

Penapisan Virtual dan Elusidasi Moda Ikatan Analog Kurkumin pada Enzim Siklooksigenase-2 Menggunakan Protokol EE_COX2_V.1.0

(Virtual Screening and Bonding Mode Elucidation of Curcumin Analogue in Cyclooxygenase-2 Enzyme Using EE_COX2_V.1.0 Protocol)

ESTI MUMPUNI^{1,2*}, ARIEF NURROCHMAD¹, UMAR ANGGARA JENIE¹,
HARNO DWI PRANOWO¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara, Yogyakarta.

²Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640.

Diterima 6 Juli 2015, Disetujui 5 Agustus 2015

Abstrak: Kurkumin adalah senyawa fenol berwarna kuning yang terkandung dalam *Curcuma longa*. Kurkumin diketahui memiliki aktivitas biologi antara lain sebagai inhibitor beberapa enzim metabolisme. Modifikasi struktur kurkumin telah banyak dilakukan. Pada penelitian ini dilakukan penapisan virtual dan elusidasi moda ikatan analog kurkumin menggunakan EE_COX2_V.1.0 sebagai protokol skrining virtual berbasis struktur yang telah tervalidasi. Pengaturan simulasi *docking* dilakukan menggunakan berbagai aplikasi yang terintegrasi seperti SPORES, PLANTS, *BKchem*, *OpenBabel* dan *Pymol* yang dapat mengidentifikasi senyawa inhibitor siklooksigenase-2 (COX-2). Dari hasil penapisan virtual didapatkan senyawa demetoksikurkumin dengan 3 residu asam amino dan 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion dengan 6 residu asam amino aktif *in silico* sebagai inhibitor COX-2.

Kata kunci: Penapisan virtual, inhibitor, COX-2.

Abstract: Curcumin is the yellow colored phenolic compounds contained in *Curcuma longa*. Curcumin is known to have biological activity as an inhibitor of some metabolic enzymes. The structure modification of curcumin has been done in many ways. In this research, virtual screening and bonding mode elucidation of curcumin analogue were done using EE_COX2_V.1.0 as validated structure based virtual screening (SBVS) protocol. Docking simulations were done using a variety of integrated applications such as, SPORES, PLANTS, *BKchem*, *OpenBabel* and *Pymol* which are able to identify cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor substances. From the virtual screening using EE_COX2_V.1.0 protocol, demetoxicurcumin with 3 active amino acid residues and 1,7-bis(3-metoxiphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dion with 6 amino acid residues were obtained as active COX-2 inhibitors.

Keywords: Virtual screening, inhibitor, COX-2.

PENDAHULUAN

ENZIM siklooksigenase-2 (COX-2) adalah enzim yang bertanggung jawab pada mediator inflamasi, disisi lain enzim tersebut memiliki hubungan yang kuat dengan proses pembentukan kanker. Sampai

saat ini, di dalam tubuh ada dua jenis COX yang merupakan bentuk isoform yaitu COX-1 dan COX-2 yang keduanya memiliki aktivitas yang sama sebagai katalis sintesis prostanoide dari asam arakidonat^(1,2).

Enzim siklooksigenase tipe 1 (COX-1) secara konstitutif diekspresi secara nyata oleh hampir seluruh tubuh mamalia pada tingkat konstan dan hanya akan mengalami kenaikan sedikit bila ada stimulasi karena faktor pertumbuhan atau selama masa diferensiasi,

* Penulis korespondensi, Hp. 08151663201
e-mail:esti_mumpuni@yahoo.com

sedangkan COX-2 diekspresi hanya oleh sebagian saja dari jaringan dalam tingkat yang rendah. Enzim siklooksigenase tipe 2 (COX-2) biasanya akan diekspresi lebih banyak karena adanya rangsang mitogen, sitokin dan promotor tumor yang bisa diakibatkan oleh adanya kerusakan sel atau bentuk stress yang lain^(1,2).

Pada sel-sel kanker, ekspresi berlebih COX-2 yang berakibat pada produksi berlebih prostanoid akan meningkatkan proliferasi sel dan mencegah apoptosis. Di samping itu, produksi berlebih enzim siklooksigenase tipe 2 (COX-2) pada sel-sel kanker kolon juga ikut memacu proses angiogenesis. Peristiwa ini disebabkan oleh produk katalisis COX-2 akan memacu aktivitas faktor angiogenik^(1,2).

