

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA TURUNAN FLAVONOID
TERHADAP PENGHAMBATAN ENZIM *TIROSINASE***



SKRIPSI

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar Sarjana
Farmasi Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar**

Oleh

SUHARNA S.
NIM. 70100108082

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR
2012**

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan penuh kesadaran, penulis yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya penulis sendiri. Jika dikemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.



Makassar, 27 Agustus 2012
Penulis,

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI **SUHARNA S.**
70100108082
ALAUDDIN
M A K A S S A R

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum.Wr.Wb. Puji dan syukur penulis haturkan atas segala limpahan rahmat dan hidayah yang telah diberikan Allah SWT kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, yang merupakan salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar sarjana di Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar. Tak lupa pula salawat dan salam yang selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah membawa ummatnya dari alam yang gelap ke alam yang terang benderang.

Rasa terima kasih penulis kepada semua pihak-pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, karena penulis menyadari bahwa banyak sekali hambatan dan rintangan dalam menyelesaikan skripsi ini, dan tanpa bantuan dari semua pihak-pihak pendukung, penulis tidak akan mampu untuk menyelesaikannya. Oleh karena itu, izinkan penulis untuk mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Orang tua tercinta, Ayahanda Drs. Sulaeman P. dan Ibunda Nawiah,S.Pd, SD serta adik tersayang Muh. Adam S., Nurhadi S., Hardiani S., Hardianti S., yang tak putus-putus memberikan doa restu, kasih sayang, nasehat dan bantuan moril maupun materi selama menempuh pendidikan hingga selesainya penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Dr. H. A. Qadir Gassing H.T.,M.S., selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
3. Bapak Dr. dr. H.Rasyidin Abdullah, MPH.,MH. Kes selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

4. Ibu Fatmawaty Mallapiang, SKM.,M.Kes., selaku Wakil Dekan I Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
5. Ibu Dra.Hj. Faridha Yenny Nonci, M.Si.,Apt. sebagai Wakil Dekan II Fakultas Ilmu Kesehatan sekaligus penasehat akademik dan pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bimbingan dan pengarahan kepada penulis sejak awal perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
6. Bapak Drs. Wahyuddin G.,M.Ag., selaku Wakil Dekan III Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
7. Ibu Gemy Nastity Handayani,S.Si.,M.Si.,Apt. selaku Ketua Jurusan Farmasi UIN Alauddin Makassar sekaligus sebagai penguji kompetensi yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam mengoreksi apa-apa yang perlu diperbaiki pada skripsi penulis.
8. Ibu Haeria S.Si.,M.Si selaku pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis sejak awal perencanaan penelitian sampai selesainya penyusunan skripsi ini.
9. Bapak Drs.H. Azman Arsyad M. Ag., selaku penguji Agama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam mengoreksi dan memberikan saran pada skripsi penulis.
10. Bapak Nursalam Hamzah, S.Si., Apt selaku pembimbing yang telah banyak mengajarkan dan membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
11. Bapak, Ibu Dosen, serta Seluruh Staf Jurusan Farmasi atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan pada penulis sejak menempuh pendidikan farmasi, melaksanakan pendidikan hingga selesainya skripsi ini.

Rasa terima kasih juga kepada kakak Naharuddin dan Arniyanti Amin sebagai keluarga yang selalu membantu dan memberikan motivasi kepada penulis sampai terselesainya skripsi ini. Teman-teman seperjuangan angkatan 2008, Kakak-kakak dan adik-adik mahasiswa jurusan farmasi atas segala bantuan dan kerjasamanya selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan, sebagaimana ajaran agama yang menyatakan bahwa “tidak ada yang sempurna di dunia ini” kecuali Allah SWT, oleh karena itu dengan segala kerendahan hati penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya, dan memohon saran dan kritik yang membangun dari segala pihak guna untuk kesempurnaan skripsi dan penelitian selanjutnya.

Akhirnya, penulis sangat berharap karya tulis ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu di bidang farmasi pada umumnya dan di bidang ilmu kimia medisinal dalam perancangan dan pengembangan obat pada khususnya. Dan semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat dan hidayah di dalamnya. Amin
Ya Robbal A'lamin



Makassar, Agustus 2012
Penulis,

SUHARNA S.
70100108082

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
ABSTRAK.....	xi
BAB I PENDAHULUAN	
A. <i>Latar Belakang</i>	1
B. <i>Rumusan Masalah</i>	4
C. <i>Tujuan Penelitian</i>	4
D. <i>Manfaat Penelitian</i>	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Studi In Silico (Docking Molekuler)</i>	6
B. <i>Flavonoid</i>	8
C. <i>Enzim Tirosinase</i>	12
D. <i>Pembentukan Melanin</i>	15
E. <i>Interaksi Molekuler</i>	17
F. <i>Autodock Vina[®] dan PyMol[®]</i>	18
G. <i>Tinjauan Islam</i>	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
A. <i>Bahan dan Peralatan yang Digunakan</i>	27
B. <i>Prosedur Penelitian</i>	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. <i>Hasil Pengamatan</i>	31
B. <i>Pembahasan</i>	33

BAB V PENUTUP	
A. <i>Kesimpulan</i>	43
B. <i>Saran</i>	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN-LAMPIRAN.....	48
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	57



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Ringkasan pertimbangan ketika memilih <i>In silico</i> dalam desain obat.....	7
2. Data aktivitas biologis senyawa-senyawa flavonoid sebagai inhibitor <i>tirosinase</i>	11
3. Nilai scoring beberapa turunan senyawa flavonoid	31
4. Data energi bebas ikatan turunan senyawa flavonoid-1WX4 dan IC ₅₀ prediksi	33
5. Substitusi gugus hidroksil	51
6. Nilai Scoring dan IC ₅₀ prediksi senyawa baru turunan flavonoid berdasarkan modifikasi model Topliss	52



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur molekul senyawa polifenol dari flavonoid	9
2. Struktur kimia dari polifenol dengan penghambatan <i>tirosinase</i>	10
3. Struktur flavonoid	11
4. Bentuk oksidasi dari <i>tirosinase</i>	14
5. Struktur enzim <i>tirosinase</i> yang diperoleh dari RSCB Protein Data Bank kode "1WX4". Ditampilkan dengan PyMol viewer.....	15
6. Struktur Biologi Melanin	16
7. Sintesis Raper-Mason ensimatik dari melanin.....	17
8. Struktur kristalografi <i>enzim tirosinase</i> (RSCB Protein Data Bank)	28
9. Kurva korelasi antara IC_{50} dengan energi bebas ikatan ΔG antara flavonoid-1WX4	32
10. Struktur senyawa baru turunan flavonoid berdasarkan pendekatan Topliss.....	54
11. Struktur 3D docking senyawa 1 turunan flavonoid dengan <i>enzim tirosinase</i> dengan energi ikatan -7.0 kkal/mol.....	55
12. Struktur 3D docking senyawa 1 turunan flavonoid dengan <i>enzim tirosinase</i> dengan energi ikatan -6.5 kkal/mol.....	55
13. Struktur 3D docking enzim <i>tirosinase</i> dengan senyawa baru turunan flavonoid, dengan substitusi (-Br) pada atom C 7 cincin A, dan substitusi (-OH) pada atom C nomor 3', 4' cincin B. Energi ikatan -7.4 kkal/mol	56

ABSTRAK

Nama : Suharna S.

NIM : 70100108082

Jurusan : Farmasi

Judul : “Studi *In Silico* Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim *Tirosinase*”

Studi *in silico* senyawa turunan flavonoid dengan enzim tirosinase di lakukan dengan bantuan komputer menggunakan aplikasi *docking molecular* (program *Autodock Vina* dan *MGL Tools 1.5.4*), dimana 25 senyawa flavonoid yang di peroleh dari penelitian sebelumnya di gambar struktur 2D menggunakan *Hyperchame 8.0*, kemudian di optimasi geometri dengan metode semiempirik *PM3* yang akan di *docking* dengan enzim tirosinase dengan kode pdb “*1WX4*” untuk mengetahui model interaksinya dengan menggunakan parameter fungsi *scoring* energi bebas ikatan (ΔG), yang menunjukkan semakin kecil nilai ΔG dalam kkal/mol maka semakin besar kecenderungan suatu ligan-reseptor untuk berinteraksi secara spontan, dan ikatan hidrogen dengan asam-asam amino di pada *binding site* (sisi pengikatan) reseptor seperti (*Metionin*₂₀₁, *Serin*₂₀₆, *Glutamine acid*₁₈₂, *Asparagine*₁₉₁, *Asparagin*₁₈₈, *Alanine*₂₀₂, *Threoinine*₂₀₃, *Arginine*₅₅) dan asam amino *Histidin*₁₉₄ yang merupakan residu penting yang berikatan langsung dengan Cu B. Hasil ΔG yang di peroleh di korelasikan dengan Log IC_{50} hasil eksperimen menghasilkan nilai korelasi sebesar 0,805, dan persamaan yang di peroleh $Log IC_{50} = 3.305\Delta G_{bind} + 22.859$ digunakan untuk mendesain/modifikasi senyawa baru yang memiliki aktivitas penghambatan tirosinase yang lebih baik dari senyawa-senyawa sebelumnya, dan di peroleh modifikasi (-Br) pada atom C nomor 7 cincin A dan (-OH) pada atom C nomor 3', dan 4' cincin B dengan energi ikatan - 7,4 kkal/mol dan IC_{50} prediksi sebesar 0.02 μM .

ABSTRACT

Name : Suharna S.
No.Reg.Student : 70100108082
Study Program : Pharmacy
Title : “*In Silico* Studies Derived Flavonoid compounds against *tyrosinase* enzyme inhibition”

Studies in silico derived flavonoid compounds with the enzyme tyrosinase is done with computer assistance using the application molecular docking program (AutoDock Vina and MGL Tools 1.5.4), of which 25 flavonoid compounds obtained from previous studies in drawing 2D structures using Hyperchame 8.0, then in geometry optimization with the PM3 method to be semiempirik dockingkan the enzyme tyrosinase with pdb code "1WX4" to determine the interaction with the model using parameter binding free energy scoring function (ΔG), which indicates the smaller value of ΔG in kcal / mol, the greater tendency of a ligand-receptor to interact spontaneously, and hydrogen bonds with amino acids in the binding site (the binding) receptors such as (*Metionin*₂₀₁, *Serin*₂₀₆, *Glutamine acid*₁₈₂, *Asparagine*₁₉₁, *Asparagin*₁₈₈, *Alanine*₂₀₂, *Threoinine*₂₀₃, *Arginine*₅₅) and amino acid Histidin194 which is an important residue that binds indirectly to Cu B. The results obtained in ΔG are correlated with log IC₅₀ experimental results yield a correlation value of 0.805, and the equation was obtained $\log IC_{50} = 3.305\Delta G_{bind} + 22,859$ used to design / modify the new compounds have tyrosinase inhibitory activity better than the previous compounds, and obtained modification (-Br) on the C atom number 7 ring A and (-OH) on the C atom number 3 'and 4' ring B with binding energy - 7.4 kcal / mol and predicted IC₅₀ of 12:02 μM .

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kimia medisinal merupakan ilmu terapan yang difokuskan pada desain atau penemuan senyawa obat kimia baru, optimisasi dan pengembangannya sehingga diperoleh molekul obat yang berguna dalam proses pengobatan penyakit. Untuk pencapaian hal tersebut, para ahli kimia medisinal harus merancang dan mensintesis molekul baru, serta memastikan senyawa tersebut berinteraksi dengan makromolekul biologis (seperti protein dan asam nukleat) yang menjadi reseptor di dalam atau di permukaan sel, menjelaskan hubungan antara struktur dan aktivitas biologis, serta mengevaluasi proses perubahan metabolismenya (Nogrady, 2005 ; 24).

Suatu ide, membawa senyawa kimia menjadi obat yang beredar di pasaran merupakan proses yang membutuhkan biaya sekitar rata-rata 800 juta US dollar (DiMasi, 2003). Biaya tersebut sangat besar, apalagi dikaitkan dengan kemampuan ekonomi negara-negara berkembang, seperti Indonesia. Strategi dan upaya yang efektif dan ekonomis diperlukan untuk membawa Indonesia juga turut diperhitungkan dalam penemuan obat (Istyastono, 2007).

Pemanfaatan komputer akhir-akhir ini menjadi tawaran yang sangat menarik sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Kemampuan komputasi yang meningkat secara eksponensial merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. *In silico* merupakan metode

pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu. Terminologi *in silico*, analog dengan *in vitro* dan *in vivo* merujuk pada pemanfaatan komputer dalam studi penemuan obat, sebagaimana diketahui dalam proses penemuan obat membutuhkan waktu yang sangat lama dan biaya yang mahal, oleh karena itu kecenderungan dalam penggunaan metode *in silico* pada kimia komputasi dalam pemodelan molekul (desain obat) telah memperoleh momentum yang signifikan (Geldenhuys, 2006).

Dari studi, ilustrasi perbandingan penemuan obat secara konvensional dan dengan bantuan komputer ketika ditemukan suatu senyawa A dalam tanaman Z yang diduga aktif sebagai senyawa antikanker dengan menghambat enzim X, suatu enzim yang sudah diketahui strukturnya secara kristalografi. Dengan demikian, dapat diprediksi aktivitas senyawa-senyawa hipotetik dan dapat dilakukan eliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah. Sebelum diusulkan untuk disintesis, senyawa-senyawa hipotetik tersebut diprediksi toksisitasnya secara *in silico* dengan cara melihat interaksinya dengan enzim-enzim yang bertanggung jawab pada metabolisme obat. Dari beberapa langkah *in silico* tersebut, dapat diusulkan beberapa senyawa analog dan turunan senyawa A yang memang potensial untuk disintesis dan dikembangkan, atau mengusulkan untuk mengembangkan seri baru. Jumlah senyawa yang diusulkan biasanya jauh lebih sedikit dibandingkan penemuan obat secara konvensional (Istyastono, 2007).

