

ANALISIS VIRTUAL SCREENING SENYAWA ALAMI KANDIDAT AGONIS PPAR

Ritia Rahmawati¹, Mohamad Amin², Umie Lestari²

¹Pascasarjana Universitas Negeri Malang, Jalan Semarang No 5, Malang

²Program Studi Pendidikan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang, Jalan Semarang No 5, Malang
E-mail korespondensi: ritia_99@yahoo.com

Abstrak: Senyawa alami pada tanaman berpotensi memiliki aktivitas antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan anti penuaan. Penuaan merupakan suatu proses yang bersifat universal, progresif, endogen, ireversibel, dan merusak. Agonis berperan dalam aktivitas PPAR- γ terkait patofisiologi osteoporosis yang berkaitan dengan usia dengan meningkatkan jumlah adiposit dalam sumsum tulang dan penurunan jumlah osteoblas, serta penyakit terkait usia, seperti diabetes tipe II, obesitas, atherosklerosis, dan penyakit kardiovaskular. Pioglitazone merupakan salah satu derivat Thiazolidinediones TZD. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk mencari senyawa alami kandidat agonis PPAR- γ yang memiliki pola pengikatan yang sama dengan senyawa pioglitazone, dimana pioglitazone telah diketahui sebagai agonis dari PPAR- γ dan termasuk dalam kelompok thiazolidinediones. *Ligand binding domain* dan *entry code* dari PPAR- γ didapatkan dari UniPort. *Entry code* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2XKW. *Pdb file* dari 2XKW diperoleh dari *the RCSB PDB* akan digunakan untuk validasi struktur 3D dan *virtual screening*. Validasi struktur 3D PPAR- γ menggunakan *SAVES webserver*. *Virtual screening* (VS) yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan *MTiOpenScreen webserver*, dan *software* Pyrx 0,8. Hasil *virtual screening* divisualisasikan dengan *software* PyMol dan LigPlot. Berdasarkan *binding affinity* dan hasil interaksi dengan menggunakan *software* PyMol dan LigPlot disimpulkan bahwa senyawa ochnaflavone dengan kode ZINC28462577 memiliki potensi sebagai kandidat agonis PPAR- γ karena sama-sama mengikat Cys285 dan Arg288 melalui interaksi hidrofobik.

Kata Kunci: Penuaan, PPAR- γ , *Virtual Screening*, Ochnaflavone

PENDAHULUAN

Senyawa alami pada tanaman berpotensi memiliki aktivitas antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan anti penuaan. Sebagai contoh, niazimicin pada *Moringa oleifera* memiliki aktivitas anti kanker (Pangastuti dkk, 2016). Isoflavone pada Leguminosae berperan dalam proses penuaan kulit. B-sitosterol pada kedelai, asam gamma-linolenik pada *Oeothera biennis*, dan scopoletin pada *Scopolia japonica* memiliki aktivitas anti inflamasi (Sharafzadeh, 2013). Karoten, karotenoid, flavonoid pada *Daucus carota*; terpenoid pada *Ocinnum sanctum*; vitamin C, tannin, polifenol pada *Embllica Officinalis*; serta polifenol, vitamin A, dan Vitamin C pada *Mangifera indica* memiliki aktivitas antioksidan (Gupta dkk, 2006).

Penuaan merupakan suatu proses yang bersifat universal, progresif, endogen, ireversibel, dan merusak (Erol, 2007; Vina dkk, 2007). Respon inflamasi atau peradangan akan terlalu aktif seiring proses penuaan. Respon inflamasi akan menyebabkan kerusakan jaringan dan kondisi patologis yang merugikan. Penurunan kemampuan antioksidan suatu jaringan akan mengakibatkan penuaan (Erol, 2007). Kerusakan DNA dapat mempercepat penuaan dan mengakibatkan sejumlah penyakit terkait penuaan, seperti skleroderma, osteoporosis, artherosclerosis, diabetes mellitus, dan jenis kanker tertentu (Kennedy dkk, 2011). Selain itu, proses penuaan yang bersifat merusak berhubungan dengan stres oksidatif (Vina dkk, 2007). Stres oksidatif merupakan faktor utama yang kontribusi terhadap proses penuaan dan penyakit terkait usia. Stres oksidatif juga menurunkan regulasi PPAR- γ (Erol, 2007).