Adanya penghambatan terhadap enzim COX, maka produksi berlebih prostanoid dapat dicegah dan akan mengurangi efek inflamasi. Pada sel kanker, hal tersebut akan mengurangi proliferasi sel dan mencegah apoptosis. Pada jalur ini, proses apoptosis dipacu karena adanya akumulasi asam arakidonat akibat penghambatan enzim COX. Akumulasi asam arakidonat akan mengaktifkan enzim sphingomielinase yang mengkatalisis pembentukan seramid dari sphingomielin. Adapun seramid merupakan pemacu positif proses apoptosis^(1,2).

Selama dua dekade belakangan ini, penelitian tentang kurkumin dan sintesis analognya sebagai bahan aktif untuk beberapa penyakit telah banyak dilakukan, di antaranya adalah penelitian Nurfina *et al* (1997), telah berhasil mensintesis 16 turunan kurkumin dengan memodifikasi cincin aromatisnya dan disintesis dengan metode Pabon. Dari hasil uji antiinflamasi gugus 4-OH dan alkilasi pada posisi 3,5, senyawa kurkumin terbukti memberikan aktivitas antiinflamasi akut yang potensial⁽³⁾. Sardjiman *et al* (1997) memodifikasi gugus beta diketo menjadi gugus monoketo, serta analog siklik lingkaran lima dan lingkaran enam dengan gugus 4-OH⁽⁴⁾. Supardjan *et al* (1999) melakukan modifikasi kurkumin dengan menghasilkan beberapa seri senyawa 4-arkilkurkumin dan 4-alkilkurkumin⁽⁵⁾.

Metode *in silico* analog dengan *in vitro* dan *in vivo*, karena pemanfaatan komputer dalam studi penemuan obat. Pendekatan *skrining* virtual atau penapisan maya digunakan dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa aktif berdasarkan target struktur enzim tertentu, sehingga dalam penyebutannya digunakan istilah *Structure Based Virtual Screening* (SBVS), dimana simulasi *docking* molekul sering digunakan sebagai tulang punggung dalam pembangunan protokol SBVS. *Molecular docking*, yang digunakan dalam studi SBVS, dianggap sebagai cara yang efisien dalam penemuan obat. Protokol SBVS dalam penelitian ini

adalah EE_COX2_V.1.0. yang merupakan protokol tervalidasi⁽⁶⁾ dan dibangun untuk mengidentifikasi senyawa inhibitor COX-2. Protokol EE_COX2_V.1.0 memiliki nilai RMSD sebesar 0,525 Å, nilai EF max tak terhingga, nilai EF1 di atas Huang dan Yuniarti, yaitu 43,4 dan nilai EF20 4,0. Sehingga protokol ini dikategorikan “sangat baik” oleh Huang *et al* (2006) dan Yuniarti *et al* (2011)^(7,8). Hasil penelitian diperoleh senyawa analog kurkumin yang mempunyai aktivitas sebagai penghambat COX-2 selektif secara *in silico* sehingga bisa dianalisis lebih lanjut potensi senyawa analog kurkumin yang bisa dijadikan kandidat obat golongan *coxib*.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Struktur 2D dari senyawa uji; senyawa analog kurkumin dari alam: kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin; senyawa analog kurkumin hasil sintesis Nurfina *et al* (1997)⁽³⁾; 1,7-difenil-1,6-heptadiena-3,5-dion⁽³⁾ yang disajikan pada Tabel 1; senyawa analog kurkumin hasil sintesis Sardjiman *et al* (1997)⁽⁴⁾; derivat dibenzilsikloheksanon, derivat dibenzilsiklopentanon, derivat 1,5-difenil-1,4-pentadien-3-on⁽⁴⁾ yang disajikan pada Tabel 1; senyawa analog kurkumin hasil sintesis Supardjan *et al* (1999)⁽⁵⁾; 4-metil-kurkumin, 4-etilkurkumin, 4-*n*-propilkurkumin, 4-isopropilkurkumin, 4-*n*-butilkurkumin, 4-benzilkurkumin, 4-fenil kurkumin, dan 4-(*p*-metoksifenil) kurkumin, 4-fenilkurkumin, 4-(*p*-fluorofenil), 4-(*p*-metoksifenil), 4-(*p*-metilfenil), 4-(*m*-trifluorometilfenil) dan 4-(*o*,*p*-dinitrofenil) kurkumin; struktur 2D ligan pembanding ZINC03814604 yang terintegrasi dalam protokol EE_COX2_V.1.0⁽⁶⁾; perangkat keras; satu set komputer dengan prosesor Intel® Core™ i3-2350 CPU @2,30 GHz 2,30GHz, RAM 4 GB, 64 bit *operating system*; perangkat lunak: sistem operasi LINUX Ubuntu 10.04 LTS – *the lucid lynx- released in* April 2011, dapat diunduh di: <http://releases.ubuntu.com/lucid/> SPORES (*Structure Protonation and REcognition System*) versi untuk LINUX: <http://www.tcd.uni-konstanz.de/index.php>, PLANTS (*Protein-Ligand ANT System*) 1.2 versi untuk LINUX <http://www.tcd.uni-konstanz.de/index.php> BKchem 0.13.0: <http://www.bkchem.zirael.org/index.html>, *Open Babel* Versi 2.3.0: <http://openbabel.org/>, PyMOL (*Python-Enhanced Molecular Graphics Tool*): <http://www.pymol.org/>, *software statistical analysis R* i386 3.0.1: <http://www.r-project.com>. Protokol SBVS EE_COX2_V.1.0⁽⁶⁾.