Program aplikasi dalam kimia komputasi, sangat berguna sebagai pendekatan dalam penemuan obat, termasuk pada penelitian *docking* dalam upaya mendesain obat, salah satu program aplikasi *docking* yang digunakan adalah Autodock Vina dengan bantuan MGL Tools 1.5.4 (*Autodock tools*) (Geldenhuis, 2006).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik alam dari metabolit sekunder yang terdapat dalam tanaman hijau, kecuali alga, yang potensial sebagai antioksidan yang dapat digunakan sebagai inhibitor tirosinase (penghambat tirosinase). Sebagaimana yang diketahui, *tirosinase* merupakan enzim yang berperan dalam proses pembentukan melanin (zat warna kulit). Sintesis melanin yang berlebihan dapat memberikan dampak yang kurang disukai (kulit menjadi terlalu gelap atau hiperpigmentasi). Oleh karena itu, dalam sebuah studi terbaru yang dilakukan oleh Donghyun Kim dan kawan-kawan, menunjukkan bahwa flavonoid dilaporkan dapat bertindak sebagai antioksidan karena dapat berfungsi menghelat ion tembaga, dan juga merupakan inhibitor *tirosinase* dengan posisi hidroksil pada cincin A dan cincin B yang sangat menentukan. Namun, kenaikan gugus hidroksil yang berlebihan pada flavonoid dapat menghalangi aktivitas penghambatan *tirosinase* (Jen-Wen , 2008; Donghyun, 2006).

Diperkuat pada penelitian Rahmawati, yang melakukan penelitian pada senyawa turunan kuersetin, yang juga merupakan salah satu senyawa flavonoid golongan flavonol terhadap penghambatannya pada enzim tirosinase menggunakan metode *in silico*, dimana beliau memperoleh senyawa yang

memiliki energi pengikatan yang baik adalah senyawa dengan modifikasi OCH_3 pada posisi atom C ke-4 cincin B kuersetin (Rahmawati, 2011).

Dalam penelitian kali ini, untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh senyawa turunan flavonoid secara umum, maka dilakukan *studi in silico* dengan menggunakan metode komputasi kimia yang dilengkapi dengan aplikasi *docking molekul* yang terdapat dalam program Autodock Vina dengan bantuan MGL Tools 1.5.4 (*Autodock tools*) . Dengan memanfaatkan informasi dari struktur target maupun sifat fisikokimia ligan dapat dilakukan skrining uji interaksi senyawa-senyawa yang diketahui aktif pada prediksi sisi aktif protein. Berdasarkan informasi yang diperoleh, dirancang senyawa baru yang diharapkan lebih aktif dari senyawa induknya.

B. Rumusan Masalah

1. Bagaimana model interaksi senyawa-senyawa turunan flavonoid terhadap sisi pengikatan(*binding site*) enzim *tirosinase* (pdb 1WX4) ?
2. Bagaimana desain senyawa turunan flavonoid yang dapat memberikan efek penghambatan enzim *tirosinase* yang lebih baik ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengkaji model interaksi antara senyawa turunan flavonoid dengan enzim *tirosinase* pada sisi pengikatan.
2. Mendesain model senyawa turunan flavonoid yang memiliki efek penghambatan aktivitas enzim *tirosinase* yang lebih baik.

D. Manfaat Penelitian

Senyawa terbaik yang diperoleh dapat diusulkan untuk disintesis, dan selanjutnya digunakan pada pengujian secara *in vitro* pada enzim *tirosinase* dan *in vivo* pada hewan percobaan.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Studi In silico (Docking Molekuler)

Studi *in silico* merupakan pendekatan pada suatu kondisi/keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu dalam mendesain obat. Metode *in silico* merupakan suatu metode yang menarik dan menjanjikan dalam mengidentifikasi senyawa baru karena lebih cepat dan biaya yang lebih ekonomis (Geldenhuis, 2006).

In silico ini cakupannya cukup luas, termasuk diantaranya (Geldenhuis, 2006) :

1. Studi *Docking*, dimana merupakan pembelajaran komputasi pada ligan atau obat yang akan berikatan dengan protein target.
2. Formasi Kimia, dimana aktivitas dan struktur berkorelasi dengan menggunakan sarana statistika.
3. Bioinformatika, dimana target obat berasal dari data genom.

Perangkat lunak yang tersedia untuk desain dan pengembangan obat di dalam komputer, berasal dari sumber yang berbeda. Termasuk diantaranya, perusahaan komersial, lembaga akademik, dan sumber terbuka. Masing-masing sumber ini memiliki kelebihan dan kontra, pemilihan perangkat lunak yang sesuai bervariasi untuk tiap lembaga yang menggunakannya. Paket perangkat lunak ini juga berbeda dalam hal biaya, fungsionalitas dan kemanjuran (Geldenhuis, 2006).

Tabel 1. Ringkasan pertimbangan ketika memilih *In silico* dalam desain obat (Geldenhuys, 2006).

	Penjual Perangkat Lunak		
	Lembaga Pendidikan	Perusahaan Komersial	Sumber Terbuka
Harga	Tidak Terlalu mahal	Mahal	Gratis
Validasi atau Pengujian	Biasanya pengujiannya dengan beberapa bug yang diperlukan untuk dilaporkan	Diuji beberapa bug	Tanggung jawab dari pengujian jatuh pada pengembangan dan penggunaan produk oleh masyarakat
Dukungan	Bervariasi dari produk ke produk	Tepat waktu	Tergantung pada pengembangan dan pengguna yaitu beberapa pengembang <i>open source</i> kontrak, sebagai layanan pendukung.
Pengguna bersahabat	Bervariasi	Ya	Jarang
Penyesuaian	Kadang-kadang	Dukungan akan membantu dengan penambahan produk	Sangat mudah beradaptasi dan memiliki derajat fleksibilitas terbesar untuk memenuhi tuntutan perusahaan

Tabel diatas, memberikan beberapa pertimbangan yang mungkin digunakan oleh perusahaan atau ilmuwan ketika mengevaluasi sebuah paket perangkat lunak (software) baru (Geldenhuys, 2006).

Molekuler *docking* merupakan suatu prosedur komputasi untuk memprediksikan konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan yang merupakan molekul kecil atau protein lain. Dengan kata lain, molekuler *docking* mencoba untuk memprediksi struktur antarmolekul

yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul (Dias, 2008)

Docking juga menggambarkan suatu proses yang dilakukan oleh dua molekul secara bersamaan dalam ruang tiga dimensi. Molekuler *docking* telah memberikan kontribusi yang sangat penting dalam proses penemuan obat selama bertahun-tahun. Salah satu motivasi utama dalam penemuan obat adalah mengidentifikasi kedudukan molekul kecil yang inovatif, menunjukkan afinitas pengikatan yang tinggi, dan selektivitas pada target yang bersamaan dengan suatu kelayakan profil ADME (Adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi). Merancang obat-obatan memerlukan teknik untuk menentukan dan memprediksi geometri, konformasi, dan sifat elektronik molekul yang kecil (obat dengan berat molekul kurang dari 800) dan makromolekul (reseptor protein) (Krovat, 2005; Nogrady, 2005: 58).

B. Flavonoid

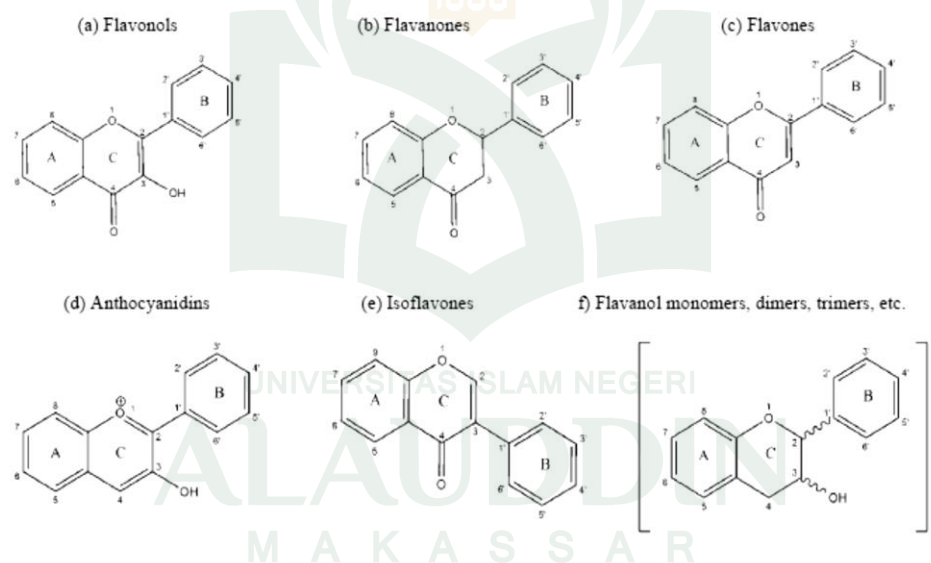
Polifenol adalah sekelompok senyawa kimia yang bertanggung jawab pada warna bunga. Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang memiliki gugus fenolik dan cincin piran, memiliki kerangka dasar yang terdiri dari 15 atom karbon. (Jen-Wen, 2008; Walters, 2008).

Flavonoid banyak dijumpai pada buah-buahan, sayuran, tanaman obat, dan minuman populer seperti anggur merah, teh, dan bir. Struktur umum flavonoid terdiri dari dua cincin aromatis (A dan B), masing-masing berisi sedikitnya satu gugus hidroksil. Cincin ini berikatan dengan tiga atom karbon dan satu atom oksigen untuk membentuk suatu oksigen heterosiklik (cincin C).

Flavonoid dibagi lagi menjadi subclass berdasarkan (Tarragona, 2007: 24; Jen-Wen, 2008) :

- Sambungan dari salah satu cincin aromatik pada cincin heterosiklik,
- Bentuk oksidasi dan gugus-gugus fungsional dari cincin heterosiklik (tingkat oksidasi pada cincin-C); dan
- Derajat polimerisasi.

Oleh karena itu, menurut struktur kimianya, enam subclass utama flavonoid adalah flavonol, flavanones, flavon, anthocyanidins, isoflavon dan flavanol (catechin) (Tarragona 2007, 24; Jen-Wen, 2008).

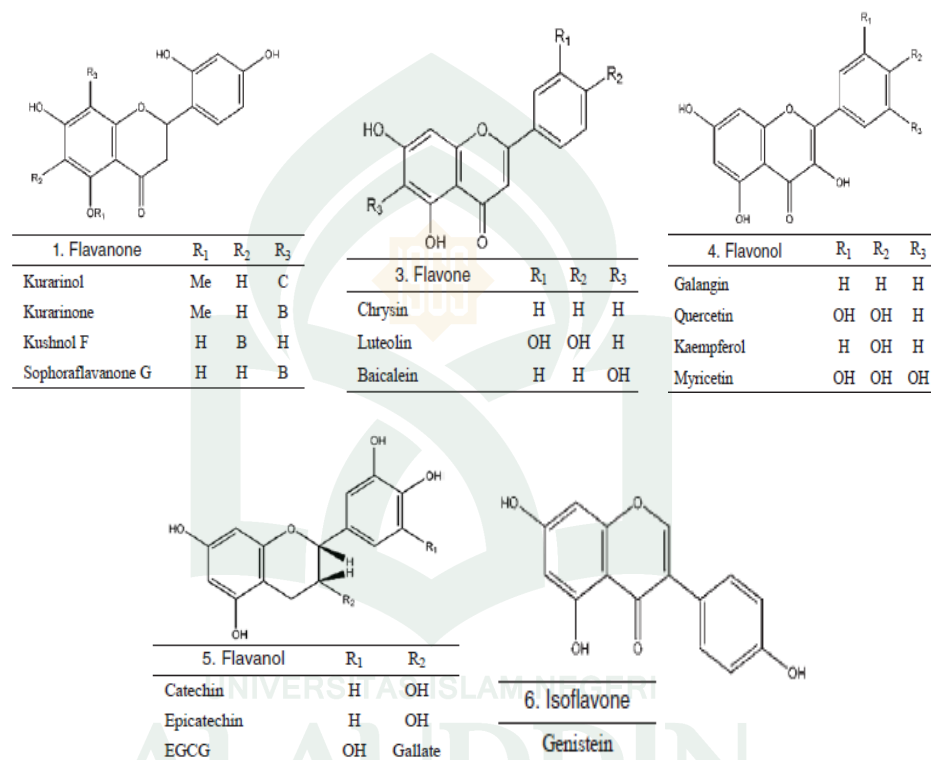


Gambar 1. Struktur molekul senyawa polifenol dari flavonoid (Tarragona, 2007: 39)

Kelompok-kelompok ini berbeda dalam konjugasi cincin dan posisi hidroksi, metoksi, dan kelompok glikosida. Dengan demikian, flavonoid dengan gugus gula yang disebut flavonoid glikosida dan dalam bentuk yang tidak terikat dengan gula disebut *aglycone*. Jadi, kegiatan biologis flavonoid dan metabolitnya bergantung pada struktur kimianya dan orientasi relative dari berbagai gugus molekul. Flavanol adalah salah satu turunan yang paling

melimpah dari flavonoid, sering disebut sebagai flavan-3-ol atau katekin. (Tarragona, 2007: 25; Walters, 2008)

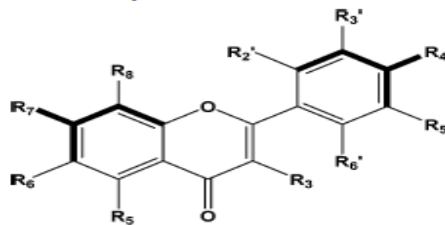
Telah dilaporkan bahwa flavonoid menghambat enzim *tirosinase* berdasarkan kemampuannya untuk mengkhelat tembaga pada sisi aktifnya (Jen-Wen, 2008).



Gambar 2. Struktur kimia dari polifenol dengan penghambatan *tirosinase* (Jen-Wen Lin, 2008).

Sebuah studi baru yang dilakukan oleh Kim dan kawan-kawan, menunjukkan bahwa substitusi hidroksi pada cincin A dan B flavonoid sangat penting dalam penghambatan aktivitas enzim *tirosinase*. Akan tetapi substitusi hidroksi yang berlebihan dapat menghalangi penghambatan *tirosinase*. Studi tersebut merujuk pada IC₅₀ yaitu konsentrasi dimana sampel (senyawa turunan flavonoid) dapat menghambat 50% dari aktivitas enzim. Adapun data aktivitas

senyawa-senyawa flavonoid sebagai penghambat aktivitas enzim *tirosinase*, sebagai berikut (Donghyun, 2006):



Gambar 3. Struktur Flavonoid

Tabel 2. Data aktivitas biologis senyawa-senyawa flavonoid sebagai inhibitor *tirosinase* (Donghyun, 2006).

