

Analisis *In-Silico* Senyawa Kimia dalam Teh Hijau yang Bekerja pada Aktivator (PPAR- γ) sebagai Antiobesitas

(In-Silico Analysis of Chemical Compounds in Green Tea Working on Activators PPAR- γ as Antiobesity)

FARIDAH*, ESTI MUMPUNI, YUDHA ISWARA YUNANTO

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta 12640

*Penulis korespondensi, Hp : 08121315178

e-mail: faridah@univpancasila.ac.id

Diterima 28 Agustus 2019, Disetujui 22 Oktober 2019

Abstrak: Teh hijau dikenal banyak memiliki manfaat dan umum digunakan masyarakat sebagai antiobesitas, tetapi senyawa aktif yang berpotensi sebagai antiobesitas. Tujuan penelitian untuk mencari bahwa senyawa kimia yang terdapat dalam tanaman teh hijau mempunyai aktivitas sebagai antiobesitas pada reseptor PPAR- γ . Metode penelitian dilakukan dengan cara analisis *in silico* melalui *molecular docking* terhadap senyawa yang terdapat dalam tanaman teh hijau untuk mencari senyawa aktif dan memodelkan interaksi senyawa aktif pada reseptor yang berperan sebagai antiobesitas. *Software* yang digunakan adalah PLANTS, YASARA, *ChemSketch*, dan *Pymol*. Mula-mula dilakukan validasi internal pada reseptor PPAR- γ dengan kode 2ATH. Proses docking dilakukan terhadap native ligand, senyawa pembanding dan masing-masing senyawa uji dengan reseptor PPAR- γ yang sama, dan senyawa pembanding yang digunakan sebagai kontrol positif ialah Pioglitazone. Hasil penelitian menunjukkan sisi aktif terdapat 3 senyawa aktif dengan sisi aktif ikatan ligan pada reseptor PPAR- γ yaitu ARG288, LYS367, PHE363, HIS323, HIS449, ILE326, MET364, LEU340, CYS285, SER342. Terdapat 3 senyawa aktif yaitu epigallocatekin-3-galat, epikatekin-3-galat dan teaflavin sebagai antiobesitas dengan mekanisme kerja mengaktivasi PPAR- γ .

Kata Kunci: teh hijau, *in-silico*, antiobesitas, PPAR- γ

Abstract: Greentea has many benefits and recently used by citizen as an antiobesity, however it has not been researched yet. The purpose of this research is to find the chemical compound in greentea plants that potentially has an antiobesity activity at the PPAR- γ receptor. The method that been used in this research is in-silico analysis trough molecular docking of chemical compound that potentially has an antiobesity activity in greentea plants. The software that been used in this research is PLANTS, YASARA, Chem Sketch, and Pymol. First step, the internal validation was performed on native ligand, comparative compound, and each of the trial compound with the same PPAR- γ receptor, and the comparative compound that been used as a positive control is pioglitazone. The result showed there are 3 active compounds with active sides of ligand binding at PPAR- γ receptor, they are ARG288, LYS367, PHE363, HIS323, HIS449, ILE326, MET364, LEU340, CYS285, SER342. There are 3 active compounds that have the potential as antiobesity, namely epigallocatekin-3-galat, epikatekin-3-galat dan theaflavin by activating PPAR- γ receptor.

Keywords: green tea, in-silico, antiobesity, PPAR- γ

PENDAHULUAN

OBESITAS merupakan suatu kelainan kompleks pengaturan nafsu makan dan metabolisme energi yang dikendalikan oleh beberapa faktor biologik spesifik. Secara fisiologis, obesitas didefinisikan sebagai suatu keadaan dengan akumulasi lemak yang tidak normal atau berlebihan di jaringan adiposa sehingga dapat mengganggu kesehatan seperti diabetes, gagal jantung, hipertensi, *osteoarthritis*, dan kanker⁽¹⁾. Seiring dengan berkembangnya zaman serta perubahan tren dan pola hidup yang kurang sehat, saat ini banyak sekali masyarakat yang menderita obesitas. Obesitas dianggap sebagai sinyal pertama munculnya kelompok penyakit–penyakit non infeksi (*Non Communicable Diseases*) yang banyak terjadi di negara maju maupun negara berkembang. Obesitas ditandai dengan peningkatan indeks masa tubuh (IMT), yang didefinisikan sebagai berat badan individu dibagi dengan kuadrat dari tinggi (kg/m^2)⁽²⁾.