METODE. Pada terminal, digunakan aplikasi EE_COX2_V.1.0 dengan *mode command line interface* dengan perintah: `./EE_COX2_V.1.0(1)`, maka secara otomatis akan muncul jendela *BKchem*.

Tabel 1. Skor senyawa uji dan ligan pembanding.

Nama senyawa	Skor senyawa uji (ChemPLP)	Pembanding (ChemPLP)	Aktivitas penghambatan COX-2 secara <i>in silico</i>
Senyawa analog kurkumin dari alam			
Kurkumin	-374,99 ± 6,1904	-380,86 ± 0,0102	Inaktif
Demetoksikurkumin	-381,85 ± 0,9569	-380,86 ± 0,0280	Aktif
Bidemetoksikurkumin	-363,87 ± 4,5290	-380,85 ± 0,0321	Inaktif
Senyawa turunan 1,7-difenil-1,6-heptadien-3,5-dion ⁽³⁾			
1,7-diphenil-1,6-heptadien-3,5-dion	-375,70 ± 0,3497	-380,86 ± 0,0185	Inaktif
1,7-bis(4-hidroksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-373,80 ± 4,8629	-380,86 ± 0,004	Inaktif
1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-371,06 ± 6,2915	-380,857 ± 0,0327	Inaktif
1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-385,08 ± 0,0301	-380,87 ± 0,0301	Aktif
1,7-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-354,70 ± 3,5903	-380,870 ± 0,0402	Inaktif
1,7-bis(4-hidroksi-3,5-dimetilfenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-365,13 ± 3,357	-380,85 ± 0,0178	Inaktif
1,7-bis(3,5-dietil-4-hidroksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-363,87 ± 4,5290	-380,85 ± 0,0321	Inaktif
1,7-bis(4-hidroksi-3,5-disopropilfenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-330,005 ± 6,8445	-380,875 ± 0,0362	Inaktif
1,7-bis(2-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-380,87 ± 2,676	-380,867 ± 0,0238	Inaktif
1,7-bis(4-klorofenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-367,41 ± 0,9324	-380,85 ± 0,0243	Inaktif
1,7-bis(4-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-369,65 ± 0,0457	-380,89 ± 0,0410	Inaktif
1,7-bis(4-metilfenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-364,80 ± 1,9296	-380,88 ± 0,0320	Inaktif
1,7-bis(3,4-dimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-365,59 ± 2,0788	-380,86 ± 0,0467	Inaktif
1,7-bis(3,4-dibenziloksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-340,78 ± 7,5432	-380,89 ± 0,0501	Inaktif
1,7-bis(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	-354,49 ± 2,2900	-380,88 ± 0,0175	Inaktif
Senyawa turunan dibenzilsikloheksanon ⁽⁴⁾			
2,6-bis(4-hidrosibenzil)sikloheksanon	-334,61 ± 2,5162	-380,89 ± 0,0254	Inaktif
2,6-bis(4-hidroksi-3-metoksibenzil)sikloheksanon	-331,65 ± 5,2988	-380,87 ± 0,0272	Inaktif
2,6-bis(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzil)sikloheksanon	-308,46 ± 0,7584	-380,86 ± 0,027	Inaktif
2,6-bis(3,5-dietil-4-hidroksibenzil)sikloheksanon	-285,52 ± 2,1905	-380,88 ± 0,0192	Inaktif
2,6-bis(4-hidroksi-3,5-diisopropilbenzil)sikloheksanon	-233,25 ± 6,7770	-380,743 ± 0,2457	Inaktif