Senyawa No	R ₃	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R _{2'}	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	R _{6'}	IC ₅₀ (μM)
1				OH	OH		OH	OH			0.07
2	OH	OH		OH				OH			3.49
3		OH		OH		OH					8.51
4	OH			OH				OH			8.88
5				OH		OH					12.78
6				OH	OH			OH			12.95
7		OH		OH			OH	OH			17.48
8				OH			OH	OH			24.10
9				OH			OH				59.00
10				OH					OH		59.00
11		OH		OH				OH			74.01
12			OH						OH		98.33
13	OH	OH		OH		OH		OH			99.26
14				OH				OH			118.00
15		OH		OH							137.67
16	OH		OH			OH		OH			139.49
17			OH				OH	OH			174.67
18		OH	OH	OH				OH			174.68
19	OH							OH			177.00
20	OH			OH			OH	OH			181.67
21	OH							OH	OH		222.02
22			OH	OH							236.00
23	OH	OH		OH			OH	OH	OH		277.54
24	OH	OH	OH	OH			OH	OH			314.23
25		OH						OH			393.32

Vitamin E (d-tokoferol dan derivatif) juga mungkin merupakan antioksidan utama di kulit dan mudah habis setelah paparan sinar matahari. Antioksidan jaringan kulit normal adalah vitamin E, vitamin C, glutation,

koenzim Q10, dan α -lipoic. Kemampuan ini dimiliki oleh flavonoid dan karotenoid. Kandungan Betakaroten, dari vitamin A merupakan penangkal radikal bebas yang kuat. Diperkirakan menunjukkan bahwa salah satu molekul dari betakaroten dapat mengatasi 1000 radikal bebas (Walters, 2008; 52, 53).

C. Enzim Tirosinase

Enzim adalah biokatalisator, artinya zat-zat yang mempunyai asal biologi yang dapat mempercepat perubahan kimia. Kerja katalik suatu enzim, yaitu aktivitas enzim yang diukur dengan cara menentukan pertambahan kecepatan reaksi pada kondisi yang telah ditentukan (Koolman, 2001; 86).

Enzim merupakan suatu protein yaitu suatu senyawa yang tersusun dari rangkaian asam amino yang terikat satu sama lain dengan ikatan peptida. Karena merupakan suatu protein, maka sifat yang dimiliki oleh suatu protein tentunya dimiliki oleh enzim juga. Enzim mengkatalisis reaksi kimia yang berlangsung di dalam sel tubuh. Enzim terikat sementara pada reaktan yang dikatalisisnya, dan kembali seperti semula setelah terbentuk produk (Saryono, 2011; 3, 4).

Karakteristik sisi aktif enzim (Saryano 2011; 13) :

1. Merupakan bagian kecil dari enzim
2. Sisi aktif merupakan suatu cekungan yang bersifat 3D, yang berfungsi untuk memberikan lingkungan mikro yang sesuai untuk terjadinya suatu reaksi kimia.
3. Substrat terikat pada sisi aktif dengan interaksi/ikatan yang lemah.

4. Spesifitas enzim dipengaruhi oleh asam amino yang menyusun sisi aktif suatu enzim.
5. Sisi aktif mempunyai 2 bagian yang penting :
 - a. Bagian yang mengenal substrat dan kemudian mengikatnya.
 - b. Bagian yang mengkatalisis reaksi, setelah substrat diikat oleh enzim.
6. Asam amino yang membentuk kedua bagian tersebut tidak harus berdekatan dalam urutan secara linear, tetapi dalam konformasi 3D dalam bentuk berdekatan.

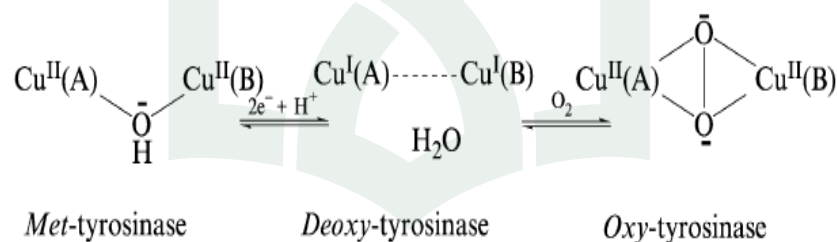
Tirosinase merupakan enzim yang memiliki beberapa fungsi penting sebagai katalis, seperti hidrosilasi dari fenol di dalam cathecol, dehidrogenasi (pengurangan hidrogen) dari katekol menjadi o-quinon, dan konversi tirosin menjadi pigmen melanin (Donghyun, 2006; Hong, 2007).

Tirosinase disintesis oleh ribosom melanosomal yang terdapat pada retikulum endoplasma kasar, pada rute glikolisis, dan dalam golgi. *Tirosinase* diturunkan dari orthoquinone (dopaquinone) dan selanjutnya intermediate cyclodopa, dihydroxyindole (DHI), indolequinone semua reaktif dan mungkin sitotoksik (Jen-Wen, 2008; Walters, 2008: 68).

Tirosinase adalah enzim dengan dua atom tembaga, dan oksigen pada sisi aktifnya yang masing-masing terkoordinasi oleh tiga histidin. Sisi aktifnya mengikat fenol monohidrat (misalnya tirosin) dengan melakukan pengaturan untuk mengubahnya menjadi ortokuinon (dopakuinon) dan deoksi enzim. Enzim ini mengkatalisis dua reaksi yaitu hidrosilasi dari monofenol (L-

tirosin) menjadi o-difenol (3,4 difenilalanin, L-DOPA) dan mengoksidasi o-dikuinon menjadi o-kuinon (Walters, 2008, 68; Halaban, 2002).

Sisi aktif dari *tyrosinase* terdiri dari dua atom tembaga (Cu), dan hal ini mengakibatkan dalam enzim tersebut terdapat tiga proses oksidasi yang berlainan (Gambar 4). *Tyrosinase* asli, terjadi sebagai *met-tyrosinase* yang tidak dapat berikatan dengan oksigen, dimana kedua atom tembaga memiliki ion Cu^{2+} . Dua elektron yang mereduksi *met-tyrosinase* menghasilkan bentuk *deoxy-tyrosinase*, yang memiliki muatan atom tembaga Cu^+ . *Deoxy-tyrosinase* berikatan dengan dua molekul oksigen membentuk *oxy-tyrosinase*. Keterkaitan dari ketiga bentuk *tyrosinase* dapat dilihat pada Gambar 4 (Abelson, 2004)

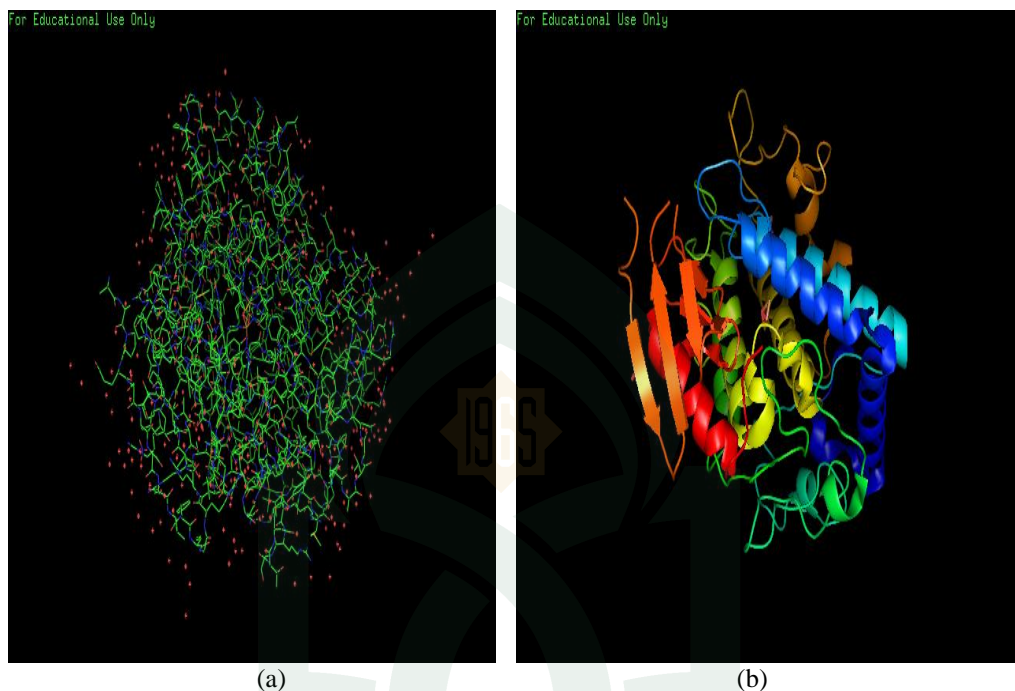


Gambar 4. Bentuk oksidasi dari tyrosinase

Substrat alami tirosin dioksidasi oleh *oxy-tyrosinase* menjadi dopaquinon yang dapat membentuk dua jalur, cycoldopa yang akan menjadi pigmen *eumelanin* memberikan warna hitam atau coklat dan cysteinyldopa akan menjadi pigmen *pheomelanin* yang memberikan warna merah atau kuning (Christopher 2010 ; 264).

Enzim *tyrosinase* terdaftar pada *Protein Data Bank* (PDB) dengan ID “1WX4” sebagai *Crystal structure of the oxy-form of the copper-bound Streptomyces castaneoglobisporus tyrosinase complexed with a caddie prot*

prepared by the addition of dithiothreitol, memiliki rantai polipeptida yang terdiri dari 40% heliks (14 heliks, 114 residu) dan 3% beta sheet (8 standar, 11 residu) (Anonim, 2010).



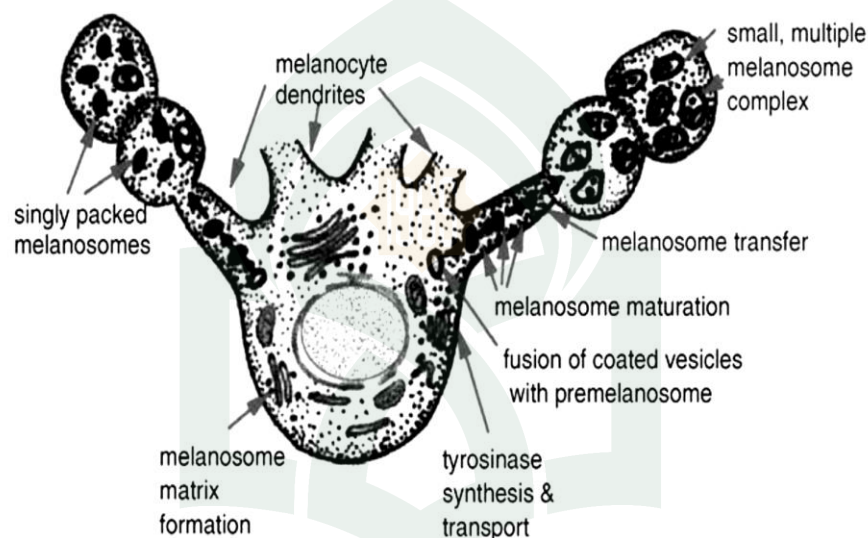
Gambar 5. Struktur enzim *tyrosinase* yang diperoleh dari RSCB Protein Data Bank kode “1WX4”. Ditampilkan dengan PyMol viewer. (a) Bentuk Stick, (b) Bentuk Ribbon.

D. Pembentukan Melanin

Melanin adalah istilah umum yang diberikan pada sekelompok pigmen fenolik yang dihasilkan dari tirosin, dan senyawa berkaitan dengan polimerisasi oksidatif (Hong, 2007)

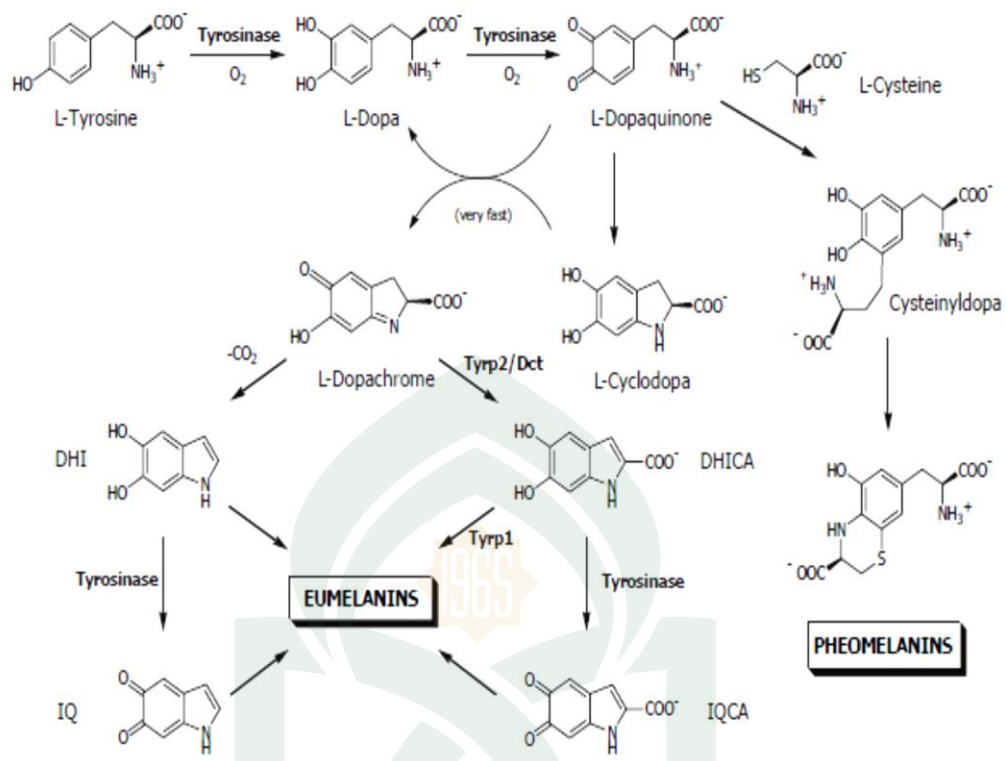
Warna kulit manusia tergantung pada jumlah, ukuran, jenis, dan distribusi ukuran partikel sitoplasma yang disebut melanosom. Melanosom mengandung *biochrom* coklat yaitu melanin. Dengan demikian sintesis melanin merupakan sumber utama dari warna kulit, dan berperan penting dalam perlindungan terhadap UV yang dapat menyebabkan iritasi pada kulit,

namun kelebihan produksi melanin tidak hanya menimbulkan masalah estetika tetapi juga merupakan masalah dermatologis. Diketahui bahwa *tirosinase* adalah kunci enzim untuk biosintesis melanin. Oleh karena itu, inhibitor *tirosinase* telah dilaporkan dan di uji sebagai agen terapi dalam pengobatan hiperpigmentasi melanin dan sebagai kosmetik untuk memutihkan setelah terbakar sinar matahari (Jen-Wen, 2008; Hartanti, 2008).