Agonis berperan dalam aktivitas PPAR- γ terkait patofisiologi osteoporosis yang berkaitan dengan usia dengan meningkatkan jumlah adiposit dalam sumsum tulang dan penurunan jumlah osteoblas, serta penyakit terkait usia, seperti diabetes tipe II, obesitas, atherosklerosis, dan penyakit kardiovaskular (Erol, 2007; Kota dkk, 2005). Thiazolidinediones (TZD) adalah salah satu agonis PPAR- γ . TZD merupakan senyawa sintetik yang bersifat aktivator terhadap PPAR- γ (Kota dkk, 2005).

Pioglitazone merupakan salah satu derivat TZD. Pioglitazone berperan dalam penyakit diabetes mellitus tipe II (Larsen dkk, 2003; Grygiel-Gorniak, 2014); osteoarthritis dengan mengurangi katabolik dan respon peradangan kondrosit (Kalim dkk, 2014), penyakit ginjal non-diabetes dengan mengurangi proteinuria, meningkatkan GFR, menurunkan sclerosis, dan menurunkan penuaan sel (Yang dkk, 2009), serta diferensiasi adiposity (Hallakou dkk, 1997).

Penelitian ini ditujukan untuk mencari senyawa alami kandidat agonis PPAR- γ yang memiliki pola pengikatan yang sama dengan senyawa pioglitazone, dimana pioglitazone telah diketahui sebagai agonis dari PPAR- γ .

METODE PENELITIAN

a. Pemilihan dan Koleksi Struktur 3 Dimensi (3D) Protein PPAR-Gamma

Ligand binding domain dan *entry code* dari PPAR- γ didapatkan dari UniProt. *Entry code* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2XKW. Struktur 3D 2XKW diunduh dari *The RCSB PDB* (<http://www.rcsb.org>) dalam bentuk *PDB file*. Selanjutnya, *PDB file* dari 2XKW akan digunakan untuk validasi struktur 3D dan *virtual screening*

b. Validasi struktur 3 Dimensi (3D) protein PPAR-Gamma

Validasi struktur 3D protein PPAR-Gamma dengan menggunakan SAVES webservice (<http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/>). SAVES webservice terdiri atas 6 program, yaitu PROCHECK, WHATCHECK, ERRAT, VERIFY 3D, PROVE dan Ramachandran Plot