2,6-bis(3,5-di-tert-butyl-4-hidroksibenzil)sikloheksanon	-331,9 ± 2,3517	-380,87 ± 0,0354	Inaktif
2,6-bis(4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzil)sikloheksanon	-302,21 ± 0,8502	-380,86 ± 0,0214	Inaktif
2,6-bis(3,5-dikloro-4-hidroksibenzil)sikloheksanon	-348,2 ± 0,2661	-380,87 ± 0,0291	Inaktif
Senyawa turunan dibenzilsiklopentanon ⁽⁴⁾			
2,5-bis(4-hidroksibenzil)siklopentanon	-329,49 ± 6,8256	-380,902 ± 0,0182	Inaktif
2,5-bis(4-hidroksi-3-metoksibenzil)siklopentanon	-353,19 ± 16,9383	-380,87 ± 0,0330	Inaktif
2,5-bis(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzil)siklopentanon	-343,2 ± 3,5354	-380,78 ± 0,1543	Inaktif
2,5-bis(3,5-dietil-4-hidroksibenzil)siklopentanon	-321,76 ± 2,4290	-380,90 ± 0,0400	Inaktif
2,5-bis(4-hidroksi-3,5-diisopropilbenzen)siklopentanon	-307,66 ± 4,7801	-380,86 ± 0,0210	Inaktif
2,5-bis(3,5-di-tert-butyl-4-hidroksibenzil)siklopentanon	-301,03 ± 1,8168	-380,86 ± 0,0396	Inaktif
2,5-bis(4-hidroksi-3,5-dimetoksibenzil)siklopentanon	-252,10 ± 5,1250	-380,88 ± 0,0311	Inaktif
2,5-bis(3,5-dikloro-4-hidroksibenzil)siklopentanon	-302,21 ± 0,8502	-380,86 ± 0,0214	Inaktif
Senyawa turunan 1,5-difenil-1,4-pentadien-3-on ⁽⁴⁾			
1,5-bis(4-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on	-366,08 ± 1,3178	-380,90 ± 0,0249	Inaktif
1,5-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on	-365,22 ± 1,7106	-380,89 ± 0,1966	Inaktif
1,5-bis(4-hidroksi-3,5-dimetilfenil)-1,4-pentadien-3-on	-354,74 ± 1,0259	-380,88 ± 0,0401	Inaktif
1,5-bis(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-1,4-pentadien-3-on	-346,77 ± 1,0513	-380,86 ± 0,0525	Inaktif
1,5-bis(3,5-dikloro-4-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on	-349,14 ± 0,5958	-380,88 ± 0,0201	Inaktif
1,5-bis(3'-etoksi-4'-hidroksifenil)-1,4-pentadien-3-on ⁽⁶⁾	-364,87 ± 1,7106	-380,86 ± 0,0706	Inaktif
Senyawa turunan kurkumin hasil sintesis ⁽⁵⁾			
4-metil-kurkumin	-351,70 ± 5,3600	-380,87 ± 0,0139	Inaktif
4-etil-kurkumin	-354,33 ± 6,6321	-380,88 ± 0,0082	Inaktif
4-n-propil-kurkumin	-346,39 ± 2,3127	-380,88 ± 0,0038	Inaktif
4-isopropil-kurkumin	-341,23 ± 7,7856	-380,88 ± 0,0256	Inaktif
4-n-butil-kurkumin	-345,22 ± 3,3348	-380,87 ± 0,0204	Inaktif
4-fenil-kurkumin	-339,65 ± 3,0046	-380,88 ± 0,0166	Inaktif
4-(p-fluorofenil)-kurkumin	-337,63 ± 3,7818	-380,87 ± 0,0309	Inaktif
4-(p-metoksifenil)-kurkumin	-304,74 ± 3,6839	-380,86 ± 0,0376	Inaktif
4-(p-metilfenil)-kurkumin	-294,20 ± 5,0429	-380,89 ± 0,0361	Inaktif
4-(m-trifluorometilfenil)-kurkumin	-324,25 ± 5,7057	-380,87 ± 0,0338	Inaktif
4-(o,p-dinitrofenil)-kurkumin	-290,58 ± 18,99	-380,88 ± 0,0441	Inaktif
Senyawa golongan Coxib			
Celecoxib	-396,822 ± 1,4060	-380,885 ± 0,01825	Aktif
Valdecoxib	-385,931 ± 0,5681	-380,916 ± 0,05239	Aktif
Rofecoxib	-383,804 ± 0,5845	-380,887 ± 0,018771	Aktif
Parecoxib	-386,627 ± 1,4916	-380,893 ± 0,30022	Aktif