Gambar 6. Struktur Biologi Melanin (Jen-Wen, 2008)

Melanosom memproduksi dua bahan kimia yang berbeda dari pigmen melanin. Yang pertama yaitu *eumelanin* berwarna gelap (coklat-hitam) berasal dari polimerisasi oksidatif *dihydroxyindolequinones*, yang kedua yaitu *pheomelanin* berwarna cerah (merah-kekuningan) berasal dari *cysteinyldopa*. Dalam sintesis pembentukan eumelanin dan pheomelanin sekarang ini telah dipahami bahwa sintesis tersebut terbentuk dari tirosin melalui jalur Raper-Mason Enzimatik (Walters, 2008: 67).



Gambar 7. Sintesis Raper-Mason enzimatis dari melanin (Kenneth, 2008)

E. Interaksi Molekuler

Ada beberapa tempat yang biasa menjadi target aksi obat, yaitu kanal ion, enzim, suatu transporter (*carrier* atau protein pembawa), atau pada reseptor. Sebagian besar obat bekerja pada membran sel, baik pada reseptor, kanal ion, atau suatu molekul pembawa/transporter. Sebagian besar reseptor yang telah teridentifikasi merupakan reseptor membran, yang berada dipermukaan sel. Namun, adapula target aksi yang di dalam sel, yaitu enzim dan reseptor intraseluler atau reseptor inti (Zullies, 2008: 1,2).

Aksi obat pada enzim diperantarai oleh sedikitnya 2 mekanisme, yaitu (Zullies, 2008; 31):

1. Molekul obat bertindak menjadi substrat analog yang bereaksi sebagai inhibitor kompetitif bagi enzim.
2. Molekul obat bertindak sebagai substrat yang salah/palsu (*flase substrate*), sehingga molekul obat mengalami transformasi kimia oleh enzim, tetapi membentuk produk yang abnormal (yang tidak diharapkan). Hal ini membuat jalur metabolic terganggu/berubah.

Semua molekul dalam sel akan mengalami interaksi satu sama lain. Interaksi antarmolekul tersebut akan menentukan sifat-sifat biologis molekul-molekul di dalam sel. Pada umumnya interaksi molekuler tersebut berupa interaksi nonkovalen, yaitu interaksi antar atom yang tidak terikat secara kovalen satu sama lain. Beberapa ikatan nonkovalen yang penting adalah ikatan hidrogen, ikatan ionik, interaksi van der Waals, dan Interaksi hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang banyak terdapat dalam sistem biologis, misalnya pada asam nukleat dan protein. Pada asam nukleat, ikatan hidrogen menyebabkan terjadinya pasangan antar-untaian antarbase nukleotida, misalnya antara *adenine* dengan *thymine* (A-T); pada protein, ikatan hidrogen terjadi antara gugus NH dan CO pada rantai utama α -heliks (Yuwono, 2005: 30).

F. AutoDock Vina[®] dan PyMol[®]

Saat sekarang ini penggunaan komputer untuk memprediksi pengikatan dari molekul-molekul kecil untuk mengetahui struktur target yang merupakan komponen sangat penting dari proses penemuan obat. Pada

umumnya *software* yang sering digunakan untuk simulasi *molecular docking* seperti Autodock (Umamaheswari, 2012).

AutoDock Vina merupakan program *open-source* baru untuk penemuan obat, Molecular docking dan virtual screening, offering multi-core capability, kualitas yang tinggi dan akurat serta mudah digunakan (Anonim, 2012).

AutoDock Vina telah dirancang dan diimplementasikan oleh Dr Oleg Trott di Lab Grafis Molekuler di The Scripps Research Institute. Untuk input dan output, vina menggunakan format file PDBQT sama dengan AutoDock. AutoDock Tools adalah sebuah modul di dalam paket perangkat lunak MGL tools khusus untuk menghasilkan masukan (PDBQT file) untuk AutoDock atau Vina (Anonim, 2012).

PyMol[®] viewer 1.1 adalah software yang digunakan untuk visualisasi molekular dan animasi struktur 3D. Dengan menggunakan PyMol, memungkinkan interpretasi lebih dari 3D format file yang berbeda dari PDB. Program ini diciptakan oleh Warren L. DeLano (Anonim, 2010).

G. Tinjauan Islam

Surah Al-Alaq (Departemen Agama RI, 2002; 598)

أَقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ ﴿١﴾

Artinya:

“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu Yang menciptakan”
(Qs. 96; 1).

Dalam pengertian ayat pertama ini, menyatakan : bacalah wahyu-wahyu Ilahi yang sebentar lagi akan banyak engkau terima dan baca juga alam dan masyarakatmu. Bacalah agar engkau membekali dirimu dengan kekuatan pengetahuan. Bacalah semua itu tetapi dengan syarat hal tersebut engkau lakukan dengan atau demi nama Allah SWT. Yang selalu memelihara dan membimbingmu dan menciptakan semua makhluk kapan dan dimana pun. Kata *iqra'* berasal dari kata *qara'a* yang pada mulanya berarti menghimpun. Dalam kamus-kamus ditemukan aneka ragam arti dari kata tersebut, antara lain : menyampaikan, menelaah, meneliti, mengetahui ciri-ciri sesuatu, dan sebagainya yang kesemuanya bermuara pada arti menghimpun. Karena banyaknya pendapat yang berbeda, alhasil *iqra'* mencakup telaah terhadap alam raya, masyarakat, dan diri sendiri, serta bacaan tertulis, baik suci maupun tidak suci (Shihab, 2009; 454).

Dari makna diatas, surah Al-Alaq dapat dijadikan sebagai landasan penelitian, dalam artian kita sebagai peneliti muda haruslah menghimpun atau membaca literatur-literatur terkait sehubungan dengan penelitian kita untuk menambah ilmu dan wawasan mengenai apa yang diteliti, dengan selalu menyebut nama Allah SWT. sebelum melakukan apa saja, supaya dimudahkan dalam memetik hikmah-hikmah yang bermanfaat dalam literatur sebagai dasar penelitian yang dilakukan.

أَقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ ﴿٣﴾

Artinya:

“Bacalah, dan Tuhanmulah yang Maha Mulia” (Qs. 96; 3).

Setelah memerintahkan membaca dengan menyebut nama Allah SWT., kini ayat diatas memerintahkan membaca dengan menyampaikan janji Allah SWT. atas manfaat membaca. Allah SWT. berfirman : bacalah berulang-ulang dan Allah SWT. Pemelihara dan Pendidikmu Maha Pemurah sehingga akan melimpahkan aneka karunia. Salah satu pendapat ulama akan hal ini adalah perintah untuk belajar, dan perintah untuk mengajar orang lain (Shihab, 2009; 460).

Dari makna diatas, ayat ketiga surah Al-Alaq ini menggambarkan manfaat yang diperoleh dari bacaan bahkan pengulangan bacaan tersebut. Allah SWT. menjanjikan pada saat seseorang membaca dengan ikhlas karena Allah SWT., maka Dia akan menganugerahkan kepadanya ilmu pengetahuan, pemahaman-pemahaman, wawasan-wawasan baru. Kegiatan membaca Al-Quran menimbulkan penafsiran-penafsiran baru atau pengembangan dari pendapat-pendapat yang telah ada. Demikian, juga dengan kegiatan membaca alam raya ini telah menimbulkan penemuan-penemuan baru yang membuka rahasia-rahasia alam. Inilah pelajaran yang sangat bermanfaat dari Allah SWT., melalui perantara sumber-sumber ilmu yang dia ciptakan, seperti buku, media komunikasi yang ada di alam raya, masyarakat, bahkan diri kita sendiri (Shihab, 2009; 463).

عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ

Artinya:

“Dia mengajarkan manusia tentang apa yang tidak diketahuinya”
(Qs. 96; 5)

Sebagaimana yang diketahui bahwa manusia itu pada dasarnya tidak mengetahui apa-apa, akan tetapi Allah SWT. mengajarkan Ilmu kepadanya, sehingga kita dapat mengetahui sesuatu yang tadinya tidak diketahui, seperti pada penelitian, kita melakukan penelitian guna untuk mencari ilmu. Hal ini merupakan kemurahan dari Allah SWT. yang mengajarkan manusia tentang sesuatu yang tidak diketahuinya melalui sarana dan usaha yang dilakukan oleh manusia (Shihab, 2009; 463).

Ketiga ayat di atas dapat dihubungkan dengan penelitian ini, pada memahami ilmu pengetahuan yang ada di alam raya dan masyarakat dengan menggunakan sarana dan usaha dalam memanfaatkan teknologi komputer dengan software tertentu sebagai alat yang dapat melakukan pemodelan molekul. Hal ini merupakan salah satu pembelajaran yang harus dibaca dan dipahami dalam artian dimengerti untuk diambil manfaatnya, khususnya di bidang farmasi, dengan adanya teknologi ini dapat memudahkan kita sebagai seorang farmasis dalam memprediksi senyawa obat yang dapat memberikan efek terbaik di dalam tubuh, sehingga dalam proses sintesisnya nanti dapat mengesvisienkan biaya dan waktu.

Surah Yunus (Departemen Agama RI, 2002; 216).

يَأْتِيهَا النَّاسُ قَدْ جَاءَتْكُمْ مَوْعِظَةٌ مِّن رَّبِّكُمْ وَشِفَاءٌ لِّمَا
 فِي الصُّدُورِ وَهُدًى وَرَحْمَةٌ لِّلْمُؤْمِنِينَ

Artinya :

“ *Wahai manusia ! Sungguh, telah datang kepadamu pelajaran (Al-Qur'an) dari Tuhanmu, penyembuh bagi penyakit yang ada dalam dada, dan petunjuk serta rahmat bagi orang-orang yang beriman*” (Qs. 10; 57)

Ayat di atas menegaskan adanya empat fungsi Al-Qura'an: *pengajaran, obat, petunjuk, serta rahmat*. Thahir Ibn Asyur mengemukakan bahwa ayat ini memberi perumpamaan tentang jiwa manusia dalam kaitannya dengan kehadiran Al-Qur'an. Ulama itu memberi ilustrasi lebih kurang sebagai berikut: Seseorang sakit adalah yang tidak stabil kondisinya, timpang keadaannya, lagi lemah tubuhnya. Ia menanti kedatangan dokter yang dapat memberinya obat guna kesembuhannya. Sang dokter tentu saja perlu memberi *peringatan* kepada pasien ini menyangkut sebab-sebab penyakitnya dan dampak-dampak kelanjutan penyakit itu, lalu memberinya *obat* guna kesembuhannya, kemudian memberi *petunjuk* dan saran tentang cara hidup sehat agar kesehatannya dapat terpelihara sehingga penyakit yang dideritanya tidak kambuh lagi. Nah jika yang bersangkutan memenuhi tuntunan sang dokter niscaya ia akan sehat sejahtera dan hidup bahagia serta terhindar dari segala penyakit. Dan itulah *rahmat* yang sangat besar (Shihab, 2009; 440).

Hubungan ayat tersebut dengan penelitian ini menyangkut masalah pengobatan. Dimana hiperpigmentasi merupakan salah satu penyakit kulit yang di akibatkan karena adanya proses pembentukan melanin yang berlebihan. Oleh karena itu seorang farmasis mencoba untuk menemukan suatu obat yang dapat menghambat proses pembentukan melanin dengan langsung menghambat enzim yang berperan penting dalam pembentukan melanin yaitu enzim *tirosinase*. Penelitian ini diharapkan untuk bisa melihat langsung bagaimana

interaksi obat reseptor di dalam tubuh, dengan menggunakan pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer.

Hadist Tentang Pengobatan (Anonim, 2011)

HR. Ahmad dan Ashhabus sunan

عَنْ أُسَامَةَ بْنِ شَرِيحٍ قَالَ أَتَيْتُ النَّبِيَّ صَلَّى
 اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ وَأَصْحَابُهُ عِنْدَهُ كَأَنَّمَا عَلَى رُءُ
 وَسِيهِمِ الطَّيْرُ قَالَ فَسَلَّمْتُ عَلَيْهِ وَقَعَدْتُ عَلَيْهِ وَأُ
 قَعَدْتُ قَالَ فَجَاءَتْ الْأَعْرَابُ فَسَأَلُوهُ فَقَالُوا يَا
 رَسُولَ اللَّهِ نَتَدَاوَى، قَالَ نَعَمْ تَدَاوَوْا فَإِنَّ اللَّهَ لَمْ
 لَمْ يَضَعْ دَاءً إِلَّا وَضَعَ لَهُ دَوَاءً غَيْرَ دَاءٍ وَاحِدٍ
 الْهَرَمُ

Artinya :

“Dari Usamah bin Syuraik ra, ia berkata, “Aku datang menemui Nabi SAW dan sahabat-sahabatnya disampingnya, seolah-olah diatas kepala mereka ada burung (karena hormat dan ta'zhim mereka kepada nabi). Aku mengucapkan salam kepadanya dan akupun duduk, ia (Usamah bin Syuraik) berkata, “Datanglah Arab badui, mereka pun bertanya. Ya Rasulullah : “Apakah kami boleh berobat”. Jawab Nabi SAW, “Berobatlah kamu, karena sesungguhnya Allah tidak membuat penyakit kecuali menyediakan obatnya, kecuali satu penyakit yaitu tua (HR. Ahmad dan Ashhabus sunan)”.

HR. Al-Bukhari dan Ibnu Majah

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ دَوَاءً

Artinya :

“Dari Abu Hurairah ra, ia berkata, Rasulullah saw bersabda “Tidaklah Allah menurunkan penyakit kecuali Allah telah menurunkan juga obat bagi penyakit itu” (HR. Al-Bukhari dan Ibnu Majah)”.

HR. Muslim

عَنْ جَابِرٍ عَنِ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya :

“Dari Jabir ra, dari Nabi SAW bahwa ia bersabda, “Semua penyakit ada obatnya, maka jika penyakit telah diobati, ia akan sembuh dengan izin Allah ‘Azza wa Jalla” (HR. Muslim)”.