c. Virtual Screening

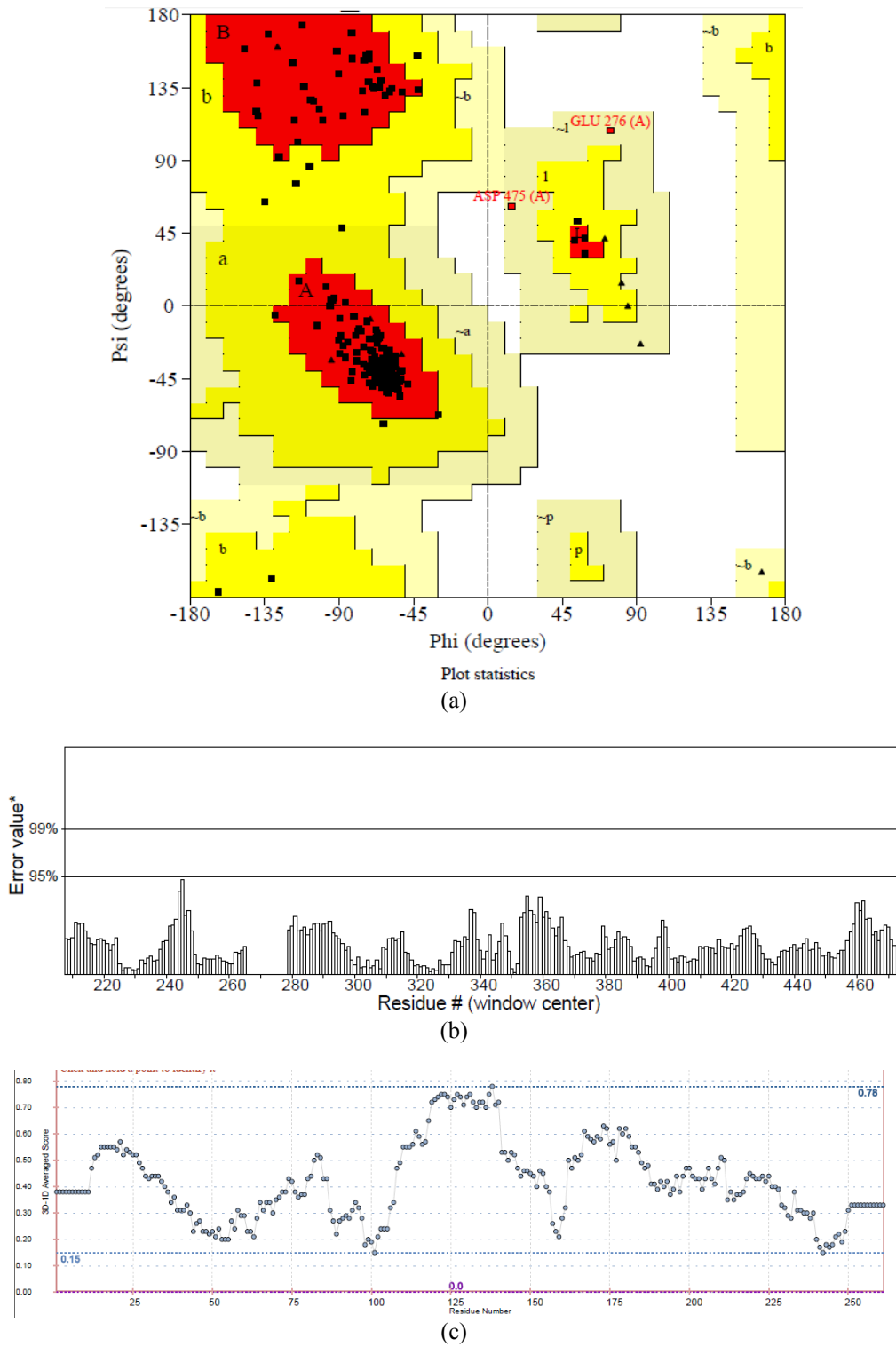
Virtual screening (VS) yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan MTiOpenScreen webservice (<http://mobyli.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen>) dan software Pyrx 0,8. MTiOpenScreen webservice menggunakan database yang telah disediakan dalam MTiOpenScreen webservice (IPPI-lib dan Diverse-lib), serta beberapa database senyawa alami yang berasal dari ZINC database (<https://zinc.docking.org/browse/catalogs/natural-products>, seperti *AfroDb*, *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism*, *Herbal Ingredients Targets*, *Indofine*, *NPACT database*, *Nubbe database*, *Specs database*, dan *UEFS database* sebagai database senyawa alami. Data hasil *virtual screening* menggunakan MTiOpenScreen akan di-*virtual screening* menggunakan software pyrx 0.8 untuk mengetahui *binding affinity* setiap senyawa alami.