Konstruksi Senyawa Uji dengan Software BKchem. Di jendela *BKchem* digambar struktur 2D senyawa uji. Setelah selesai menggambar struktur 2D, senyawa uji berkas diekspor dengan klik *File>Export>Molfile* agar data yang disimpan dalam bentuk teks yang dapat dibaca oleh PLANTS maupun aplikasi lainnya. Pastikan ada setidaknya satu bagian dari gambar struktur 2D yang dipilih sebelum prosedur *export* ini dijalankan. Jika prosedur benar, akan muncul jendela *export molfile* yang sudah disetting dengan nama uji *mol*. Setelah itu aplikasi *EE_COX2_V.1.0* akan memberikan hasil berupa *score ChemPLP* yang tersimpan dengan nama *file*: hasil.txt. Selain skor senyawa uji, pada *file* hasil tersebut didapati pula *score ChemPLP* senyawa pembanding. Langkah tersebut dilakukan dengan replikasi setidaknya tiga kali.

Uji Statistika One-Tailed t-Test. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa uji memiliki skor yang lebih baik dibandingkan senyawa pembanding. Proses ini memberikan informasi apakah senyawa uji aktif atau inaktif secara *in silico* menurut protokol SBVS *EE_COX2_V.1.0*.⁽⁶⁾ Dipilih senyawa-senyawa representatif untuk divisualisasi menggunakan *PyMOL* untuk dilakukan elusidasi ikatan pada *binding site reseptor*. Dilakukan pula uji kontrol positif menggunakan senyawa dari obat golongan *coxib*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil simulasi *docking* terhadap senyawa uji dan ligan pembanding, terdapat 2 senyawa uji yang diprediksi aktif terhadap COX-2. Senyawa pertama adalah desmetoksi kurkumin dari golongan analog kurkumin dengan rata-rata skor $-381,85 \pm 0,9569$, dan senyawa kedua adalah 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion dari golongan hasil sintesis Nurfina *et al* (1997) dengan rata-rata skor $-385,08 \pm 3,3577$. Setelah skor masing-masing senyawa uji dan ligan pembanding didapatkan, dilakukan analisis statistik *one-tailed paired t-test* pada setiap senyawa uji berikut ligan pembandingnya. Pada pengujian ini apabila didapatkan *p-value* lebih dari 0,005 maka dapat dinyatakan skor senyawa uji tidak berbeda dengan senyawa pembanding. Senyawa yang dinyatakan aktif secara *in silico* yaitu desmetoksi kurkumin memiliki *p-value* 0,09968 dan 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion memiliki *p-value* 0,08176. Berdasarkan *p-value* yang didapatkan dari kedua senyawa aktif tersebut menunjukkan bahwa kedua senyawa uji tidak berbeda dengan ligan pembanding seperti terlihat pada Tabel 1.

Pada proses elusidasi moda ikatan senyawa, bidesmetoksi kurkumin dan 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion dijadikan senyawa

representatif aktif karena memiliki skor lebih kecil (lebih negatif) dari skor ligan pembanding. Turut dilakukan pemilihan 1 senyawa representatif tidak aktif yang berasal dari golongan yang sama dari senyawa representatif aktifnya. Senyawa representatif tidak aktif pada analog kurkumin adalah senyawa bidesmetoksi kurkumin, sedangkan pada golongan golongan hasil sintesis Nurfina *et al* (1997) adalah 1,7-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion. Selanjutnya, dilakukan elusidasi moda ikatan pada senyawa representatif aktif maupun tidak aktif menggunakan aplikasi *pyMOL*, untuk melihat interaksi asam-asam amino pada *binding site* senyawa-senyawa tersebut. Didapatkan 25 interaksi asam amino pada senyawa representatif aktif sedangkan pada senyawa representatif tidak aktif dari golongan analog kurkumin didapatkan 22 interaksi asam amino. Pada senyawa representatif aktif golongan Nurfina *et al* (1997) didapatkan 30 interaksi asam amino, sedangkan 24 interaksi asam amino. Residu asam amino yang berinteraksi dengan asam amino aktif dapat dilihat pada Tabel 2.