HR. Abu Dawud

عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالدَّوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَّأُوا وَلَا تَدُّوْا بِحَرَامٍ

Artinya :

“Dari Abu Darda’ berkata, bahwa Rasulullah bersabda, “Sesungguhnya Allah SWT menurunkan penyakit serta obat dan diadakannya bagi tiap penyakit obatnya, maka berobatlah kamu, tetapi janganlah kamu berobat dengan yang haram” (HR. Abu Daud)”.

Berobat atas penyakit adalah wajib, namun berobat dengan yang diharamkan adalah dilarang. Bila kita dalam keadaan sakit, maka kita harus berobat kepada ahlinya, karena setiap penyakit itu ada obatnya. Perlu

diketahui bahwa kewajiban kita adalah berobat, sedangkan kesembuhannya datang dari Allah SWT (Al-Uswah, 2011).

Dari keempat hadis diatas telah jelas bahwa kewajiban kita sebagai hamba Allah SWT., adalah berobat jika kita terkena penyakit. Seperti tiga kata yang sering kita dengar yaitu, berusaha (ikhtiar), berdoa, dan tawakkal. Karena di setiap usaha yang kita lakukan haruslah selalu di kembalikan kepada Allah SWT., karena hanya Dia-lah yang Maha menentukan segala-galanya.

Dalam penelitian ini, seorang farmasis sebagai ahli dalam pengobatan dan penemuan obat, yang berusaha untuk membuat/menemukan obat untuk suatu penyakit merupakan tugas yang mulia jika di amalkan. Oleh karena itu seorang farmasis yang Islami haruslah berusaha untuk bisa membuat/menemukan obat berdasarkan tuntunan agama dan meyakini bahwa obat yang di temukan merupakan perantara dari Allah SWT untuk membantu orang lain dalam menyembuhkan penyakitnya. Sebagaimana yang telah di jelaskan dalam hadis diatas bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Wallahu'alam, semoga Allah SWT selalu melindungi dan meridhoi kita.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

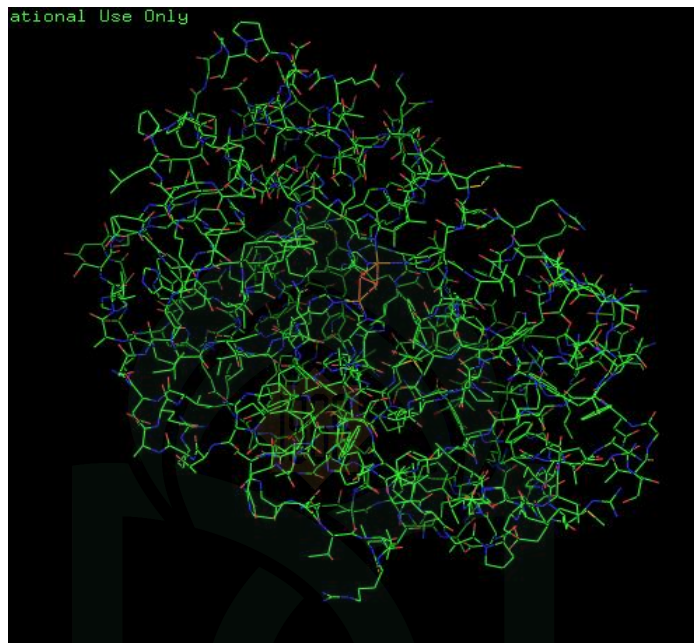
A. Bahan dan Peralatan yang Digunakan

1. Bahan yang Digunakan

Tabel 2. Data struktur molekul dan aktivitas biologis senyawa turunan Flavonoid (Donghyun Kim, 2009).

Senyawa No	R ₃	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R _{2'}	R _{3'}	R _{4'}	R _{5'}	R _{6'}	IC ₅₀ (μM)
1				OH	OH		OH	OH			0.07
2	OH	OH		OH				OH			3.49
3		OH		OH		OH					8.51
4	OH			OH				OH			8.88
5				OH		OH					12.78
6				OH	OH			OH			12.95
7		OH		OH			OH	OH			17.48
8				OH			OH	OH			24.10
9				OH			OH				59.00
10				OH					OH		59.00
11		OH		OH				OH			74.01
12			OH						OH		98.33
13	OH	OH		OH		OH		OH			99.26
14				OH				OH			118.00
15		OH		OH							137.67
16	OH		OH			OH		OH			139.49
17			OH				OH	OH			174.67
18		OH	OH	OH				OH			174.68
19	OH							OH			177.00
20	OH			OH			OH	OH			181.67
21	OH							OH	OH		222.02
22			OH	OH							236.00
23	OH	OH		OH			OH	OH	OH		277.54
24	OH	OH	OH	OH			OH	OH			314.23
25		OH						OH			393.32

Dan Reseptor yang digunakan adalah enzim *tirosinase* dengan kode enzim 1WX4 yang diperoleh dari *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org/pdb/>)



Gambar 8. Struktur kristalografi enzim *tirosinase* (RSCB Protein Data Bank 1WX4)

2. Peralatan yang Digunakan

Perangkat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set *notebook* dengan spesifikasi: *Processor* tipe *Intel*[®] *Pentium inside*[™], *RAM* 2 GB, dan *harddisk* 500 GB serta perangkat lunak sistem operasi *Windows*[™] *XP Professional*, *MGL Tools* (meliputi, *Autodock Vina*, *Autodock Tools 4.1*, dan *Python 2.5*), *PyMol*[®] viewer 1.1eval (visualisasi molekul) *for Windows*.

B. Prosedur Penelitian (M. Umamaheswari, 2012)

1. Optimasi Geometri Ligan dengan Hyperchame 8.0

Masing-masing senyawa uji dibuat struktur 2D menggunakan program Hyperchame 8.0. Kemudian ditambahkan atom hidrogen. Selanjutnya dilakukan optimasi geometri dengan menggunakan metode mekanika kuantum PM3 (Model Terparameterisasi 3) untuk memperoleh konformasi struktur yang paling stabil. Lalu disimpan dalam bentuk file pdb (protein data bank). Proses selanjutnya adalah melakukan perhitungan Optimasi Geometri.

2. *Penyiapan Coordinat Makromolekul dan Ligan dengan Autodocktools 4.1*

Mula-mula file enzim tirosinase dalam file pdb di buka, lalu ditambahkan atom hidrogen (*polar only*). Kemudian memilih Grid , makromolekul, memilih nama enzim untuk di simpan dalam bentuk file pdbqt. Setelah itu kembali memilih Grid, Grid box untuk menentukan koordinat dan ukuran *binding site* reseptor. Nama reseptor, ligan, letak koordinat, dan ukuran letak *binding site* disalin ke dalam notepad.

Untuk Ligan, dibuka file Ligan dalam format pdb, kemudian di simpan dalam bentuk file pdbqt.

3. *Docking Ligan dengan Reseptor dengan Autodock Vina*

Docking Ligan reseptor di lakukan dengan program Autodock vina, menggunakan *command prompt*, dengan perintah sesuai dengan file

yang telah tersimpan. Dengan sendirinya program tersebut akan melakukan kalkulasi nilai scoring dari ligan reseptor.

4. *Analisis Data*

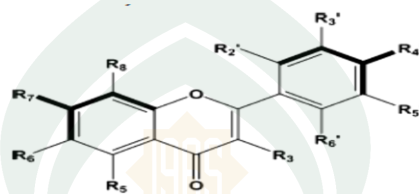
Dilakukan analisis data dari hasil *docking* pada sisi *binding site*, yang meliputi nilai *scoring* energi bebas ikatan yang di prediksi paling dekat dengan kofaktor enzim tirosina se dan mengikat asam amino tirosinase pada *binding site* (sisi pengikatan) enzim yang memiliki aktifitas tertinggi dengan nilai energi ikatan paling negatif. Dibuat kurva persamaan garis antara energi bebas ikatan (ΔG) dengan IC_{50} eksperimen. Hasil persamaan digunakan untuk prediksi IC_{50} senyawa turunan flavonoid baru hasil modifikasi yang diharapkan dapat memberikan aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang lebih baik dari senyawa sebelumnya.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Pengamatan

Data *scoring* hasil penelitian dari beberapa model senyawa turunan flavonoid terhadap penghambatan *enzim tirosinase* dengan menggunakan program MGL Tools 1.5.4. sebagai berikut :



Gambar 3. Struktur Flavonoid

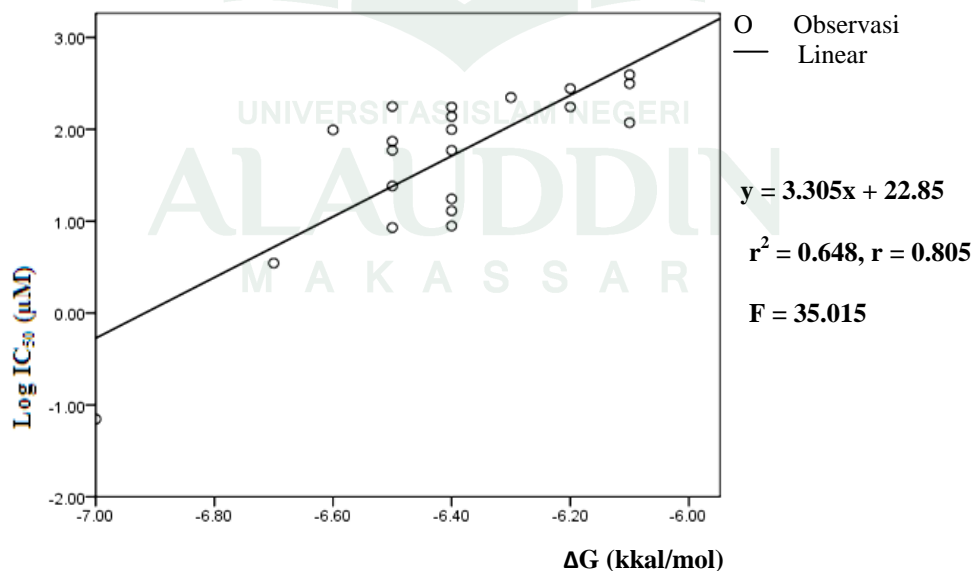
1. Nilai *Scoring* Energi Pengikatan Senyawa Turunan Flavonoid terbaik dengan enzim Tiroseinase.

Tabel 3. Nilai *scoring* beberapa senyawa turunan flavonoid

No	Modifikasi Gugus -OH	Energi Ikatan (kkal/mol)	Residu Asam amino	Atom yang berikatan
1	7, 8, 3', 4'	-7.0	Met 201 Ser 206 His 94	O - H O - O N - H
2	3, 5, 7, 4	-6.7	Arg 55	N - O
3	5, 7, 2', 4'	-6.5	Glu 182 His 194 Asn 191 Met 201	O - H N - O N - O O - O
4	3, 7, 4'	-6.2	His 194 Met 201	N - O O - O
5	7, 8, 4	-6.4	Ser 206	O - O
6	5, 7, 3', 4'	-6.4	His 194	N - H
7	7, 3', 4'	-6.5	His 194	N - H
8	7, 3'	-6.5	Asn 188	N - O
9	7, 5'	-6.4	Asn 191 Ala 202	N - O O - O
10	5, 7, 4'	-6.5	His 194 Ser 206	N - H O - O

			Asn 188	N – O
11	6, 5'	-6.6	Arg 55	N – O
12	3, 5, 7, 2', 4'	-6.4	His 194 Glu 182 Met 201	N – O O – H O – O
13	7, 4'	-6.1	Asn 191 Arg 55	O – O N – O
14	5, 7	-6.4	His 194 Met 201 Thr 203	O – O O – O O – O
15	6, 3', 4'	-6.4	Ile 42 Asn 191	O – H O – O
16	5, 6, 7, 4'	-6.2	Ser 206	O – O
17	3, 4'	-6.5	Ser 206 His 194	O – O N – H
18	3, 4', 5'	-6.3	Asn 191	N – O
19	3, 5, 7, 3', 4', 5'	-6.2	Met 201 Asn 191 Thr 203	O – H O – H O – H
20	3, 5, 6, 7, 3', 4'	-6.1	His 194 Asn 191 Arg 55	N – H O – H N – O
21	5, 4'	-6.1	Ser 206	O – O

2. Kurva korelasi antara energi bebas ikatan (ΔG) dengan Log IC_{50}



Gambar 9. Kurva korelasi antara IC_{50} dengan energi bebas ikatan ΔG antara flavonoid-1BT3 (SPSS 16)

3. *Scoring* 5 senyawa baru turunan flavonoid yang dirancang berdasarkan pendekatan **Topliss**,

Tabel 4.. Data energi bebas ikatan turunan flavonoid-1WX4 dan IC₅₀ prediksi

No	Modifikasi inti flavonoid	ΔG (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Atom yang berikatan	IC ₅₀ prediksi (μM)
1	7-Cl-3',4' di (OH)	-7.2	Ser 206 His 194	O – O N – H	0.113
2	6,7- di (Cl)- 3',4' (OH)	-6.9	Ser 206	O – O	1.110
3	4-Br-3',4' di (OH)	-7.4	Ser 206 Asn 191	O – O N – O	0.02
4	2,4- di (Cl)- 3',4' di (OH)	-7.1	Ser 206 Thr 203 His 194	O – O O – H N – H	0.242

(IC₅₀ prediksi di peroleh dari persamaan $\text{Log IC}_{50} = 3.305\Delta G_{\text{bind}} + 22.85$)

B. Pembahasan

Kimia medisinal merupakan ilmu terapan yang difokuskan pada desain atau penemuan senyawa obat kimia baru, optimisasi dan pengembangannya sehingga diperoleh molekul obat yang berguna dalam proses pengobatan penyakit. Pemanfaatan komputer akhir-akhir ini menjadi tawaran yang sangat menarik sebagai alat bantu dalam penemuan obat. Kemampuan komputasi yang meningkat secara eksponensial merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. *In silico* merupakan metode pendekatan suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu dalam mendesain obat, salah satunya studi *docking* (Galdenhuys, 2006).

Tujuan dari studi *docking* protein dan ligan yaitu untuk memprediksi model pengikatan ligan pada daerah yang dominan yang dikenal dengan protein pada struktur tiga dimensi (Puspaningtyas, 2011).

Dalam penelitian ini dilakukan *docking* antara turunan senyawa flavonoid dengan enzim tirosinase untuk mengetahui model interaksinya pada *binding site* enzim, dengan menggunakan program Autodock vina dengan bantuan MGL Tools 1.5.4 (*Autodock tools*).