d. Visualisasi Interaksi PPAR- γ dan Senyawa Alami Kandidat Agonis

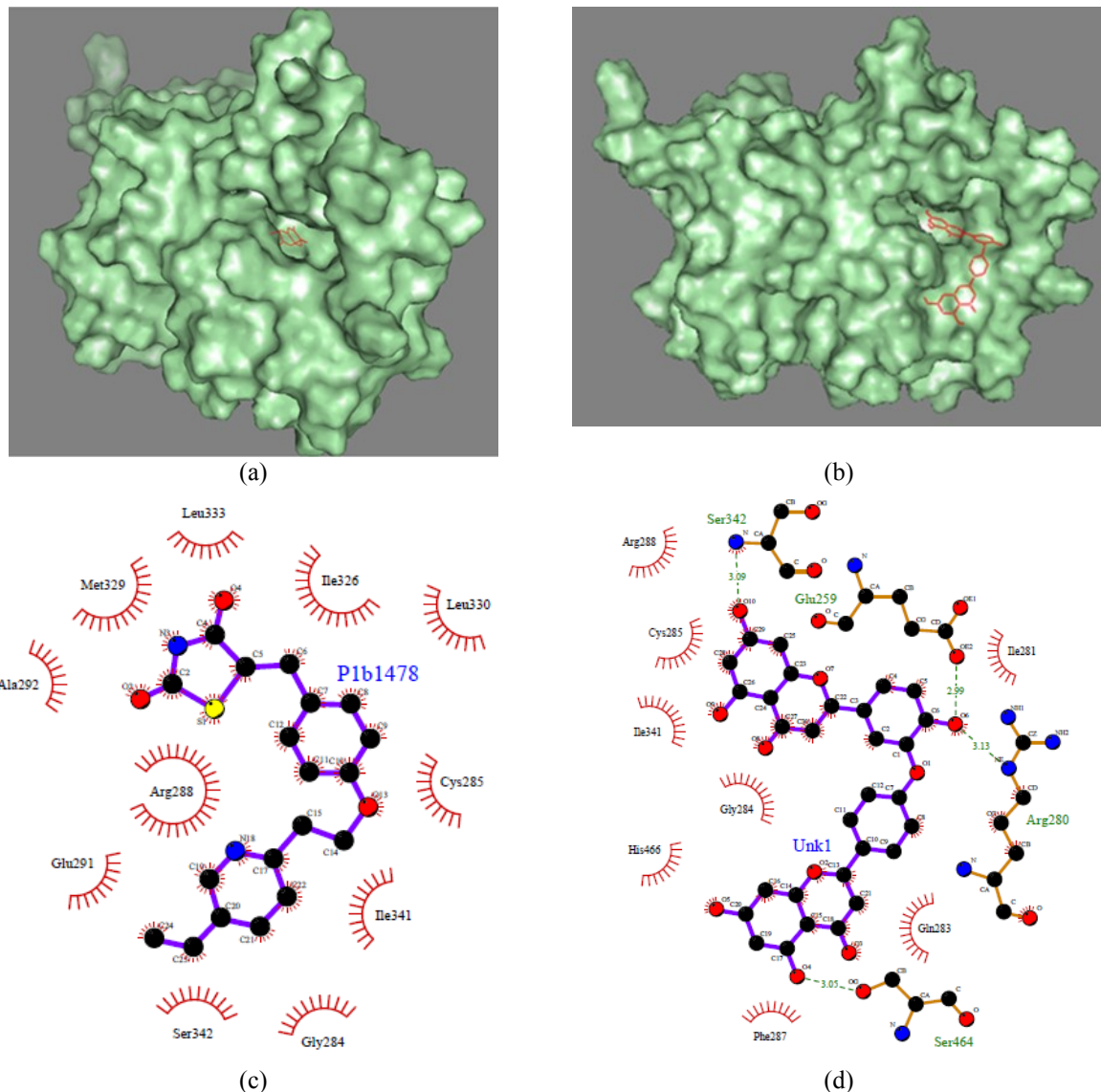
Visualisasi Interaksi PPAR- γ dan Senyawa Alami Kandidat Agonis menggunakan LigPlot (Laskowski, 2011) dan software PyMol Version 1.3. Senyawa alami kandidat agonis merupakan dua puluh senyawa alami hasil *virtual screening* menggunakan software pyrx 0.8 berdasarkan *binding affinity* yang dimiliki masing senyawa alami.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Informasi yang didapatkan dalam *The RCSB PDB* dan UniProt tentang struktur 3D protein PPAR- γ (*human*), maka 2XKW adalah *PDB id* untuk kompleks protein PPAR- γ manusia dalam bentuk dimer (rantai A dan rantai B) yang berikatan dengan agonis pioglitazone dengan resolusi 2,02 Å (<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2XKW>; <http://www.uniprot.org/uniprot/P37231>). Selain itu, menurut data dari UniProt¹⁹ diketahui bahwa Ser317, His351, His477, dan Tyr501 merupakan list residu asam amino yang terletak di *ligand binding domain*. Selain berasal dari UniProt, *ligand binding domain* didapatkan dari jurnal. Berdasarkan list residu asam amino yang terletak di *ligand binding domain*, yaitu: His323, His449, dan Tyr473 (Uppenberg dkk, 1998; Saptarini dkk, 2014). *Ligand binding domain* ini akan



Gambar 1. SAVES *webservice* output. (a) Ramachandran Plot; (b) ERRAT; (c) verify 3D.