Residu asam amino yang ada di aktif maupun di inaktif pada senyawa representatif aktif pada golongan analog kurkumin yaitu, ARG106, ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLY512, HIS75, ILE503, LEU338, LEU345, LEU370, LEU517, LEU517, MET508, PHE367, PHE504, SER339, SER516, THR79, TYR341, TYR371, TRP373, VAL330, VAL335, VAL509.

Sedangkan residu asam amino yang ada di aktif maupun di inaktif pada senyawa representatif aktif pada golongan sintesis Nurfina *et al* (1997) yaitu, ARG106, ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLU510, GLY512, HIS75, ILE503, LEU78, LEU338, LEU345, LEU370, LEU517, LEU 511, MET508, PRO71, PHE367, PHE504, SER339, SER516, TYR334, TYR341, TYR371, TRP373, VAL74, VAL102, VAL330, VAL335, VAL509.

Residu asam-asam amino tersebut tidak mempengaruhi aktifitas senyawa representatif aktif. Pada asam amino representatif aktif terdapat residu asam amino yang tidak terdapat pada representatif tidak aktif pada golongan analog kurkumin yaitu, ARG106, LEU345, THR79 sedangkan pada golongan sintesis Nurfina *et al* (1997) yaitu GLU510, LEU78, PRO71, TYR334, VAL74, VAL102. Residu asam amino tersebut berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan COX-2. Interaksi ligan-reseptor terjadi karena adanya ikatan hidrogen, *Van Deer Waals*, dan interaksi elektrostatik. Aplikasi *PyMOL* dapat mengetahui ikatan hidrogen antara ligan dengan asam amino pada *binding pocket* reseptor. Semakin kecil jarak ikatan, maka semakin besar afinitas ikatan antara

Tabel 2. Asam amino yang berinteraksi didalam senyawa representatif.

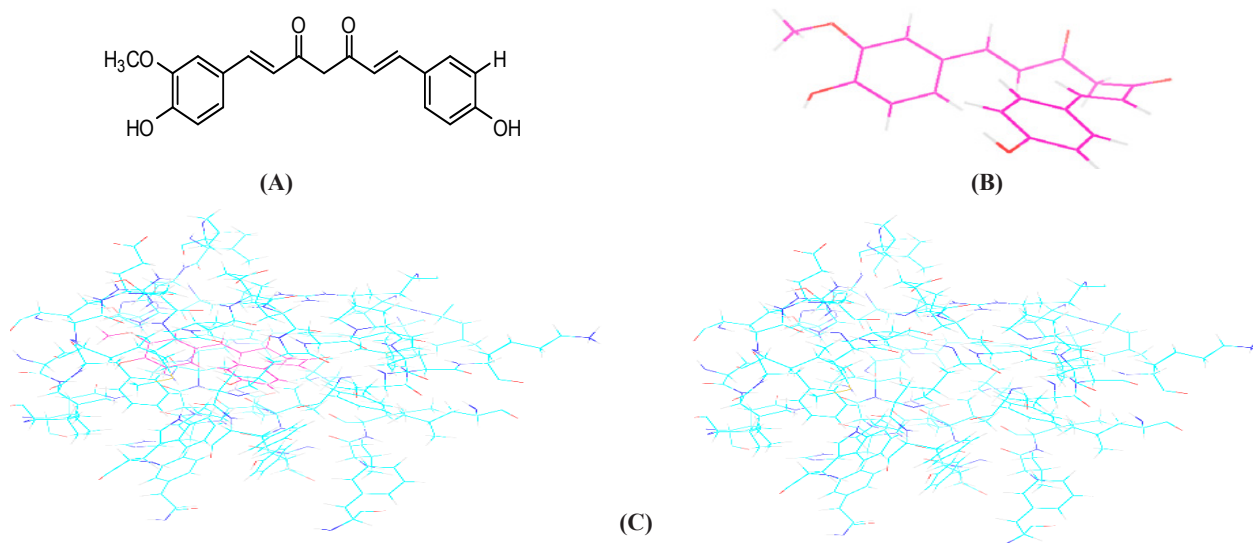
No.	Golongan	Senyawa representatif	Asam amino yang berikatan
1.	Analog kurkumin dari alam	Demetoksikurkumin (aktif)	ARG106, ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLY512, HIS75, ILE503, LEU338, LEU345, LEU370, LEU517, LEU517, MET508, PHE367, PHE504, SER339, SER516, THR79, TYR341, TYR371, TRP373, VAL330, VAL335, VAL509
		Bidesmetoksikurkumin (inaktif)	ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLY512, HIS75, ILE503, LEU338, LEU370, LEU517, LEU517, MET508, PHE367, PHE504, SER 339, SER516, TYR341, TYR371, TRP373, VAL330, VAL335, VAL509
2.	Senyawa Turunan 1,7-Difenil-1,6-heptadien-3,5-dion	1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion (aktif)	ARG106, ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLU510, GLY512, HIS75, ILE503, LEU78, LEU338, LEU345, LEU370, LEU517, LEU511, MET508, PRO71, PHE367, PHE504, SER339, SER516, TYR334, TYR341, TYR371, TRP373, VAL74, VAL102, VAL330, VAL335, VAL509
		1,7-bis(3,4,5-trimetoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion (inaktif)	ARG106, ARG499, ALA502, ALA513, GLN178, GLY512, HIS75, ILE503, LEU338, LEU345, LEU370, LEU517, LEU 511, MET508, PHE367, PHE504, SER339, SER516, TYR341, TYR371, TRP373, VAL330, VAL335, VAL509