Tirosinase merupakan enzim utama dalam melanogenesis yang terdapat dalam melanosit atau sel pigmen. Fungsi *tirosinase* adalah mengkatalisis reaksi dalam biosintesis melanin dari tirosin melalui reaksi biokimia di dalam melanosit (Puspaningtyas, 2011). Beberapa senyawa flavonoid telah dilaporkan dapat menghambat aktivitas dari enzim *tirosinase* (Jen-Wen, 2008).

Dalam penelitian ini dilakukan *docking* 25 senyawa turunan flavonoid terhadap enzim *tirosinase* (1WX4) yang di peroleh dari *RSCB Protein Data Bank*. Senyawa-senyawa tersebut di gambar struktur 2D menggunakan program *Hyperchame 8.0*, dan di optimasi geometri dengan menggunakan metode semiempirik PM3 (*Model Terparameterisasi 3*) untuk memperoleh struktur yang lebih stabil, kemudian di simpan dalam format file pdb.

Proses *docking* yang dilakukan, menggunakan program Autodock Vina dengan bantuan MGL Tools 1.5.4 (*Autodocktools*), untuk mengkonversi ligan dan reseptor dalam bentuk file PDB ke bentuk file PDBQT yang merupakan perpanjangan dari format file pdb. Sebelumnya makromolekul harus di protonisasi pada bagian polarnya saja, selain itu Autodock tools juga membantu dalam mengatur grid box dari makromolekul, dimana hal ini akan menentukan posisi dari sisi pengikatan (*binding site*) dari enzim tirosinase

yang sebelumnya telah di hilangkan molekul airnya guna untuk mendekati dengan keadaan yang sebenarnya, yaitu berupa asam-asam amino yang berada di sekitar Cu_2O_2 (Cu 400 & Cu 401, PER 409) (Anonim, 2011).

Program ini menggunakan fungsi *scoring* energi bebas ikatan (*Ascore*) sebagai parameternya. Adapun perhitungan *docking* menggunakan *command prompt* atau konfigurasi file dengan bantuan vina, untuk menampilkan atau mengoprasikan perintah sesuai dengan format-format tertentu, dan akan menghasilkan keluaran berupa energi bebas ikatan (ΔG_{bind}) yang menggambarkan kekuatan/afinitas ikatan yang dihasilkan dari interaksi ligan-reseptor, berupa energi rendah pada pembentukan kompleks obat reseptor. Energi pengikatan hasil *scoring* berupa fungsi energi bebas Gibbs (ΔG) sebagai penjabaran dari hukum termodinamika ketiga. Data ini menunjukkan kestabilan interaksi (ikatan) ligan dengan reseptor pada *binding site*. $\Delta G < 0$ reaksi berjalan spontan (reaksi berjalan ke produk). $\Delta G = 0$ reaksi berjalan reversibel. $\Delta G > 0$ reaksi tidak terjadi (reaksi berjalan ke arah reaktan). Semakin kecil nilai ΔG , semakin kuat ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor, dan semakin stabil.

Ikatan yang selektif antara obat/ligan dengan reseptornya ditentukan oleh pengenalan energi dan struktur kedua molekul. Yang dimaksud dengan pengenalan energi pada interaksi antara obat dan reseptor adalah kondisi energi rendah pada pembentukan kompleks obat-reseptor. Aktivitas biologi obat tergantung kepada afinitas obat terhadap reseptornya, yaitu stabilitas kompleks obat-reseptor berikut:

$$K_d = \frac{[\text{obat}][\text{reseptor}]}{[\text{obat-reseptor}]}$$

Dimana K_d adalah tetapan disosiasi kompleks obat reseptor pada kesetimbangan. Makin kecil nilai K_d artinya makin stabil kompleks obat-reseptor tersebut serta makin tinggi afinitas obat tersebut terhadap reseptornya. Oleh karena itu K_d seringkali digunakan untuk menggambarkan afinitas ikatan (*binding affinity*) obat terhadap reseptornya. Afinitas ligan terhadap reseptor juga dapat ditentukan dari pengukuran tetapan ikatan, K_i (Konstanta inhibisi) eksperimen, sebagai berikut (Levita, 2012):

$$\Delta G = -RT \ln K_i$$

Dengan demikian nilai energi bebas ikatan dapat digunakan untuk memprediksikan kemampuan senyawa untuk menghambat enzim (Emran, 2009).

Berdasarkan hasil *scoring* energi bebas ikatan dari senyawa turunan flavonoid, di seleksi senyawa terbaik yang dapat menghambat *tirosinase* dengan adanya pembentukan energi ikatan secara spontan yang ditandai dengan penurunan energi bebas (ΔG bertanda negatif). Senyawa terbaik ini memiliki posisi yang terdekat dengan kofaktor enzim (Cu^{2+}), dimana enzim *tirosinase* akan bekerja optimal ketika terdapat kofaktor ini, dengan demikian terdapatnya kofaktor akan mempengaruhi katalisisnya, oleh karena itu senyawa ligan dalam penelitian ini diharapkan untuk mengarah pada logam Cu dan mengikat asam-asam amino di sekitarnya yang merupakan *binding site* (kantong ikatan yang merupakan lokasi protein target tempat terjadinya

ikatan/interaksi-interaksi pada kompleks obat dengan makromolekul targetnya, seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, serta interaksi logam), dengan asumsi bahwa ketika ligan berikatan dengan *binding site* dan mendekati logam Cu, maka akan mengurangi aktifitas katalisisnya, sehingga pembentukan melanin dapat di hambat (Levita, 2012; Suryono, 2011).

Selain itu, ikatan hidrogen juga diperhitungkan, mengingat bahwa pada umumnya interaksi molekuler yang terjadi di dalam tubuh berupa interaksi nonkovalen, yaitu interaksi antar atom yang tidak terikat secara kovalen satu sama lain. Ikatan hidrogen merupakan salah satu ikatan nonkovalen yang banyak terdapat dalam sistem biologis, misalnya protein dan asam nukleat. Dengan adanya ikatan hidrogen dapat mempengaruhi aktivitas sifat kimia fisika seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, dan kemampuan pembentukan khelat. Perubahan tersebut dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologis, seperti penghambatan enzim tirosinase (Siswandono, 2000).

Adapun hasil *docking* dari senyawa turunan flavonoid dalam studi kali ini menunjukkan adanya ikatan hidrogen dari atom ligan dengan atom dari asam-asam amino dalam enzim tirosinase seperti *Histidin*₁₉₄, *Metionin*₂₀₁, *Serin*₂₀₆, *Glutamine acid*₁₈₂, *Asparagine*₁₉₁, *Asparagin*₁₈₈, *Alanine*₂₀₂, *Threoinine*₂₀₃, *Arginine*₅₅, dan *Isoleusine*₄₂, tanpa berikatan langsung dengan atom Cu sebagai kofaktor enzim tirosinase yang berperan penting dalam proses katalitik. Nilai energi bebas ikatan yang terbaik di tunjukkan oleh senyawa 1 dengan ΔG sebesar -7.0 kkal/mol dengan posisi substituen gugus hidroksil pada atom C nomor 7, 8 pada cincin A, dan 3', 4' pada cincin B.

Hasil energi bebas ikatan (ΔG) yang di peroleh sangatlah bervariasi. Data aktivitas biologis (IC_{50}) yang digunakan tidak dapat dijadikan parameter untuk menganalisis senyawa turunan flavanoid yang memiliki energi pengikatan terbaik, hal ini dikarenakan beberapa posisi substituen gugus hidroksil yang memiliki kemiripan dengan kuersetin. Dalam penelitian sebelumnya oleh Kubo dkk., mengusulkan flavonoid kuersetin yang memiliki sebagian struktur yang mirip dengan L-DOPA sebagai inhibitor kompetitif pada sisi aktif kofaktor. Dalam kasus kuersetin, sebagian besar strukturnya pada cincin B memiliki kemiripan dengan L-DOPA sehingga dapat mempengaruhi aktivitas penghambatan dari tirosinase. Namun ketika dibandingkan antara flavonoid dengan kuersetin, aktivitas penghambatannya (IC_{50}) berfluktuasi dari 20 sampai 300 μM (Donghyun, 2009). Oleh karena itu penghambatan terhadap enzim *tirosinase* lebih ditentukan oleh nilai energi ikatannya (ΔG), dan posisi substituen dari gugus hidroksil pada senyawa turunan flavonoid. Khususnya pada cincin A dan B, yang merupakan substrat analog dari enzim *tirosinase*, karena kemiripan strukturalnya dengan L-DOPA, yang di tandai dengan adanya gugus fenol yang terikat pada cincin aromatis.

Diperkuat oleh studi yang dilakukan oleh Nithitankool, dkk, pada studi molekuler *docking* dan anti-tirosinase kandungan kimia biji mangga (*pentagalloylglucopyranose*) yang diperlihatkan secara kuat dengan prinsip utamanya adalah pada fenol, tergantung dari dosis efek penghambatan *tirosinase* dengan L-DOPA. Studi molekuler *docking* mengungkapkan bahwa

orientasi pengikatan dari fenol berada di dalam kantung ikatan tirosinase dan orientasi di lokasi kantung ikatan hidrofobik berada di sekeliling inti tembaga yang aktif. Dalam studi ini di temukan sisi pengikatan (kantung ikatan) dari ligan yang membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino *Ile42*, *Asn191*, *Thr203*, *Ser206*, *Arg55*, *Ser146*, *Val147*, *Glu182*, *Gly183*, *Trp184*, *Arg185*, *Asn188*, dan *Gly204*, *Glu182*, *Met201*, *Val195*, dan *Ala202* *His38*, *His54* *His190*, dan *His194* yang merupakan residu penting yang berikatan langsung dengan dua ion tembaga di dalam *tirosinase* (Nithitankool, 2009).

Hal ini menunjukkan bahwa hasil *docking* antara inhibitor (seperti flavonoid dan PGG) dengan enzim *tirosinase*, tidak memperlihatkan adanya ikatan yang terbentuk langsung antara flavonoid dengan atom Cu pada *tirosinase*, hal ini terjadi karena program yang digunakan terbatas pada visualisai ikatan, dimana ikatan yang terlihat hanya ikatan hidrogen, sedangkan di duga ikatan yang dapat terjadi antara gugus fenol dari ligan dengan atom Cu adalah ikatan hidrofobik. Selain itu pada studi Nithitankool dkk., juga memperlihatkan interaksi ligan reseptor berupa ikatan hidrogen yang pada umumnya terikat pada asam-asam amino yang merupakan sisi pengikatan (kantung ikatan) enzim seperti *His194* (*Histidin₁₉₄*), *Met201* (*Metionin₂₀₁*), *Ser201* (*Serin₂₀₆*), *Asn191* (*Asparagine₁₉₁*). Hasil tersebut analog dengan studi ini, oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa flavonoid bekerja sebagai substrat analog yang berinteraksi sebagai inhibitor kompetitif bagi enzim yang mengikat *binding site* di sekeliling sisi aktif (logam Cu).

Penelitian ini juga dirancang untuk mendesain senyawa turunan flavonoid baru yang diprediksikan memiliki aktifitas penghambatan yang lebih baik dari senyawa sebelumnya menggunakan program *docking*. Dengan menggunakan persamaan garis yang diperoleh dari korelasi antara IC_{50} flavonoid sebelumnya dengan nilai energi ikatan (Gambar 8), nilai IC_{50} dapat diprediksikan. Metode ini analog dengan studi yang dilakukan oleh Rahmana Emran dkk yang melakukan studi interaksi antara kuersetin dengan COX-2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai dasar untuk melakukan penelitian eksperimental selanjutnya (Emran, 2009).

Modifikasi struktur yang digunakan menggunakan model pendekatan **Topliss** yang memodifikasi struktur dengan memperhatikan sifat lipofilik dan elektronik dari substituent-substituen yang di masukkan dalam struktur penuntun dan pengaruhnya terhadap aktivitas biologis. Sebagaimana yang diketahui, suatu senyawa obat untuk dapat memberikan aktivitas harus mampu menembus membran biologis dan mencapai jaringan target dalam jumlah yang cukup untuk menimbulkan aktifitas, dan berhubungan dengan distribusi muatan listrik dari substituen yang memberikan suatu nilai yang merupakan tingkat kekuatan menyumbangkan elektron atau menarik elektron.

Substituen yang digunakan dalam penelitian ini adalah 7Cl, 6,7Cl₂, 4Br, 5,7Cl₂ pada cincin A flavonoid, 3',4'(OH)₂ pada cincin B flavonoid sebagai substituent yang tetap karena di dalam studi diprediksikan bahwa cincin B dengan 2 gugus hidroksida, dapat memberikan struktur yang mirip dengan L-DOPA sehingga berperan penting dalam proses penghambatan *tirosinase*.

Untuk turunan senyawa pertama yang disintesis sebagai seri baru adalah substituent Cl pada atom C nomor 7 flavonoid, dimana atom Cl ini memiliki nilai lipofilik dan elektronik yang positif, interpretasi yang sederhana adalah peningkatan aktifitas disebabkan oleh peningkatan sifat lipofilik dan elektronik, sehingga substituent selanjutnya masih meningkatkan kedua sifat tersebut, dengan mensintesis turunan 6,7 Cl₂. Akan tetapi pada sintesis kedua ini mengalami penurunan aktifitas, berarti bahwa ada pengaruh efek sterik pada posisi ke 6 yang tidak menguntungkan. Langkah selanjutnya adalah mensintesis turunan 4Br yang memiliki nilai elektronik tinggi dan nilai lipofilik yang sedang, dan turunan 5,7 Cl₂ yang diprediksikan akan menghilangkan pengaruh efek sterik yang tidak menguntungkan (Siswandono 2000, 339). Adapun hasil energi bebas ikatan dan IC₅₀ prediksi dari senyawa baru hasil modifikasi berturut-turut sebagai berikut (-7,2 ; 0,113), (-6,9 ; 1,110), (-7,4 ; 0,025), dan (-7,1 ; 0,242).

Dari studi ini dapat disimpulkan bahwa model interaksi senyawa turunan flavonoid terhadap aktifitas penghambatan tirosinase menunjukkan adanya ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan dengan asam-asam amino tirosinase pada *binding site* (sisi pengikatan) seperti *Histidin*₁₉₄ merupakan salah satu residu penting yang berikatan langsung dengan dua ion tembaga di dalam *tirosinase*, dan asam amino lainnya seperti *Metionin*₂₀₁, *Serin*₂₀₆, *Glutamine acid*₁₈₂, *Asparagine*₁₉₁, *Asparagin*₁₈₈, *Alanine*₂₀₂, *Threoinine*₂₀₃, *Arginine*₅₅, dan *Isoleusine*₄₂ yang tidak langsung berikatan pada sisi aktif Cu, karena program yang digunakan hanya dapat memperlihatkan ikatan hidrogen,

sedangkan interaksi antara ligan dan Cu berada pada bagian hidrofobik. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang sisi pengikatan enzim dan sebagai dasar untuk melakukan penelitian eksperimental selanjutnya.



BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian *docking* antara enzim tirosinase (pdb 1wx4) dengan senyawa turunan flavonoid, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut;

1. Model interaksi senyawa-senyawa turunan flavonoid dengan sisi pengikatan enzim tirosinase pada asam-asam amino (*Metionin*₂₀₁, *Serin*₂₀₆, *Glutamine acid*₁₈₂, *Asparagine*₁₉₁, *Asparagin*₁₈₈, *Alanine*₂₀₂, *Threoinine*₂₀₃, *Arginine*₅₅) dan asam amino *Histidin*₁₉₄ yang merupakan residu penting yang berikatan langsung dengan logam Cu B., membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa flavonoid pada cincin A dan B, dimana ikatan hidrogen dapat mempengaruhi aktivitas sifat kimia fisika senyawa seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, dan kemampuan pembentukan khelat dan keasaman, perubahan tersebut dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologis, seperti penghambatan enzim tirosinase.
2. Model senyawa turunan flavonoid baru yang di prediksi menunjukkan interaksi penghambatan terbesar pada enzim tirosinase adalah senyawa dengan modifikasi (-Br) pada atom C nomor 7 cincin A dan (-OH) pada atom C nomor 3', dan 4' cincin B dengan energi ikatan – 7,4 kkal/mol dan IC₅₀ prediksi sebesar 0.02 µM.

B. *Saran*

Disarankan untuk melakukan simulasi *docking* flavonoid dengan enzim tirosinase sebelum di sintesis secara *in vitro* dan *in vivo* menggunakan program lain yang dapat menggambarkan parameter-parameter lain selain ikatan hidrogen dan energi bebas ikatan (ΔG). Studi ini di percaya dapat memprediksi aktivitas senyawa-senyawa hipotetik dan dapat dilakukan eliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah., sebelum diusulkan untuk disintesis, senyawa-senyawa hipotetik tersebut diprediksi toksisitasnya secara *in silico* dengan cara melihat interaksinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Akifumi Oda & Ohgi Takahashi. 2009. Validation of ArgusLab Efficiencies for Binding Free Energy Calculations. *Chem-Bio Informatics Journal*. Vol. 9. pp. 53. Available from : <http://www.cbi.or.jp>
- Anonim. *Adab Dalam Sakit Dan Pengobatan Dalam Menurut Sunnah*. 2011. [dikutip Januari 2011]. Available from : <http://www.Al-Uswah.org/>
- Anonim. 2010. *PyMol viewer*. [Serial on the internet dikutip Desember 2010]. Available from : <http://www.pymol.org/>
- Anonim. 2010. *RSCB Protein Data Bank "1WX4" Crystal structure of the oxy-form of the copper-bound *Streptomyces castaneoglobisporus* tyrosinase complexed with a caddie prot prepared by the addition of dithiothreitol*. From: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1WX4>.
- Christopher A., Ramsden and A. Riley Patrick. 2010. *Mechanistic studies of tyrosinase suicide inactivation*. *Arkivoc* (i) 260-274 ISSN 1551-7012. Available from PDF file
- Departemen Agama RI. 2007. *Al-Qur'an Terjemahan*. Al-Kamil Darus Sunnah. Jatinegara-Jakarta.
- Dias Raquel, and Filgueira de Azevedo Jr Walter. 2008. Molecular Docking Alogarithms. *Current Drug Targets*, 9, 1040-1047. Available from PDF file
- DiMasi, Joshep A., Hansen, Ronal W., and Grabowski, Henry G. 2003. The Price of Innovation: New Estimates of Drug Development Costs. *J. Health Economics* 22 (2003) 151-185. Available from PDF file
- Donghyun Kim., Jiyeoun Park., Jinhee Kim., Cheolkyu Han., Jeonghyeok Yoon., Namdoo Kim., Jinho Seo., and Choonghwan Lee. Flavonoids as Mushroom Tyrosinase Inhibitors : A Fluorescence Quenching Study. *J. Agric. Food Chem* Vol. 54. pp. 940. Available from : <http://www.pubs.acs.org>
- Emran Rahmana, Herowati Rina, Harmastuti Nuraini, dan Gusdinar tutur. 2009. Quarsetin Derivatives Docking Based On Study Of Flavonoids Interaction To Cyclooxygenase-2. *Indo. J. Chem.*, 2009, 9 (2), 297 – 302. Available from PDF file
- Geldenhuis, W.J., Gaasch Kevin E., Watson M., Allen David D., and Van der Schyf Cornelis J. 2006 . *Optimizing the use of open-source software*

applications in drug discovery. DDT, 11 (3/4), 127-132. Available from PDF file

Halaban Ruth., Patton Robin S., Cheng Elaine., Svedine Sherri., Trombetta E. Sergio., Wahl Miriam L., Ariyan Stephen, and Hebert Daniel N. Abnormal Acidification of Melanoma Cells Induces Tyrosinase Retention in the Early Secretory Pathway. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 277, No. 17, Issue of April 26, pp. 14821-14828. Available from PDF file

Hartanti Lanny, and Setiawan HK. 2009. Inhibitory Potential Of Synthetic Cinnamic Acid Derivatives Towards Tyrosinase Enzyme. *Indo. J. Chem.*, 9 (1), 158-168. Available from PDF file.

Hong Gao., Jun Nishida, Shizuka Saito and Jun Kawabata. 2007. Inhibitory Effect of 5,6,7-Trihydroxyflavones on Tyrosinase. *Molecules*. Vol.12. pp. 90. Available as PDF file.

Ikawati Zullies. 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta

Istyastono Edane Perdana. 2007. *Peran Komputer dalam Penemuan Obat* [dikutip Desember 2011]. Available from : <http://www.chem-is-try.org/>

Jen-Wen Lin., Hsiu-Mei Chiang, Yi-Chun Lin and Kuo-Ching Wen. 2008. Natural Product with Skin-Whitening Effects. *J. Food and Drug analysis*. Vol. 16(2). pp. 3,4. Available as PDF file.

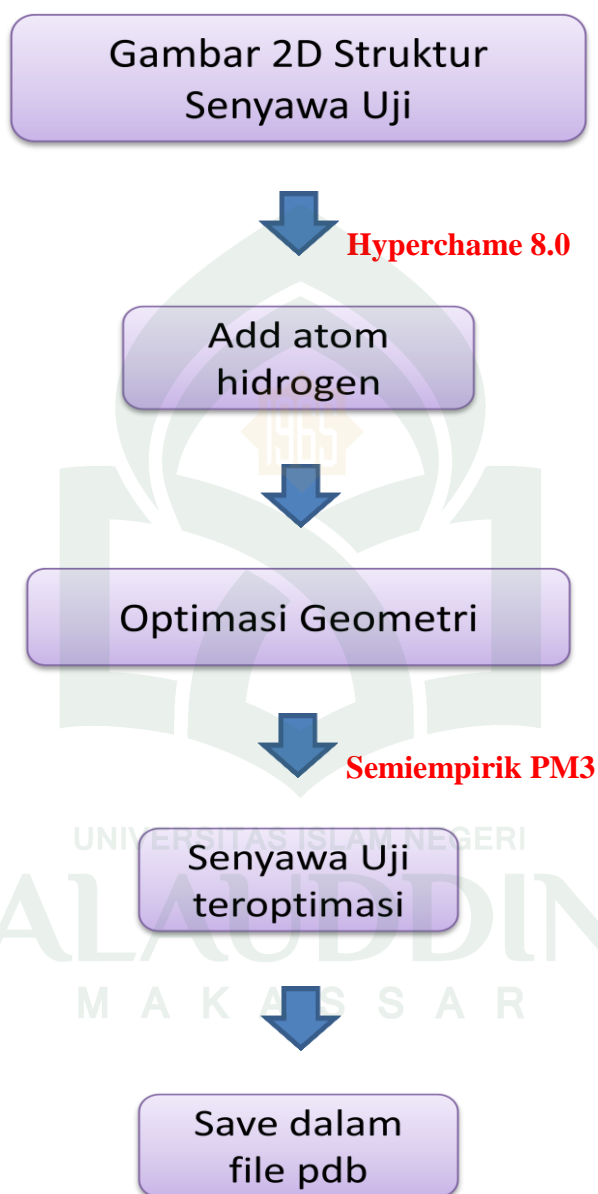
Koolman Jan, and Heinrich Rohm Klaus. 2001. *Atlas Berwarna & Teks Biokimia*. Hipokrates. Jakarta

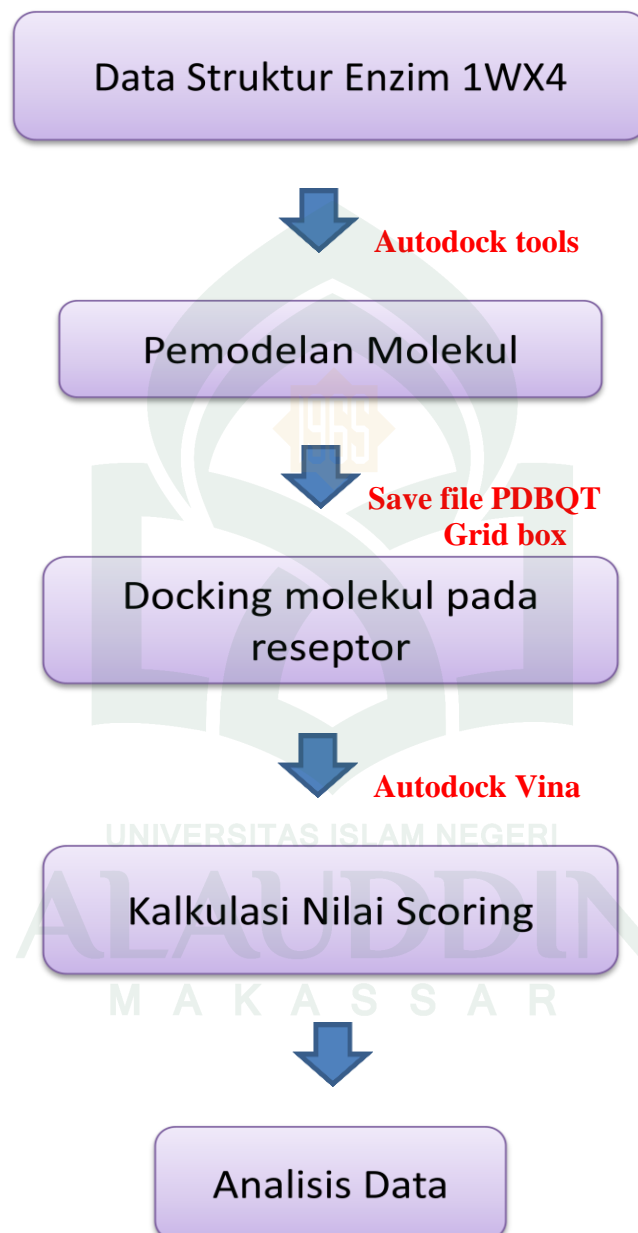
Krovat E.M, Steindl T & Langer T. 2005. Recent Advance in Docking and Scoring. *Current Computer-Aided Drug Design*, 1, 93-102 93. Available from PDF file.

Levita Jutti dan Mustarichie Resmi. 2012. *Pemodelan Molekul dalam Kimia Medisinal*. Graha Ilmu. Yogyakarta

Nithitanakool Saruth, Pithayanukul Pimolpan, Bavovada Rapepol, and Saparpakorn Patchreenart. 2009. *Molecular Docking Studies and Anti-Tyrosinase Activity of Thai Mango Seed Kernel Extract*. *Molecules* 2009, 14, 257-265; doi:10.3390/molecules14010257 ISSN 1420-3049. Available from PDF file

- Nograpy Thomas, and Weaver Donal F. 2005. *Medicinal Chemistry: A Molecular and Biochemical Approach Thrid Edition*. Oxford University Press. New York
- Rahmawati. 2011. *Pengembangan Kuarsetin Sebagai Bahan Pencerah Kulit: Telaah In Silico Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase*. Fakultas Farmasi Unhas . Makassar
- Saryono. 2011. *Biokimia Enzim*. Nuha Medica. Yogyakarta
- Shihab Quraish. 2009. *Tafsir Al-Misbah Vol. 5*. Lentera Hati. Pisang Ciputat
- Shihab Quraish. 2009. *Tafsir Al-Misbah Vol. 15*. Lentera Hati. Pisang Ciputat
- Siswandono dan Soekarjdo Bambang. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya
- Suryono Soular to Dirwan. 2007. *Penobatan Medis : Pandangan Islam Terhadap Pengobatan Tradisional dan Modern*. Fakultas Keokteran UMY. Yogyakarta
- Tarragona. 2007. *In silico studies of the effect of phenolic compounds from grape seed extracts on the activity of phosphoinositide 3- kinase (PI3K) and the farnesoid X receptor (FXR)*. Universitas Rovira I Virgili. Departament de Bioquímica I Biotecnologia
- Thomson Mark A. 2010. *ArgusLab 4.0.1*. [Serial on the internet dikutip Agustus 2010]. Available from : <http://www.arguslab.com/>
- Walters KA. & Michael SR. 2008. *Dermatologic, Cosmeceutic and Cosmetic Development : Therapeutic and Novel Approaches*. Informa Healthcare Inc. USA. pp. 66-68. Available as PDF file.
- Yuwono Triwibowo. 2005. *Biologi Molekuler*. Erlangga. Jakarta

