Prosiding Seminar Nasional Lingkungan Lahan Basah *p-ISSN 2656-5021*

Volume 8 Nomor 3 Halaman 223-229 April 2023 *e-ISSN 2657-1579*

INTERAKSI GST-p DENGAN SENYAWA *Combretum Indicum* DENGAN METODE IN SILICO

Samsul Hadi[1*], Amalia khaerunnisa[1], Linda Wahyuni[1]

[1]Prodi Farmasi, FMIPA, universitas lambung mangkurat, Kalimantan Selatan, Indonesia
**Corresponding author*: samsul.hadi@ulm.ac.id

Abstrak. Glutathione S-transferase tipe P berperan dalam mengatasi radikal yang ada dalam tubuh. Radikal bebas ini menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel dapat berakhibat pada berkembangnya penyakit generative. Oleh karena itu diperlukan senyawa bahan alam yang mampu meningkatkan peran dari GST-p. Metode yang digunakan dalam memecahakan masalah ini menggunakan pendekatan docking . software yang dipergunakan adalah discovery studio, marvin bean dan autodock. Bahan yang dipergunakan adalah 22 Senyawa yang ditemukan dalam C.Indicum. Alur kerja dimulai dengan mendownload struktur kristal protein dari RCSB dengan kode 18GS, dilanjutkan dengan menghilangkan molekul air dan ligan yang tidak dipergunakan. Validasi yang dipergunakan menggunakan melihat RMSD ligand. Hasil yang peroleh dalam penelitian ini adalah energi bebas dari masing masing ligand dalam satuan kcal/mol, dengan nilai semua ligand dibawah -4 kcal/mol. Kesimpulan dari penelitian ini 5 ligand yang terpilih karena memiliki energy terendah, ligand tersebut adalah rutin; metil ursolate; punicalin; flavogallonic acid; lupeol

Kata kunci: GSTS-p, energi bebas, ligand

1. Pendahuluan

Sejak tahun 1970-an banyak perhatian telah difokuskan pada sifat-sifat glutathione S - tranferases (GSTs) yang memfasilitasi katalisis ikatan tioeter antara glutathione (GSH) dan pusat elektrofilik pada molekul kecil (Johansson et al., 2007). Microsomal GSTs mengandung tiga isoform yang ditunjuk sebagai mGST 1, 2, dan 3 yang dikodekan oleh satu gen yang terletak pada kromosom 12 (MGST1) (Bräutigam et al., 2018)dan terlibat dalam metabolisme endogen leukotrien dan prostaglandin. Semua GSTs sitosol memiliki polimorfisme genetik pada populasi manusia. Region promotor bervariasi antar kelas dan dapat berisi satu atau lebih elemen respons yaitu : elemen respon antioksidant; elemen respons xenobiotik; Penambah GSTP 1; elemen respons glukokortikoid; Elemen Barbie-box. Promotor juga dapat berisi situs pengikatan untuk faktor transkripsi seperti, AP-1, MAF, Nrf1, Jun, Fos, dan NF-kappa B, yang keberdaanya spesifik pada spesies (Stein et al., 1993) .GSTs sitosol memiliki aktivitas katalitik sebagai protein homo- atau hetero-dimer, memungkinkan pembentukan sejumlah besar enzim dari sejumlah gen; Namun, dimerisasi biasanya terbatas pada subunit dalam kelas yang sama (Verma et al., 2015). Meskipun <10% protein terkristalkan, semua isozim GSTs memiliki dua domain dan topologi yang serupa (Singhal et al., 1994).