Klasifikasi Berat badan yang diusulkan berdasarkan IMT pada penduduk Asia dewasa : Normal ($18,5 - 22,9 \text{ kg/m}^2$), Beresiko ($23 - 24,9 \text{ kg/m}^2$), Obesitas Tingkat I ($25 - 29,9 \text{ kg/m}^2$), Obesitas Tingkat II ($\geq 30 \text{ kg/m}^2$). Obesitas dapat terjadi karena faktor internal dan eksternal. Penyebab-penyebab dari faktor internal; seperti genetik, endokrin, umur. Faktor eksternal; seperti gaya hidup, tingkah laku, lingkungan, masalah sosial dan ekonomi⁽²⁾.

Beberapa senyawa dalam tanaman telah ditemukan mempunyai potensi sebagai anti-obesitas, dan minum teh merupakan minuman yang lazim dikonsumsi tidak hanya di Indonesia tapi dunia terutama di Asia, tetapi senyawa aktif yang berpotensi sebagai anti-obesitas dan bekerja pada reseptor PPAR- γ secara *in vivo*⁽³⁾, dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas secara *in silico*, karena efisien dan efektif dalam hal waktu dan biaya, selektif langsung diuji pada reseptor atau sel target dan akurat.

BAHAN DAN METODE

Bahan. Senyawa kimia dalam tanaman teh hijau (*camelia sinensis*) terdiri dari : epigalokatekin-3-galat, epigalokatekin, epikatekin-3-galat, epikatekin katekin kuersetin, kaempferol, mirisetin, kafein, teaflavin⁽²⁾, pioglitazone, reseptor PPAR- γ 2ATH⁽⁴⁾.

Metode

Preparasi Reseptor (Protein)

1. Struktur kompleks protein dalam format (.pdb) didapatkan dari Protein Data Bank (PDB) di-download dari situs <http://mm.rcsb.org/>
2. Dipreparasi kembali dengan program

YASARA diperoleh dua file yaitu protein.mol2 dan ref_ligand.mol2⁽⁴⁾.

Preparasi Native Ligan, Senyawa Pembanding dan Senyawa Uji

1. Preparasi dilakukan menggunakan *software* Marvin Sketch pada pH 7,4. Disimpan sebagai ligand_2D.mrv.
2. Dipilih *conformational search* lalu disimpan hasil pencarian konformasi sebagai *ligand* dan tipe.mol2
3. Prosedur diatas dilakukan untuk setiap satu ligan/senyawa⁽⁴⁾.

Optimasi Protein

1. Native ligan yang sudah dipreparasi, selanjutnya dioptimasi dengan reseptor yang digunakan (PPAR- γ) menggunakan program PLANTS hingga didapat *score docking* dan dipilih *score* terbaik lalu disimpan dalam bentuk file .mol2
2. Dihitung nilai RMSD dengan program YASARA⁽⁵⁾.

Docking Senyawa Pembanding

1. File ligan pembanding yang diperoleh dari prosedur preparasi protein kemudian dilakukan *docking* menggunakan program PLANTS.
2. Diperoleh besarnya *score docking* dari ligan pembanding atau kontrol positif (Pioglitazone) yang nantinya akan dibandingkan dengan nilai *score docking* dari ligan senyawa uji⁽⁴⁾.

Docking Senyawa Uji

1. Pada prosedur ini dilakukan docking antara masing-masing ligan senyawa uji menggunakan program PLANTS.
2. Hasil *docking* diperoleh *score docking* ligan senyawa uji, nilai ini yang akan dibandingkan dengan *score docking* ligan kontrol positif (Pioglitazone)⁽⁴⁾.