LAMPIRAN I**Skema Kerja**

LAMPIRAN II**Skema Kerja II**

LAMPIRAN III**Analisis Data**

LAMPIRAN IV

Data Nilai *Scoring* Turunan Flavonoid

1. Substitusi Gugus Hidroksil (-OH)

Tabel 5. Substitusi Gugus Hidroksil

No	Modifikasi gugus -OH	Energi Ikatan (kkal/mol)	Log IC ₅₀ (μM)
1	7, 8, 3', 4'	-7.0	-1.1549
2	3, 5, 7, 4	-6.7	0.0543
3	5, 7, 2', 4'	-6.5	0.9299
4	3, 7, 4'	-6.4	0.9484
5	7, 2'	-6.3	1.1065
6	7, 8, 4	-6.4	1.1122
7	5, 7, 3, 4	-6.4	1.2425
8	7, 3, 4	-6.5	1.382
9	7, 3'	-6.5	1.7708
10	7, 5	-6.4	1.7708
11	5, 7, 4'	-6.5	1.8692
12	6, 5'	-6.6	1.9926
13	3, 5, 7, 2, 4	-6.4	1.9967
14	7, 4	-6.1	2.0718
15	5, 7	-6.4	2.1388
16	3, 6, 2, 4	-6.7	2.1445
17	6, 3, 4	-6.4	2.2422
18	5, 6, 7, 4	-6.2	2.2422
19	3, 4	-6.5	2.2479
20	3, 7, 3', 4'	-6.9	2.2592
21	3, 4', 5'	-6.3	2.3465
22	6, 7	-7.3	2.3729
23	3, 5, 7, 3', 4', 5'	-6.2	2.4433
24	3, 5, 6, 7, 3', 4'	-6.1	2.4972
25	5, 4'	-6.1	2.5947

2. Desain senyawa turunan flavonoid baru berdasarkan modifikasi struktur model pendekatan **Topliss**.

Tabel 6. Nilai Scoring dan IC_{50} prediksi senyawa baru turunan flavonoid berdasarkan modifikasi model **Topliss**

No	Modifikasi inti flavonoid	ΔG (kkal/mol)	IC_{50} prediksi (μM)
1	7-Cl-3',4' di (OH)	-7.2	0.113
2	6,7 di (Cl)- 3',4' di (OH)	-6.9	1.110
3	4-Br-3',4' di (OH)	-7.4	0.02
4	2,4-di (Cl)-3',4' di (OH)	-7.1	0.242

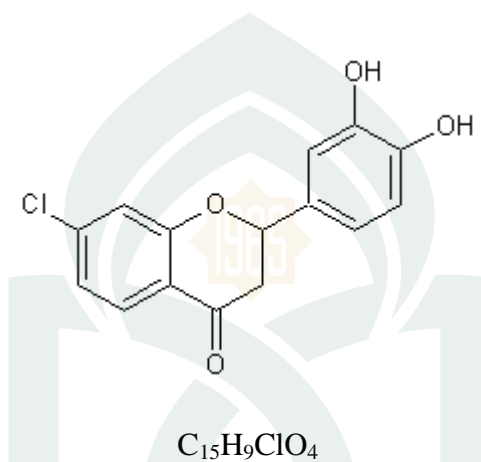
(IC_{50} prediksi di peroleh dari $\text{Log } IC_{50} = 3.305\Delta G_{\text{bind}} + 22.85$)



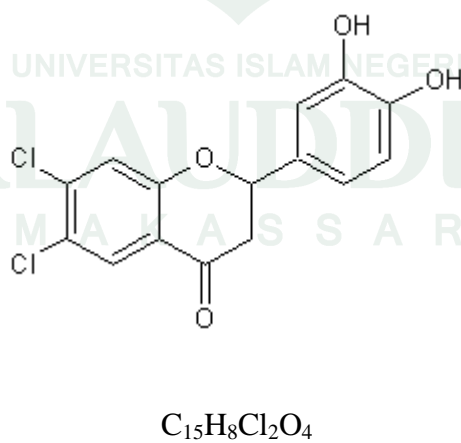
LAMPIRAN V

Senyawa turunan baru hasil rancangan dengan persamaan hasil regresi linear hubungan korelasi antara ΔG dengan IC_{50}

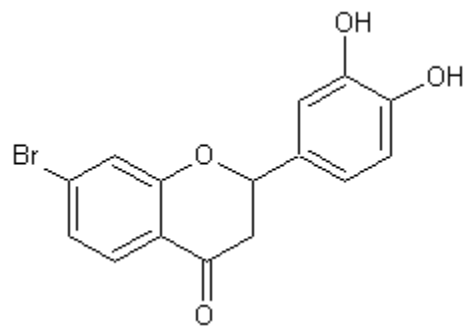
1.



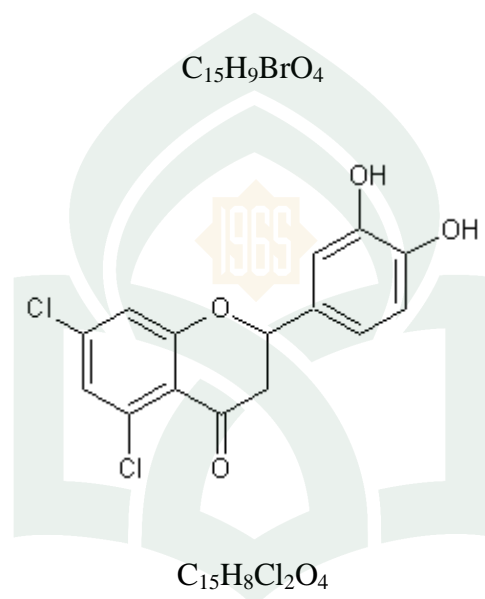
2.



3.

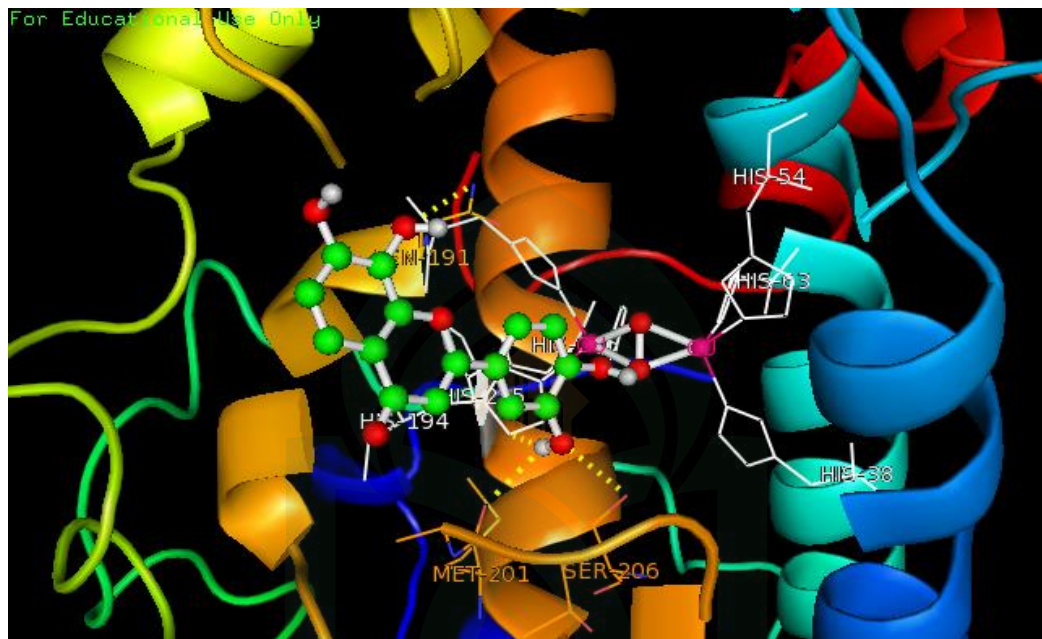


4.

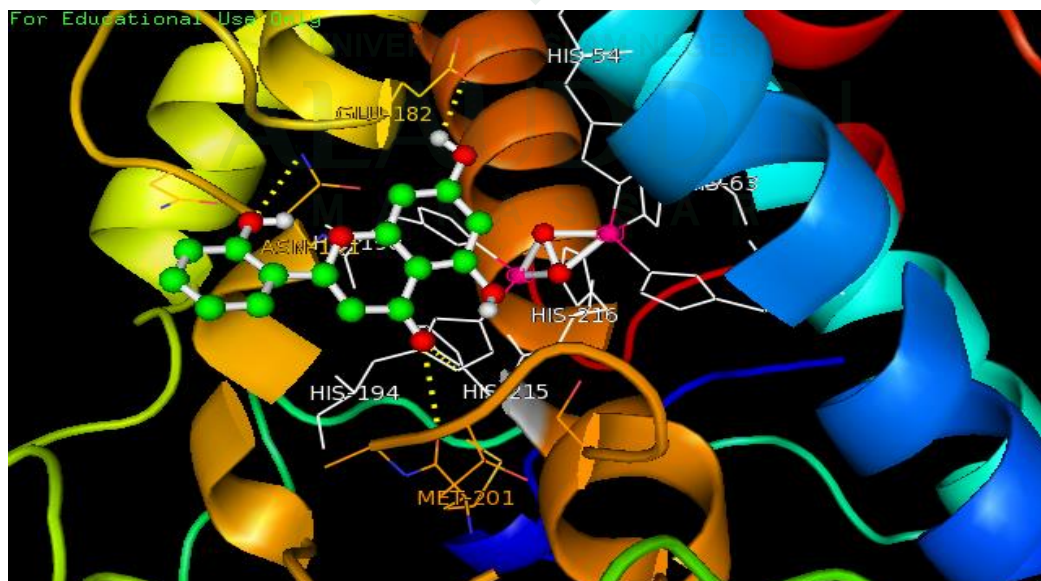


Gambar 10. Struktur senyawa baru turunan flavonoid berdasarkan pendekatan Topliss

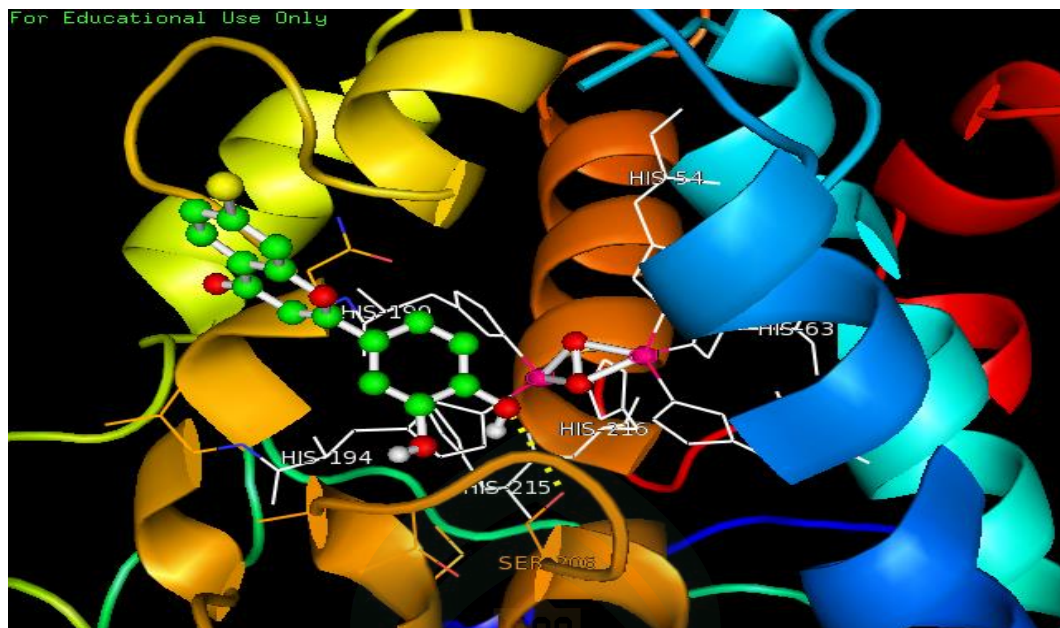
LAMPIRAN VI

Gambar 3D Hasil *Docking* Senyawa Terbaik dan Hasil Modifikasi Struktur Flavonoid dengan Enzim Tirosinase

Gambar 11 . Struktur 3D docking senyawa 1 turunan flavonoid dengan *enzim tirosinase* dengan energi ikatan -7.0 kkal/mol



Gambar 12 . Struktur 3D docking senyawa 3 turunan flavonoid dengan *enzim tirosinase* dengan energi ikatan -6.5 kkal/mol



Gambar 13. Struktur 3D docking *enzim tirosinase* dengan senyawa baru turunan flavonoid dengan substitusi (-Br) pada atom C 7 cincin A, dan substitusi (-OH) pada atom C nomor 3', 4' cincin B. Energi ikatan -7.4 kkal/mol

Keterangan warna :

Merah	: atom oksigen
Abu-abu	: atom hidrogen
Pink	: atom Cu
Hijau	: atom C (dalam flavonoid)
Putih	: Histidin yang terikat dengan atom Cu
Kuning	: atom Br

DAFTAR RIWAT HIDUP



Suharna S, lahir di Enrekang pada 23 Juli 1990, bertepatan dengan 1 Muharram 1411 H, adalah anak pertama dari lima bersaudara hasil pernikahan Bapak Drs. Sulaeman P. dengan Ibu Nawiah, S. Pd, SD. Dalam kehidupan sehari-hari penulis biasanya di panggil ANNA.

Memulai pendidikan pertamanya di rumah oleh orang tua yang mengajarkan tentang pendidikan agama dan moral. Pada tahun 1995, di usianya yang menginjak 5 tahun, penulis mulai memasuki lingkungan baru di TK Aisyah Enrekang. Setahun kemudian, penulis melanjutkan studinya ke jenjang Sekolah Dasar di SD 45 Talaga Enrekang, selama menuntut ilmu disana penulis tidak lepas dari peringkat 3 besar dikelasnya, oleh karena itu pada tahun 1999 penulis dipindahkan ke kelas unggulan yang bertempat di SD Inpres 116 Enrekang, pada tahun 2002 akhirnya lulus dan melanjutkan studinya ke Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Enrekang sampai tahun 2005. Selanjutnya penulis memasuki Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Enrekang, dan pada tahun 2008 dinyatakan lulus oleh Dinas Pendidikan. Karena keinginan untuk membahagiakan orang tua dan menjadi anak yang sukses di masa mendatang, akhirnya penulis memutuskan untuk melanjutkan pendidikannya ke jenjang Universitas di UIN Alauddin Makassar Fakultas Ilmu Kesehatan Jurusan Farmasi. Setelah 4 tahun menuntut ilmu di Farmasi, Alhamdulillah pada tanggal 27 Agustus 2012 bertepatan dengan 9 Syawal 1433 H, penulis telah berhasil

menyelesaikan Studinya dan berhak menyandang gelar Sarjana Farmasi pada tanggal 31 Agustus 2012 H bertepatan dengan 13 Syawal 1433 H, dengan Judul Skripsi “Studi *In Silico* Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim *Tirosinase*”, dengan IPK Terakhir 3.74 predikat “Sangat Memuaskan”.

