu Asn 364 dan

Pro350 dengan skor -0,3598. Analisis kemampuan ligan bengkoang dalam menghambat enzim tirosinase secara *in vitro* berkorelasi baik dengan analisis *in silico* karena memiliki nilai koefisien korelasi -0,9099.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2009.10: 2440–75.
2. Arbab AH, Eltahir MM. Review on skin whitening agents. *Khartoum Pharm J*. 2010.13(1):5-9
3. Mayer AM. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*. 2006.67 (21):2318–31.
4. Lewis EA, Tolman WB. Reactivity of dioxygen-copper systems. *Chemical Reviews*. 2004.104:1047-76.
5. Lukitaningsih E. The exploration of whitening and sun screening compounds in bengkoang roots (*Pachyrhizus erosus*) [Disertasi]. Jerman: Julius-Maximilians-Universität Würzburg; 2009.
6. Drenth J. Principles of protein X-ray crystallography. New York: Springer Science+Business Media LLC; 2007. 61.
7. Wiederstein M, Sippl MJ. ProSa-Web: Interactive Web service for the recognition of errors in the three-dimensional structures of protein. *Nucleic Acids Res*. 2007.35:407-10.
8. Dalton JAR, Jackson M. An evaluation of automated homology modelling methods at low target–template sequence similarity. *Bioinformatics*. 2007.23:1901-8.
9. Petsko GA, Ringe D. Protein structure and function: from sequence to consequence. London: New Science Press Ltd; 2004. 142.
10. Sendovski M, Kanteev M, Benyosef VB, Adir N, Fishman A. First structures of an active bacterial tyrosinase reveal copper plasticity. *J Mol Biol*. 2010. 405:227–37.
11. Sapre NS, Gupta S, Sapre N. Assessing ligand efficiencies using template-based molecular docking and tabu-clustering on tetrahydroimidazo-[4,5,1-jk] [1,4]-benzodiazepin-2(1H)-one and-thione (TIBO) derivatives as HIV-1RT inhibitors. *J Chem Sci*. 2008.120(4):395–404.