

Visualisasi Interaksi Ligan Ibuprofen terhadap Protein Cyclooxygenase secara Komputasi

Visualization of the Computational Interaction of Ibuprofen Ligands on Cyclooxygenase Protein

Nurhayati, Awik P. D.¹, A. Rihandoko¹, M. Santoso², dan E. Setiawan¹

1) Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Surabaya-60111

2) Departemen Kimia, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Surabaya-60111

Email coresponden: awik@bio.its.ac.id

Abstract: Enzim Cyclooxygenase-2 (COX-2) bertanggung jawab terhadap proses inflamasi dan rasa nyeri. Pemberian senyawa Ibuprofen (IBP) dapat berperan sebagai inhibitor cyclooxygenase-2 yang menghambat aktifitas enzim COX-2 dalam mensintesis prostaglandin yang merespon rasa nyeri dan proses inflamasi. Tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui interaksi antara ibuprofen dengan protein Cyclooxygenases secara komputasi. Metode yang digunakan dalam penelitian ini molecular dynamic simulation (MD) untuk membuat reaksi kimia secara virtual. Hasil RMSD kompleks IBP dengan COX-2 adalah ~0,76 hingga ~2,37Å, Hasil RMSF menunjukkan COX-2 tingkat fleksibilitas yang tinggi. Jumlah ikatan Hidrogen intramolekuler berkisar 0 hingga 2 dan ikatan hidrogen intermolekuler berada pada ARG12@O2, ARG12@O1, ARG438@O1. Interaksi antara Ibuprofen dengan Cyclooxygenase-2 menunjukkan terbentuknya ikatan Hidrogen dan membentuk kompleks protein.

Keywords: Cyclooxygenase, Ibuprofen, MD

1. PENDAHULUAN

Sakit kepala yang ditimbulkan oleh penyakit yang berasal dari hidung dan sinus paranasal umumnya berhubungan dengan gejala (kongesti hidung, rasa penuh, pus, dan sumbatan hidung), adakalanya gejala penyakit di hidung dan sinus hanya sakit kepala saja (Amanpreet, 2008).

Cyclooxygenase (COX) merupakan enzim pada jalur biosintetik dari prostaglandin (PG), tromboksan dan prostasiklin dari asam arakhidonat (AA). Terdapat dua bentuk COX yaitu Cyclooxygenase-1 (COX-1) dan Cyclooxygenase-2 (COX-2) (Borges et al, 2010), COX-1 berfungsi sebagai housekeeping gen pada hampir semua jaringan normal. Enzim Cyclooxygenase-2 (COX-2) bertanggung jawab terhadap proses inflamasi dan rasa nyeri (Muroño *et al*, 2001)

COX-2 membentuk PGE₂ dan PGI₂ yang menyebabkan beberapa proses biologis seperti peningkatan permeabilitas kapiler, agen piritik dan hyperalgesia. Obat-obatan yang selektif inhibitor cyclooxygenase-2 yang menghambat aktifitas enzim COX-2 dalam mensintesis prostaglandin yang merespon rasa nyeri dan proses inflamasi, pemberian obat-obatan selektif inhibitor COX-2 diduga mempunyai peran penting dalam penatalaksanaan rinosinusitis kronis. Ekspresi COX-2 di mukosa sinonasal lebih signifikan pada penderita rinosinusitis

kronis (Sousa et al,1997). Induksi dan regulasi COX-2 merupakan kunci proses patofisiologi inflamasi.

Pemberian senyawa Ibuprofen (IBP) dapat berperan sebagai inhibitor cyclooxygenase-2 yang menghambat aktifitas enzim COX-2 dalam mensintesis prostaglandin yang merespon rasa nyeri dan proses inflamasi (Orlando, Lucido, & Malkowski, 2015). Tujuan dalam penelitian ini untuk mengetahui interaksi antara ibuprofen dengan protein Cyclooxygenases secara komputasi.