GSTs memainkan peran penting melawan karsinogen, obat terapeutik, dan berbagai jenis kerusakan oksidatif seluler. GSTs juga mengatur biosintesis dan transportasi hormon intraseluler. Berdasarkan kesamaan urutan dan kekhususan substratnya, GSTs dibagi menjadi setidaknya sepuluh subfamili: alfa, delta, epsilon, kappa, mu,P, sigma, theta, zeta, dan omega (Konishi et al., 2005). Pada penelitian ini hanya berfakus pada subfamily GST_P_human (kode PDB ID: 18GS), hal ini karena gluthation tersebut terekspresi dalam jumlah yang besar dalam merespon keberadaan suatu radikal . Uji aktivitas antioksidan dari tanaman sering dilakukan untuk mencari senyawa yang poten dalam mengatasi suatu radikal. Salah satu tanaman yang

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

mempunyai aktivitas antioksidan adalah C. Indicum. Kandungan kimia tanaman Melati belanda secara umum mengandung potassium quisqualate. Daun dan bunganya mengandung tannin, glikosida, fenol, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak bunga Melati belanda mengandung minyak atsiri, E-dan Z-linalool oxide (furanoid form), benzyl benzoate, 2,2,6-trimethyl-6-vinyl-3hydroxy tetrahydropyran (linalool oxide pyranoid form (Zuraida et al., 2017). Daun mengandung rutin, trigonelin, L-prolin, laspargin dan asam quisqualic. Biji mengandung linoleat, asam oleat, palmitat, stearat dan arakidik. ellagitannins, quisqualin A dan quisqualin, Buah mengandung gula zat yang mirip dengan levulosa dan asam organik mirip dengan asam katartik (Shah et al., 2019). Penelitian yang sudah dilakukan terhadap Bungan ini yaitu digunakan sebagai antihiperlipidemia, antipiretik, antibakteri, imunomodulator serta antioksidan (Valeri et al., 2015) .sehingga kandungan dalam tanaman ini dapat di teliti lebih lanjut mengenai mekanisme antioksidan dalam berinteraksi dengan gluthation S-transferase tipe P.

2. Metodologi

Laptop dengan spesifikasi ram 2GB, Intel ®Pentium Quad core Processor N3700, software Autodock4, Discovery studio, MarvinBean(ChemAxon, 2016). GSTP_human (kode PDB ID: 18GS) (Oakley et al., 1999).

Docking

Proses docking menggunakan Autodock4 dengan melibatkan kandungan kimia tumbuhan *C. Indicum* terhadap reseptor GSTP_human (kode PDB ID: 18GS.

Visualisasi hasil docking

Visualisasi docking dengan menggunakan Discovery studio (Systèmes, 2020)

Analisis data

Data yang dilihat adalah energi bebas (ΔG) dan persamaan residu ikatan Hidrogen dari kandungan kimia tumbuhan *C. Indicum* terhadap ligan native.

3. Hasil dan Pembahasan

Tumbuhan *C. Indicum* merupakan tanaman yang sering digunakan oleh masyarakat, khususnya sebgai antioksidan, enzim yang terlibat dalam antioksidan adalah SOD, katalase dan Gluthation transferase. Oleh karena itu peneliti memilih salah satu enzim yang terlibat sebagai antioksidan yaitu Gluthation transferase. Proses docking kompenen senyawa kimia yang terlibat sebagai antiosidan dimulai dengan pelepasan ligand dari resepor pada database dan dimulai proses redocking. Setelah redocking selesai dilanjutkan dengan docking terhadap senyawa senyawa dari tanaman C. Indicum

GST-p dengan kode ID: 18GS berinterakasi dengan ligand original gluthathione, residu asam amino yang berinterkasi dengan ligand dijadikan salah satu tolak ukur analisis, karena residu asam amino yang berinteraksi dengan ligand merupakan bindingsite dan mungkin saja katalitik