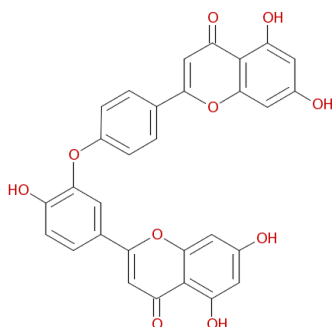
Gambar 2. (a) Visualisasi interaksi PPAR- γ dan pioglitazone dengan menggunakan software PyMol dalam tampilan *surface*. (b) Visualisasi interaksi PPAR- γ dan pioglitazone dengan menggunakan software LigPlus. (c) Visualisasi interaksi PPAR- γ dan ZINC28462577 dengan menggunakan software PyMol dalam tampilan *surface*. (d) Visualisasi interaksi PPAR- γ dan ZINC28462577 dengan menggunakan software LigPlus.

digunakan dalam *virtual screening* dengan menggunakan *MTiOpenScreen webserver*. *Entry code* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 2XKW. Koordinat *grid maximize* untuk *virtual screening* menggunakan *software pyrX* 0,8, yaitu $x = -0,0320$; $y = -0,0056$; $z = 0,1060$.

Model 3D PPAR- γ yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas yang baik karena memiliki 95,3% residu di daerah yang disukai (*residues in most favoured region*) dan tidak ada residu yang berada di daerah yang dianulir (*residues in disallowed regions*), keseluruhan faktor kualitas errat 91%, dan lulus *verify 3D threshold* dengan skor 0,78 (gambar 1). Hasil yang didapatkan dari *virtual screening* dengan menggunakan *MTiOpenScreen webserver* adalah 10 senyawa teratas berdasarkan *energy* senyawa kandidat, *screening* dengan menggunakan *software pyrX* 0,8 adalah 20 senyawa teratas berdasarkan *binding affinity* senyawa kandidat (Data tidak ditampilkan).

Visualisasi interaksi PPAR- γ dan ZINC28462577 dengan menggunakan *software* PyMol menunjukkan bahwa daerah pelekatan senyawa kandidat ZINC28462577 dengan PPAR- γ berada pada daerah cekungan yang sama dengan daerah pelekatan pioglitazone dengan PPAR- γ (Gambar 2a; Gambar 2b). Visualisasi *software* LigPlot terhadap interaksi PPAR- γ dan pioglitazone (kode: P1B) menunjukkan residu asam amino penting, diantaranya Gly284, Cys285, Arg288, Glu291, Ala292, Ile326, Met329, Leu330, Leu333, Ile341, Ser342 melalui interaksi hidrofobik. Visualisasi interaksi PPAR- γ dan ZINC28462577 menggunakan *software* LigPlot

menunjukkan bahwa ZINC28462577 memiliki potensi sebagai kandidat agonis PPAR- γ dalam proses penuaan karena residu asam amino yang diikat sama (Gly284, Cys285, Arg288, dan Ile341) melalui pola yang sama (interaksi hidrofobik). Interaksi PPAR- γ dan ZINC28462577 juga melalui residu asam amino yang sama, tetapi dengan pola yang berbeda. Interaksi tersebut melalui Glu259 dan Ser342 melalui ikatan hidrogen (Gambar 2c; Gambar 2d). ZINCC28462577 memiliki *binding affinity* -10,3. ZINC28462577 merupakan kode senyawa alami untuk ochnaflavone (<https://zinc.docking.org/substance/28462577>).



Gambar 3. Struktur kimia ochnaflavone

Sumber: <https://www.ebi.ac.uk/chembl/dbcompound/inspect/CHEMBL187504>

SIMPULAN, SARAN, DAN REKOMENDASI

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa model 3D PPAR- γ memiliki kualitas yang baik dan senyawa ochnaflavone dengan kode ZINC28462577 memiliki potensi sebagai kandidat agonis PPAR- γ manusia karena sama-sama mengikat Cys285 dan Arg288 melalui interaksi hidrofobik. Selain itu, penelitian berbasis in vitro dan in vivo penting dilakukan untuk membuktikan bahwa ochnaflavone berpotensi sebagai agonis protein PPAR- γ manusia.