Visualisasi Interaksi Ligan dan Reseptor

1. File hasil *docking* dari masing-masing ligan senyawa uji menggunakan program Pymol
2. File *docking* divisualisasi dan diinterpretasi untuk diketahui interaksi yang terjadi⁽⁴⁾.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Reseptor Yang Digunakan

Reseptor yang berperan mengontrol bermacam-macam gen target yang terlibat dalam homeostasis lipid

dan glukosa ialah *Peroxisome proliferators-activated receptors-gamma* (PPAR- γ). PPAR- γ dapat berperan sebagai agonis endogen terhadap Thiazolidinedione⁽¹⁾. Senyawa Pioglitazone yang termasuk golongan thiazolidinedione digunakan sebagai kontrol positif dalam penelitian ini. Reseptor dapat digunakan dalam aplikasi docking sebaiknya berbentuk struktur kristal, *human*, dan setelah divalidasi menghasilkan *Root mean Square Deviation* (RMSD) kurang dari 2 Å⁽⁴⁾. Ligan uji dianggap memiliki potensi dapat masuk ke dalam reseptor dan di serap oleh tubuh jika memenuhi aturan Lipinski dengan kriteria:

1. BM < 500 gram/mol
2. Jumlah grup donor proton ikatan hidrogen < 5
3. Jumlah grup akseptor proton ikatan hidrogen < 10
4. Jumlah logaritma koefisien partisi dalam air dan 1-oktanol < 5⁽⁶⁾.

Setelah dilakukan validasi terhadap reseptor (Tabel 1), maka reseptor yang digunakan ialah reseptor PPAR- γ dengan kode PDB: 2ATH karena mempunyai nilai RMSD sama dengan 1,1274 Å memenuhi

Tabel 1. Hasil validasi beberapa reseptor PPAR- γ

No	Protein	Kode	RMSD (Å)
1	Crystal structure of the ligand binding domain of human PPAR-gamma in complex with an agonist. Resolution: 2.07 Å	2F4B	2,4081
2	Crystal structure of the ligand binding domain of human PPAR-gamma in complex with an agonist. Resolution: 2.28 Å	2ATH	1,1274

persyaratan (<2Å).

Simulasi Docking

Berdasarkan hasil *docking* senyawa uji dan kontrol positif terhadap reseptor PPAR- γ (Tabel 2), terdapat 3 senyawa aktif dari tanaman Teh Hijau (*Camelia sinensis*) secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking*⁽⁵⁾.

Penambatan molekul (*molecular docking*) merupakan penelitian dengan metode komputasi yang bertujuan untuk memperkirakan interaksi dan afinitas suatu ligan dengan suatu makromolekul (umumnya protein). Suatu molekul ligan dan protein diprediksi dengan teknik penempatan pada area tertentu (*active site*) sehingga memberikan hasil yang optimal. Menghasilkan suatu pose interaksi dan suatu nilai yang menentukan baik tidaknya suatu pose interaksi (*score docking*). Skor *docking* dihitung antara lain dengan satuan nilai *ChemPLP*. Nilai *ChemPLP* dihitung berdasarkan energi bebas Gibbs dimana semakin kecil (semakin negatif) terhadap senyawa kontrol positif maka dapat dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik, menunjukkan bahwa senyawa tersebut dengan mudah berikatan dengan reseptor^(5,7).