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

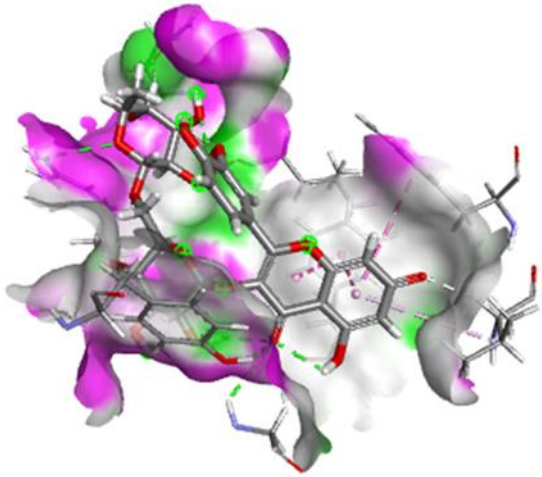
site, sedangkan untuk menentukan katalitik site membutuhkan uji di laboratorium, sehingga peneliti hanya mampu memprediksi binding site dan persamaan binding site antara ligand dari balik angina dan ligand original. Ligand native protein ini adalah Glutathione s-(2,4dinitrobenzene). Redocking ligan native ini harus memenuhi syarat validasi yaitu RMSD dibawah 2 Å (Rodríguez et al., 1989), dan hasil redocking yang dilakukan dalam penelitian ini 1.251 Å . Persamaan residu yang terlibat dalam interaksi dapat dilihat pada Tabel 1. Mengenai redidu yang memiliki persamaan 50 % adalah arachidonic acid,linoleic acid dan punicalin, residu yang sama adalah ARG13; TYR7. Residu ini berperan dalam *binding cite* dari ligand native.

Tabel 1. Energi bebas dan ligand yang berinteraksi

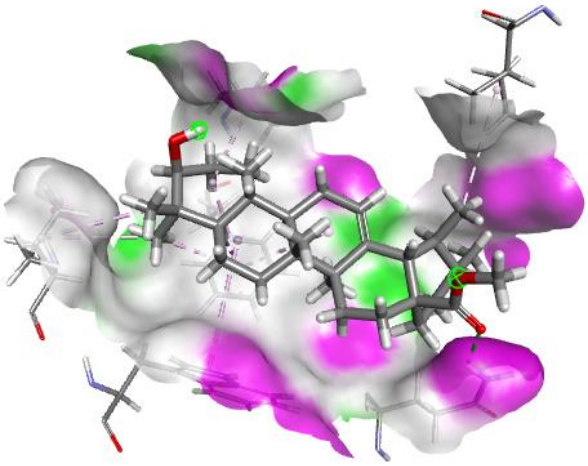
Senyawa	**ΔG**	**Residu**	**Senyawa**	**ΔG**	**Residu**
ligand native	-8,71	TYR7; TYR108; LYS44; ARG13	casuariin	-7,48	GLN64; ARG13; GLN51; GLY50
asquisqualic acid	-5,07	GLY 205; ASN204; ARG13	1-desgalloyleugeniin	-7,45	SER65; TYR7
arachidonic acid	-5,48	TYR7; ARG13; GLY12	punicalin	-8,86	TYR7; ARG13; GLY51
linoleic acid	-5,39	ARG13; TYR7	gallic acid	-4,71	GLY205
rutin	-8,41	VAL35; GLY205; TYR108; GLN64; LEU52; ARG13	ellagic acid	-7,39	GLY205
methyl ursolate	-8,03	GLN51	flavogallonic acid	-8,15	TRP38; GLY205; LYS44; LEU52
Quisqualic acid	-5,26	GLY205; ASN204; ARG13	brevifolin carboxylic acid	-6,99	TYR7; ASN204
Trigonelline	-4,67	GLY205; TYR7	quercetin	-7,49	ASN204; GLY205
quinoline-4-carbonitrile	-6,16	GLY205	sitosterol	-7,74	PHE8
pedunculagin	-6,81	GLN51	Lupeol	-8,38	PHE8; VAL35
punicalagin	-5,25	SER105; TYR7	linalool	-5,06	TYR108
eugeniin	-6,54	GLN51; TYR7			

Berdasarkan gambar 3 dimensi dari gambar 1 diperoleh gambaran interaksi ikatan hidrogen. Warna magenta adalah donor ikatan hidrogen, sedangkan warna hijau adalah akseptor hidrogen. Ikatan hidrogen sebgai donor dari rutin adalah VAL35; GLY205; TYR108; GLN64; LEU52; ARG13, pada metil ursolat GLN51. Punicalin donor hidrogen adalah TYR7; ARG13; GLY51. Flavogallonic acid melibat residu TRP38; GLY205; LYS44; LEU52 sebagai aseptor hidrogen dan lupeol melibatkan PHE8; VAL35 sebagai aseptor hidrogen. Selain iktan hidroge, GST_p ini juga dipengaruhi oleh ikatan hidrofob, yaitu pada situs aktif dengan dua sub-situs: situs G yang sangat terkonservasi untuk pengikatan GSH dan situs H untuk substrat hidrofobik (Niedziela-Majka et al., 1998) dan interaksi ini terjadi di ligand native dengan PHE 8; VAL10; GLY12; TRP 38; GLY 50; GLN 51; LEU 52; PRO 53; ILE 104; ASN 204 dan GLY 205.