DAFTAR PUSTAKA

1. Erol, A. (2007). The Functions of PPARs in Aging and Longevity. *PPAR Research Hindawi*, Volume (2007), 1-10.
2. Grygiel-Gorniak, B.. 2014. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: nutritional and clinical implications – a review. *Nutrition Journal*, volume 13 (1d7), 1-10.
3. Gupta, V. K. dan Sharma, S. K. 2006. Plants as Natural Antioxidant. *Natural Product Radiance*, Volume 5 (4), 326-334.
4. Hallakou S, Doare L, Foufelle F. Pioglitazone induces in vivo adipocyte differentiation in the obese Zucker fa/fa rat. *Diabetes*, Volume 46, 1393–1399.
5. Kalim, H., Murniati, A., Zulaikah, S., Ma'rifah, Triastyanto, N., Pradana, W., Endaharti, A. T. dan Suryana, P. 2014. Pioglitazone Increase PPAR- γ Expression, Decrease MMP-9, MMP-13, VEGF, NO and TNF- α Secretion in IL-1 β -induced Chondrocyte. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, Volume 13, 1-7.
6. Kennedy, S. R., Loeb, J. A., dan Herr, A. J. 2011. Somatic Mutations in Aging, Cancer, and Neurodegeneratif. *Mechanism of Aging and Development*, volume 133 (4), 118-126
7. Kota, Bhavani P., Huang, Tom Hsun-Wei, & Roufogalis, Basil D. 2005. An Overview on Biological Mechanism of PPARs. *Pharmacological Research*, Volume 51, 85-94.
8. Larsen, T. M., Toubro, S. dan Astrup, A. 2003. PPAR γ agonists in the treatment of type II diabetes: is increased fatness commensurate with long-term efficacy?. *International Journal of Obesity*, Volume 27, 147–16.
9. Laskowski R. A., Swindells M.B.. 2011. LigPlot⁺: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J. Chem. Inf. Model.*, 51, 2778-2786.
10. Pangastuti, A., Amin, I. F., Amin, A. Z., dan Amin, M. 2016. Natural Bioactive Compound From *Moringa oleifera* Against Cancer Based on In Silico Screening. *Jurnal Teknologi (Sciences & Engineering)*, Volume 78:5, 315–318
11. Saptarini, N. M., Saputri, F. A., & Levita, J. 2014. Molecular Modeling Study of PPAR γ Agonists: Dehydro-Di-Isoeugenol, Macelignan, Pioglitazone, Netoglitazone, and Rosiglitazone as Antidiabetic Drugs. *International Journal of Chemistry*, Volume 6 (2), 48-55.
12. Sharafzadeh, S. 2013. Medical Plants as Anti-Ageing Materials: A Review. *Global Journal of Medicinal Plant Research*, Volume 1(2), 234-236.

13. Uppenberg, J., Svensson, C., Jaki, M., Bartilsson, G., Jendeberg, L., & Berkenstam, A. 1998. Crystal Structure of the Ligand Binding Domain of the Human Nuclear Receptor PPAR- γ . *The Journal of Biological Chemistry*, Volume 273 (47), 31108–31112.
14. Vina, J., Borras, C., dan Miquel, J. (2007). Theories of Ageing. *IUBMB Life*, Volume 59 (4-5), 249-248.
15. Yang, HC, Deleuze, S., Zuo, Y., Potthoff, S. A., Ma, LJ, dan Fogo, A.B. 2009. The PPAR γ Agonist Pioglitazone Ameliorates Aging-Related Progressive Renal Injury. *J Am Soc Nephrol*, volume 20, 2380-2388.
16. <http://www.rcsb.org>
17. <http://services.mbi.ucla.edu/SAVES/>
18. <http://mobyli.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py#forms::MTiOpenScreen>
19. <https://zinc.docking.org/browse/catalogs/natural-products>
20. <http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2XKW>
21. <http://www.uniprot.org/uniprot/P37231>
22. <https://zinc.docking.org/substance/28462577>
23. <https://www.ebi.ac.uk/chembl/dbcompound/inspect/CHEMBL187504>