Hasil skor dilakukan pemilihan, senyawa uji dinyatakan aktif bila nilai *ChemPLP* lebih kecil (lebih negatif) dan dinyatakan tidak aktif bila nilai *ChemPLP* lebih besar (lebih positif) dibandingkan kontrol positif yaitu senyawa pioglitazon. Hasil skor tersebut dilakukan pengujian *statistic one-tailed paired T-test* untuk menentukan apakah skor senyawa uji berbeda nyata terhadap skor senyawa kontrol positif. Selanjutnya, senyawa aktif sebagai ligan pada reseptor PPAR- γ secara *in silico* divisualisasi menggunakan aplikasi Pymol. Aplikasi Pymol akan menunjukkan bentuk ikatan dari suatu senyawa dengan reseptornya secara 3D. Pymol juga dapat digunakan untuk melihat jarak ikatan dari struktur yang diuji dengan asam

Tabel 2. Hasil docking senyawa uji dan kontrol positif

No	Tanaman Uji	Senyawa uji	Score docking		Keterangan
			Senyawa uji	Kontrol Positif (Pioglitazone)	
1	Teh Hijau (<i>Camelia sinensis</i>)	Epigalokatekin-3-galat	-92.8161		Aktif
		Epigalokatekin	-79.5497	-92.7878	Tidak aktif
		Epikatekin-3-galat	-98.8874		Aktif
		Epikatekin	-78.6327		Tidak aktif
		Katekin	-80.8683		Tidak aktif
		Kuersetin	-69.4521		Tidak aktif
		Kaempferol	-74.7001		Tidak aktif
		Mirisetin	-77.8231		Tidak aktif
		Kafein	-66.2206		Tidak aktif
		Teaflavin	-101.215		Aktif

amino nya. Sehingga dari analisis dapat diketahui asam amino yang aktif dalam binding site reseptor⁽⁷⁾.

Dari data di atas diperoleh 3 senyawa uji yang diprediksi aktif dalam mengaktivasi reseptor PPAR- γ yaitu epigalokatekin-3-galat, epikatekin-3-galat, dan teaflavin. Hasil dari penelitian ini bersifat sebagai penelitian tahap awal untuk membantu penelitian studi *in vitro* dan *in vivo* dalam pendekatan mekanisme kerja untuk menentukan senyawa potensial yang akan digunakan dalam penelitian dan diuji coba sehingga penelitian lebih efisien dan efektif.

Pada senyawa yang dinyatakan inaktif tidak menutup kemungkinan diantara senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antiobesitas pada reseptor lain, namun pada penelitian ini aktivitas antiobesitas yang diuji ialah aktivasi reseptor PPAR- γ . Senyawa-senyawa inaktif tersebut ada kemungkinan memiliki aktivitas antiobesitas dengan mekanisme yang berbeda.

SIMPULAN

Terdapat 3 senyawa aktif yaitu epigalokatekin-3-galat, epikatekin-3-galat dan teaflavin sebagai antiobesitas dengan mekanisme kerja mengaktivasi PPAR- γ . Interaksi asam amino yang dapat meningkatkan afinitas senyawa ligan pada reseptor PPAR- γ , yaitu serin dan arginin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kurdanti W, Suryani I, Syamsiatun NH, et al. Faktor-faktor yang mempengaruhi kejadian obesitas pada remaja. *J Gizi Klin Indones*. 2015;11(4):179-190. doi:10.22146/ijcn.22900.
2. Krisanti D. Herbal Medicine for Obesity. *J Med Planta*. 2011;1(3):91
3. Soegondo, S. Farmakoterapi pada Pengendalian Glikemia Diabetes Melitus Tipe 2. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi V: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 1134 hlm; 2009.
4. Struktur Kimia Ligan Protein PPAR- γ . Diakses pada tanggal 28 November 2017 pukul 19.00 WIB (<https://www.rcsb.org/structure/2ATH>)
5. Pranowo H D. Peran Kimia Komputasi dalam Desain Molekul Obat. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada. 2009.
6. Dewi K. Pengaruh Ekstrak Teh Hijau (*Camellia Sinensis* var. *Assamica*) Terhadap Penurunan Berat Badan, kadar Trigliserida dan Kolesterol Total Pada Tikus Jantan Galur Wistar. *Jkm*. 2008;7(2):155-162.
7. Aplikasi Pymol diakses pada tanggal 23 November 2017 pukul 06.00 WIB (<https://mmmf.rcsb.org/>)