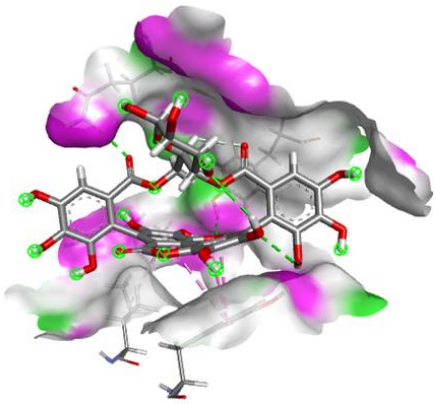
© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat



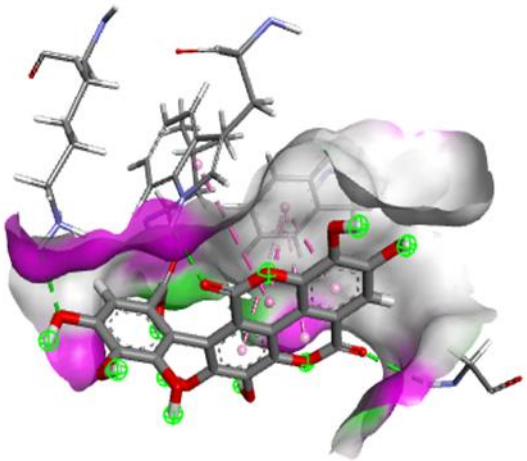
rutin



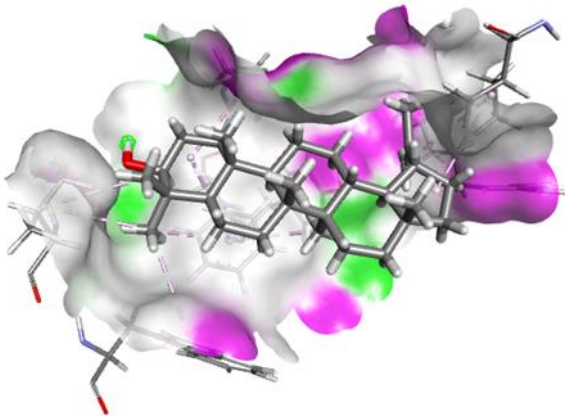
Metil ursolat



punicalin



flavogallonic acid



lupeol

Gambar 1. Struktur 3 dimensi dari 5 ligand dengan nilai delta G terbaik

GSH memainkan peran mendasar dalam melindungi sel dari cedera akibat radikal bebas (Cooper & Kristal, 1997). Enzi mini berperan dalam detoksifikasi peroksida seperti hidrogen peroksida dalam sel terutama diatur oleh keseimbangan antara GPx dan GR. GPx

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

mengkonversi dari GSH menjadi GSH teroksidasi (GSSG) dan dengan memfasilitasi reduksi peroksida (Dringen et al., 1999). Namun, GSSG beracun dan dapat dengan cepat diubah kembali menjadi GSH oleh GR. Selain itu, Tingkat GSH dalam sel juga dikendalikan oleh keseimbangan antara tingkat produksi dan penggunaannya . g-GCS adalah enzim pembatas laju dalam jalur sintesis GSH dan kadar GSH diatur oleh penghambatan umpan balik g-GCS oleh GSH (Franco & Cidlowski, 2009). Hal ini karena g-GTP adalah enzim yang berperan penting dalam katabolik GSH. Di sisi lain, GST merupakan enzim yang unik diantara enzim regulasi GSH, karena mengatur metabolism leukotrien, estrogen, dan prostaglandin melalui pembentukan S-konjugasi. Peraturan oleh GST ini memfasilitasi reaksi detoksifikasi di otak (Cammer et al., 1989). GST sitosol juga mengkatalisis GSH-dependent pengurangan lipid peroksidase .