2. METODOLOGI

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni hingga Juli 2019 di Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), Surabaya.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu perangkat komputer, jaringan internet, Sistem Operasi Windows dan Linux, perangkat lunak Autodock, AMBER, VMD, GaussView dan Notepad++. Bahan yang digunakan adalah *Protein Data Bank* (PDB) file dari COX-2 dan struktur kimia dari Ibuprofen (IBP)



Metode yang Digunakan

Preparasi

Cyclooxygenase (COX) diambil diisolasi dari *Protein Data Bank* (PDB) file yang diunduh dari *RCSB*. Isolasi COX dilakukan dengan menggunakan software VMD.

Struktur dari Ibuprofen (IBP) (Orlando *et al.*, 2015) diisolasi dan ditambahkan dengan atom hidrogen sebelum proses *docking* dilakukan dengan menggunakan software GaussView.

Molecular Docking

Sebelum *docking* dijalankan, diperlukan proses *minimize* untuk meningkatkan keakuratan hasil. Dalam penelitian ini, *docking* dilakukan dengan metode *blind docking* dengan software Autodock sebanyak 20 replikasi. Hasil yang didapatkan dipilih dengan nilai *affinity* (kcal/mol) terendah (V Sanghani, H Ganatra, & Pande, 2012)

Molecular Dinamyc Simulation dan kalkulasi

Molecular Dinamyc Simulation (MD) dilakukan setelah mendapatkan hasil dari *molecular docking* dengan menggunakan perangkat lunak AMBER. Visualisasi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak VMD (*Visual Molecular Dinamic*) (Purnomo, 2011).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Molecular Docking

Molecular docking dilakukan untuk memprediksi kemungkinan aktivitas yang terjadi antara ligan dengan protein target. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut.



Gambar 1. Cyclooxygenase berikatan dengan Ibuprofen (IBP)

Tabel 1. Hasil nilai dari *docking molecular*

mode	afinitas	jarak mol
1	-5.8	0
2	-5.8	16.96
3	-5.6	13.071
4	-5.5	39.244
5	-5.4	15.531
6	-5.4	31.643
7	-5.3	39.93
8	-5.3	11.721
9	-5.1	36.262
10	-5.1	14.556
11	-5	11.623
12	-5	34.889
13	-4.9	41.559
14	-4.6	14.615
15	-4.6	29.709
16	-4.5	15.76
17	-4.4	7.119
18	-4.4	32.485
19	-4.4	29.298
20	-4.4	38.213

Berdasarkan diatas, ikatan ligan dan proten terbaik berada pada mode 2 dengan nilai afinitas -5,8 dengan jarak molekul 16,96 Å dari titik awal. Nilai diatas merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan ligan uji terhadap reseptor. Semakin stabil interaksi ligan-protein dicerminkan dengan semakin rendahnya skor (minus) (Purnomo, 2011)

Molecular Dinamyc Simulation

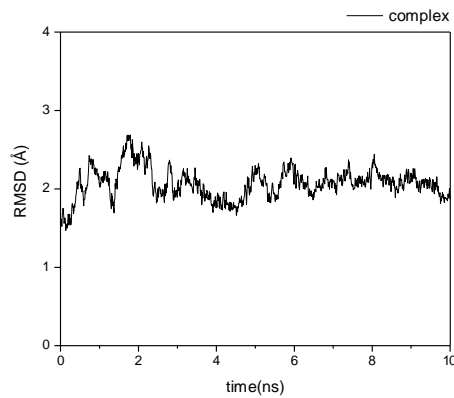
Berdasarkan hasil simulasi yang telah dilakukan, hasil yang didapatkan berupa data RMSD, RMSF dan ikatan Hidrogen.