ligan dengan reseptor. Sehingga jarak ikatan ligan dengan asam amino reseptor akan mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor.

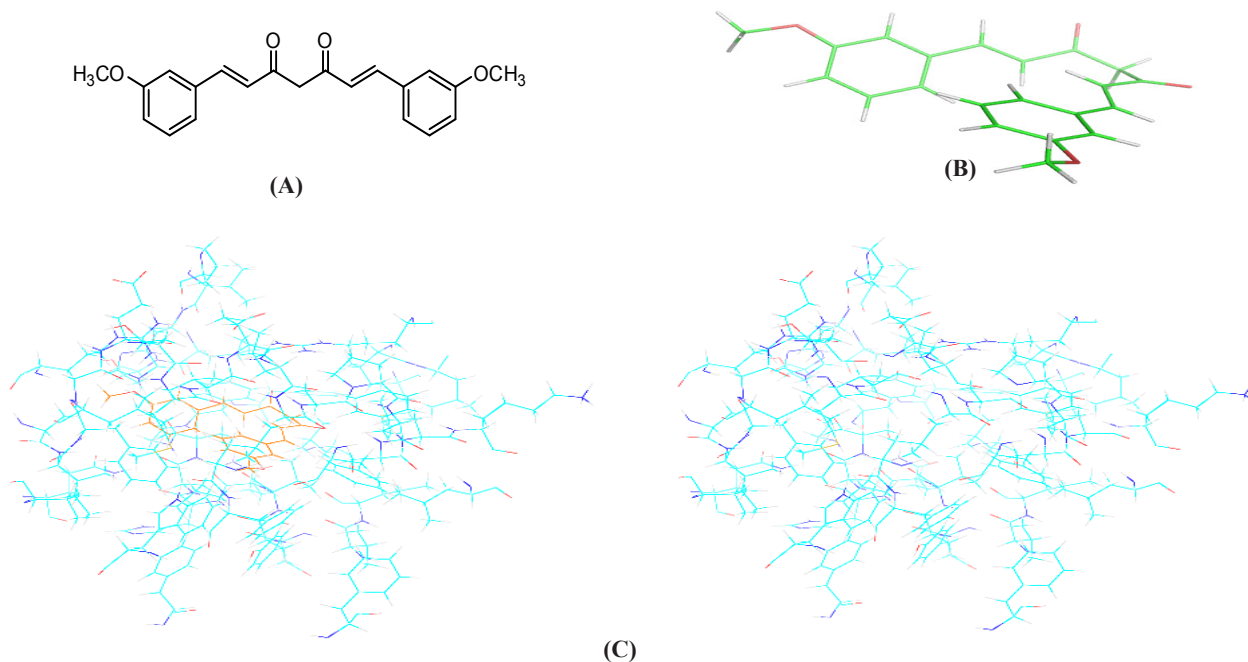
Setelah proses elusidasi moda ikatan terhadap senyawa representatif aktif dan senyawa representatif tidak aktif, dilakukan visualisasi secara 3D senyawa representatif aktif dengan aplikasi *PyMOL*.