Berbagai studi tentang aktivasi GSH, salah satunya mengenai penggunaan agonis dopamine contohnya ropinirole dan cabergoline. Kedua obat ini berperan sebagai neuroprotektif atau obat neurorestoratif yang digunakan sebagai pengobatan untuk penyakit neurodegenerative (Tanaka et al., 2001). Studi yang telah dilakukan yaitu efek ropinirole pada GSH terkait enzim, yang mengatur kandungan GSH dalam otak, untuk memperjelas mekanisme molekuler efek aktivasi GSH dalam kasus pengulangan pengobatan ropinirole . Pengamatan didasarkan pada enzim terkait GSH yaitu enzim pembatas laju sintesis GSH (g-glutamylcysteine synthetase: g-GSC), pengatur enzim jalur daur ulang GSH (glutathione peroksidase: GPx, glutathione reduktase: GR), detoksifikasi melalui pembentukan S-konjugat (glutathione S-transferase: GST), dan Jalur katabolik GSH (g- lutamyltranspeptidase: g- GTP) (Konta & Frank, 2008). Selain itu, penggunaan thiobarbituric (TBA-RS) sebagai penginduksi auto-oksidasi, dapat menekan efek ropinirole pada kondisi stress oksidatif (Parvez et al., 2010). Dengan demikian ikatan antara ligand terhadap GST_p berperan dalam meningkatkan peren GSH dalam menangkal terbentuknya radikal bebas dalam tubuh.

4. Kesimpulan

Kesimpulan dalam penelitian ini berupa ligan yang berpotenis berinteraksi dengan GST-p adalah rutin, metil ursolat,punicalin, flavogallonic acid dan Lupeol.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kami ucapkan terhadap Universitas Lambung Mangkurat dengan Program Dosen Wajib Meneliti (PDWM) 2022.

Daftar Pustaka

Bräutigam, L., Zhang, J., Dreij, K., Spahiu, L., Holmgren, A., Abe, H., Tew, K. D., Townsend, D. M., Kelner, M. J., Morgenstern, R., & Johansson, K. (2018). MGST1, a GSH transferase/peroxidase essential for development and hematopoietic stem cell differentiation. *Redox Biology*, *17*, 171–179. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.013

Cammer, W., Tansey, F., Abramovitz, M., Ishigaki, S., & Listowsky, I. (1989). Differential

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

localization of glutathione-S-transferase Yp and Yb subunits in oligodendrocytes and astrocytes of rat brain. *Journal of Neurochemistry*, *52*(3), 876–883. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1989.tb02536.x

Cooper, A. J., & Kristal, B. S. (1997). Multiple roles of glutathione in the central nervous system. *Biological Chemistry*, *378*(8), 793–802.

Dringen, R., Kussmaul, L., Gutterer, J. M., Hirrlinger, J., & Hamprecht, B. (1999). The glutathione system of peroxide detoxification is less efficient in neurons than in astroglial cells. *Journal of Neurochemistry*, *72*(6), 2523–2530. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1999.0722523.x

Franco, R., & Cidlowski, J. A. (2009). Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death & Differentiation*, *16*(10), 1303–1314. https://doi.org/10.1038/cdd.2009.107

Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Sahlander, K., Siritantikorn, A., & Morgenstern, R. (2007). Microsomal glutathione transferase 1 in anticancer drug resistance. *Carcinogenesis*, *28*(2), 465–470. https://doi.org/10.1093/carcin/bgl148

Konishi, T., Kato, K., Araki, T., Shiraki, K., Takagi, M., & Tamaru, Y. (2005). A new class of glutathione S-transferase from the hepatopancreas of the red sea bream Pagrus major. *The Biochemical Journal*, *388*(Pt 1), 299–307. https://doi.org/10.1042/BJ20041578

Konta, B., & Frank, W. (2008). The treatment of Parkinson's disease with dopamine agonists. *GMS Health Technology Assessment*, *4*, Doc05.