Root mean square deviation (RMSD) dapat didefinisikan untuk dua struktur yang mengandung jumlah dan jenis atom yang identik. Bila dua koordinat atom menjadi r_i dan r'_i ($i = 1, 2, \dots, n$),

maka
$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |r_i - r'_i|^2}$$
. Dimana:

$$|r_i - r'_i|^2 = (r_{i,x} - r'_{i,x})^2 + (r_{i,y} - r'_{i,y})^2 + (r_{i,z} - r'_{i,z})^2$$

r_i dan r'_i dapat merujuk pada subset dari seluruh molekul, seperti atom C_α , atom backbone atau atom berat. Nilai RMSD tergantung pada definisi yang tepat dari r_i (Bolwell, 2001; Kovács & Péter, 2016). Hasil RMSD kompleks IBP dengan COX-2 adalah ~0,76 hingga ~2,37Å. Berikut hasil dari RMSD:



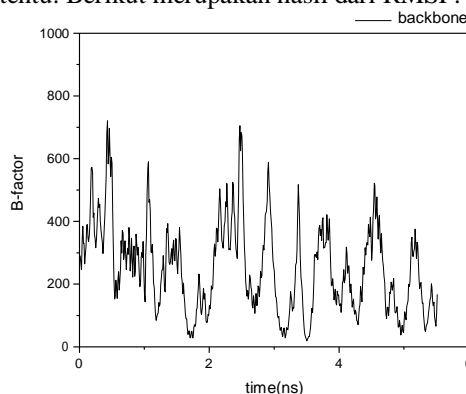
Gambar 2. Hasil nilai dari RMSD kompleks IBP dan COX

Fluktuasi dari hasil seluruh RMSD menunjukkan tingkat kestabilan kompleks suatu protein dan ligan.

Root mean square fluctuation RMSF merupakan deviasi antara posisi partikel i dan beberapa posisi referensi. Bila dua koordinat atom menjadi r_i dan r'_i ($i = 1, 2, \dots, n$), maka $RMSF = \sqrt{\frac{1}{t} \sum_{t=1}^t |r_i - r'_i|^2}$. Dimana t adalah waktu di mana

salah satu rata-rata dan r_i adalah posisi referensi dari partikel i . Biasanya posisi referensi ini akan menjadi posisi rata-rata waktu dari partikel yang sama i (Amber, 2016).

Perbedaan antara RMSD dan RMSF terletak pada rata-rata dari waktu ke waktu, memberikan nilai untuk setiap partikel i . Untuk RMSD rata-rata diambil dari partikel, memberikan nilai waktu tertentu. Berikut merupakan hasil dari RMSF:

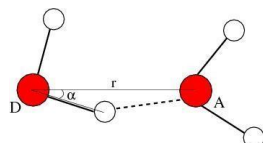


Gambar 3. Hasil fluktuasi nilai RMSF dari sudut dan kompleks protein

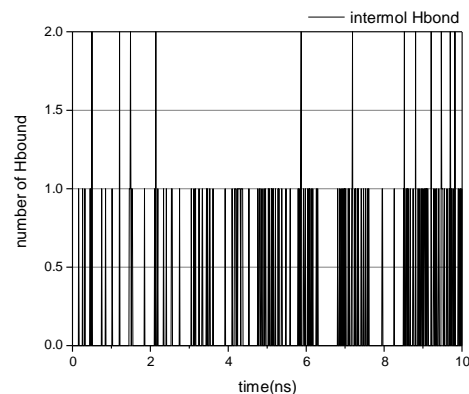
Berdasarkan hasil RMSF tersebut menunjukkan tingkat fluktuasi yang tinggi. Hal ini menunjukkan protein Cyclooxygenase memiliki tingkat fleksibilitas yang tinggi. Ikatan Hidrogen (*H-bond*) merupakan jenis ikatan polar antara atom hidrogen yang terikat ke atom lain dengan elektronegativitas besar Hal ini kemudian membentuk interaksi elektrostatik dengan akseptor ikatan hidrogen. Penentuan apakah ada ikatan-H antara donor D dan akseptor A, kriteria geometri digunakan:

$$r \leq r_{HB} = 0.35 \text{ nm}$$

$$\alpha \leq \alpha_{HB} = 30^\circ$$

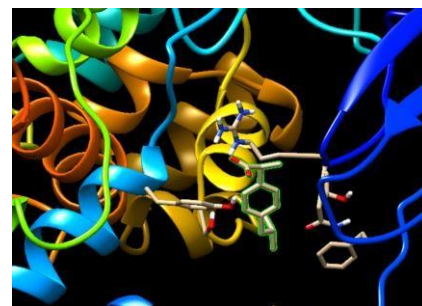


Waktu terjadinya ikatan hydrogen dapat dihitung dari fungsi autokorelasi, dengan persamaan sebagai berikut: $C(T) = \langle s_i(t)s_i(t+T) \rangle$. di mana $s_i(t) = \{0,1\}$ adalah fungsi keberadaan ikatan-H i pada waktu t . Integral dari $C(\tau)$ memberikan perkiraan waktu terjadinya ikatan hidrogen $T_{HB} = \int_0^\infty C(\tau) dT$. Pada MD menunjukkan letak ikatan hidrogen intra dan intermolecular pada kompleks ikatan COX dengan IBP (Appignanesi, 2016).



Gambar 4. Jumlah ikatan hidrogen intramolekular

Berdasarkan gambar diatas menunjukkan bahwa ikatan hidrogen terbentuk di intramolekular dari COX-2 terahjadi berkisar 0 hingga 2. Sedangkan ikatan hidrogen intermolecular terjadi pada ARG12@O2, ARG12@O1, ARG438@O1



Gambar 5. Visualisasi ikatan hydrogen intermolekular

4. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa RMSD kompleks IBP dengan COX-2 adalah $\sim 0,76$ hingga $\sim 2,37\text{\AA}$, RMSF menunjukkan COX-2 tingkat fleksibilitas yang tinggi. Jumlah ikatan Hidrogen intramolekular berkisar 0 hingga 2 dan ikatan hidrogen intermolecular berada pada ARG12@O2, ARG12@O1, ARG438@O1. Interaksi antara Ibuprofen dengan Cyclooxygenase-2 menunjukkan terbentuknya ikatan Hidrogen dan membentuk kompleks protein.



5. UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis tunjukkan terhadap Laboratorium Zoologi dan Rekayasa Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains – ITS Surabaya.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Amanpreet S. (2008). *Clinical Study of Headache in Relation to Sinusitis and Its Management*. Rajiv Gandhi University of Health Sciences Karnataka Bangalore
- Amber, C. (2016). Amber 2016 Reference Manual.
- Appignanesi, A. (2016). Hydrogen Bond Dynamic Propensity Studies for Protein Binding and Drug Design, 1–12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165767>
- Bolwell, G. P. (2001). Biochemistry & Molecular Biology of Plants. *Phytochemistry*.
[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00095-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00095-4)
- Kovács, B., & Péter, P. (2016). Computing RMSD and fitting protein structures : how I do it and how others do it.
- Orlando, B. J., Lucido, M. J., & Malkowski, M. G. (2015). The structure of ibuprofen bound to cyclooxygenase-2. *Journal of Structural Biology*, 189(1), 62–66.
<https://doi.org/10.1016/j.jsb.2014.11.005>
- V Sanghani, H., H Ganatra, S., & Pande, R. (2012). Molecular – Docking Studies of Potent Anticancer Agent. *Journal of Computer Science & Systems Biology*, 05(01), 12–15.
<https://doi.org/10.4172/jcsb.1000085>

DISKUSI

Penanya: Tutut Indria Permata

Pertanyaan

1. Apakah dampak Nrgatif IBP?
2. Apakah semakin banyak ikatan –ikatan hidrogen akan semakin baik?

Jawaban

1. Dampak negatifnya dapat terjadi penyakit liver
2. Banyak ikatan hydrogen bukan satu-satunya akan menjadi baik, namun terdapat faktor lain misalnya panjang ikatan hydrogen

Saran : Prof. Widodo,S.Si.,M.Si.,Ph.D.Med.Sc

penggunakan AMBER karena itu salah satu tools yang memiliki performa tinggi dan menggunakan matching position