Terlihat pada Gambar 1 senyawa representatif aktif dari analog kurkumin yang berasal dari alam dalam tampilan 2D, 3D serta posisi senyawa tersebut dalam *binding pocket* COX-2.

Senyawa representatif aktif yang berasal dari hasil sintesa Nurfina *et al* (1997) ditampilkan secara 2D, 3D serta ditunjukkan pula posisi senyawa tersebut dalam



Gambar 1. Tampilan senyawa representatif aktif dari demetoksikurkumin dalam tampilan 2D (A), 3D (B) serta posisi senyawa tersebut dalam *binding pocket* COX-2 (C).



Gambar 2. Tampilan senyawa representatif aktif yang berasal dari 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion dalam tampilan 2D (A), 3D (B) serta posisi senyawa tersebut dalam *binding pocket* COX-2 (C).

Tabel 3. Senyawa yang direkomendasi sebagai penghambat selektif COX-2.

No.	Nama senyawa	Struktur 2 dimensi
1.	Demetoksikurkumin	
2.	1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion	

binding pocket COX-2 pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 1 dan 2, penggambaran *pose* 3D senyawa representatif aktif ditampilkan dalam jarak 4 Å. Kedua senyawa representatif aktif yang telah dielusidasi dan divisualisasi tersebut selanjutnya dijadikan senyawa yang direkomendasikan untuk diteliti lebih lanjut sebagai penghambat selektif COX-2 seperti terlihat pada Tabel 3.

SIMPULAN

Dari 52 senyawa uji yang merupakan senyawa kurkuminoid dari alam dan senyawa turunan hasil sintesis Nurfina *et al* (1997), Sardjiman *et al* (1997), Supardjan *et al* (1999) terdapat 2 senyawa yang diprediksi aktif sebagai inhibitor COX-2 menggunakan protokol tervalidasi EE_COX2_V.1.0 yaitu, senyawa demetoksikurkumin dan 1,7-bis(3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion. Hasil elusidasi moda ikatan mengindikasikan bahwa untuk senyawa turunan dan analog kurkumin interaksi dengan residu-residu asam

amino berikut dapat meningkatkan aktivitas inhibitor COX-2 yaitu, ILE118, LEU123, LEU129, SER379, LEU390, MET119, MET528, PHE363, PRO534, SER125, SER127, SER339, SER379, TYR391.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agarwal S, Reddy GV, Reddanna P. Eicosanoids in inflammation and cancer: the role of COX-2. *Expert Rev Clin Immunol*. 2009;5:145-65.
2. Arief N. Pandangan baru kurkumin dan aktivitasnya sebagai antikanker. *Review. Biofarmasi*. 2004. 2(2): 75-80.
3. Nurfina AN, Reksohadiprojo MS, Timmerman H, Jenie UA, Sugiyanto D, Van der Goot H. Synthesis of some symmetrical curcumin derivatives and their anti-inflammatory activity. *Eur J Med Chem*. 1997. 32: 321-28.
4. Sardjiman. Synthesis of some new series of curcumin analogues, antioxydative activity and structure activity relationship [dissertation]. Yogyakarta: Gadjah Mada

- University; 2000.
5. Supardjan AM, Muhammad D. Hubungan struktur dan aktivitas sitotoksik turunan kurkumin terhadap sel myeloma. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2005. 100-4.
 6. Mumpuni E, Nurrochmad A, Pranowo HD, Jenie UA, Istyastono EP. Construction and validation of the structure based virtual screening protocols with PDB code of 3LN1 to discover cyclooxygenase-2 inhibitors. *The First International Conference on Pharmaceutics and Pharmaceuticals Science (ICPPS)*, Surabaya, 2014.
 7. Huang N, Shoichet BK, Irwin JJ. Benchmarking sets for molecular docking. *J Med Chem*. 2006. 49:6789-801.
 8. Yuniarti N, Ikawati Z, Istyastono EP. The importance of ARG513 as a hydrogen bond anchor to discover COX-2 inhibitors in a virtual screening campaign. *Bioinformation*. 2011. 6(4):164-6.