Niedziela-Majka, A., Rymarczyk, G., Kochman, M., & Ozyhar, A. (1998). GST-Induced dimerization of DNA-binding domains alters characteristics of their interaction with DNA. *Protein Expression and Purification*, *14*(2), 208–220. https://doi.org/10.1006/prep.1998.0932

Oakley, A. J., Lo Bello, M., Nuccetelli, M., Mazzetti, A. P., & Parker, M. W. (1999). The ligandin (non-substrate) binding site of human Pi class glutathione transferase is located in the electrophile binding site (H-site). *Journal of Molecular Biology*, *291*(4), 913–926. https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3029

Parvez, S., Winkler-Stuck, K., Hertel, S., Schönfeld, P., & Siemen, D. (2010). The dopamine-D2-receptor agonist ropinirole dose-dependently blocks the Ca2+-triggered permeability transition of mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, *1797*(6), 1245–1250. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2010.02.001

Rodríguez, E., Arqués, J. L., Rodríguez, R., Nuñez, M., Medina, M., Talarico, T. L., Casas, I. A., Chung, T. C., Dobrogosz, W. J., Axelsson, L., Lindgren, S. E., Dobrogosz, W. J., Kerkeni, L., Ruano, P., Delgado, L. L., Picco, S., Villegas, L., Tonelli, F., Merlo, M., … Masuelli, M. (1989). Protein-Protein and Protein-Ligand Docking. *Intech*, *32*(tourism), 137–144. https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics

Shah, A., Khan, Z., Saleem, S., & Farid, S. (2019). Antioxidant activity of an ethnobotanically important plant Quisqualis indica Linn. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *32*, 95–102.

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat

Singhal, S. S., Zimniak, P., Sharma, R., Srivastava, S. K., Awasthi, S., & Awasthi, Y. C. (1994). A novel glutathione S-transferase isozyme similar to GST 8-8 of rat and mGSTA4-4 (GST 5.7) of mouse is selectively expressed in human tissues. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1204*(2), 279–286. https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90019-1

Stein, B., Baldwin, A. S. J., Ballard, D. W., Greene, W. C., Angel, P., & Herrlich, P. (1993). Cross-coupling of the NF-kappa B p65 and Fos/Jun transcription factors produces potentiated biological function. *The EMBO Journal*, *12*(10), 3879–3891. https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1993.tb06066.x

Systèmes, D. (2020). *Free Download: BIOVIA Discovery Studio Visualizer - Dassault Systèmes*. https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download#_ga=2.4935860.685747970.1587999055-a5d1c1c0-3176-11e9-a86f-e302515d21c8

Tanaka, K., Miyazaki, I., Fujita, N., Haque, M. E., Asanuma, M., & Ogawa, N. (2001). Molecular mechanism in activation of glutathione system by ropinirole, a selective dopamine D2 agonist. *Neurochemical Research*, *26*(1), 31–36. https://doi.org/10.1023/a:1007672414239

Valeri, S., L. Soegianto, & S. Wijaya. (2015). Perbandingan Antibakteri dari Ekstrak Etanol dan Fraksi Ekstrak Etanol Tanaman Ceguk (Quisqualis indica L .) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli. *Journal of Pharmaceutical Science and Pharmacy Practice*, *2*, 37–40.

Verma, V., Mallik, L., Hariadi, R., Sivaramakrishnan, S., Skiniotis, G., & Joglekar, A. (2015). Using Protein Dimers to Maximize the Protein Hybridization Efficiency with Multisite DNA Origami Scaffolds. *PloS One*, *10*, e0137125. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137125

Zuraida, Riniwasih, L., & Hartanti, D. (2017). Uji efektifitas ekstrak etanol bunga ceguk (Combretum indicum L.) dalam bentuk sedian gel antiseptic tangan dengan metode replika. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, *2*(1), 64–72.

© 2023 Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Universitas Lambung Mangkurat