

PENDEKATAN KOMPUTASI UNTUK MENGATASI MALARIA DARI *Coscinium fenestratum*

Samsul Hadi^{1*}, Kunti nastiti²

Prodi S1 Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat¹

Prodi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Sari Mulia²

Email¹: samsul.hadi@ulm.ac.id

Email²: kuntinastiti@unism.ac.id

ABSTRAK

Malaria merupakan penyakit dengan tanda-tanda meriang serta diakibatkan oleh Plasmodium. Salah satu cara menghambat pertumbuhan plasmodium menggunakan inhibitor Dihydroorotate dehydrogenase. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah docking dengan peralatan laptop dan perangkat lunak PLANTS untuk docking dan Discovery Studio untuk visualisasi dan bahan yang dipergunakan adalah senyawa yang terkandung dari *C. fenestratum*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan protein kode 6VTY yang dihilangkan molekul air dan ligan yang tidak terikat dengan sisi aktif, dan dilanjutkan dengan docking dari senyawa yang terkandung dari *C. fenestratum*. Hasil dari penelitian ini adalah skor docking Berberine -82,2408; Berberrubine -84,6866 dan Thalifendine -81,1591, hasil dari interaksi ligan dengan Dihydroorotate dehydrogenase, ketiga ligan menduduki sisi katalitik dari enzim yaitu HIS185, PHE227, ARG 265 dan CYS 175. Kesimpulan dalam penelitian ini adalah Berberrubine dengan skor docking -82,488 merupakan senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor Dihydroorotate dehydrogenase

Kata Kunci: Malaria, Dihydroorotate dehydrogenase, *C. fenestratum*

ABSTRACT

Malaria is a disease with signs of fever and is caused by Plasmodium. One way to inhibit the growth of plasmodium is using Dihydroorotate dehydrogenase inhibitors. The method used in this study was docking with laptop and PLANTS software for docking and the Discovery Studio for visualization and the materials used were compounds contained in C. fenestratum. This research was carried out using protein code 6VTY which removed water molecules and ligands that were not linked to the active site, and continued with the docking of the compounds contained in C. fenestratum. The results of this study are the Berberine docking score -82.2408; Berberrubine -84.6866 and Thalifendine -81.1591, the result of ligand interaction with Dihydroorotate dehydrogenase, the three ligands occupy the catalytic site of the enzyme, namely HIS185, PHE227, ARG 265 and CYS 175. The conclusion in this study is Berberrubine with a docking score of -82.488 is compounds that have the potential as Dihydroorotate dehydrogenase inhibitors

Keywords: Malaria, Dihydroorotate dehydrogenase, *C. fenestratum*

PENDAHULUAN

Malaria merupakan penyakit dengan tanda-tanda meriang serta diakibatkan oleh Plasmodium yang ditularkan melalui nyamuk Anopheles. Nyamuk ini biasanya terbang pada malam hari¹. Kawasan nyamuk ini banyak ditemui di wilayah subtropis tropis dan wilayah dengan ketinggian 2000 – 2500 meter. Perpindahan plasmodium cuma bisa ditularkan oleh nyamuk betina lewat gigitan, dikenal ada 67 jenis Anopheles² yang bisa menyebarkan penyakit ini.

Informasi World Health Organization tahun 2019 memprediksi ada 229 juta permasalahan malaria di dunia dengan persentase paling tinggi terletak di area Afrika 94%, diiringi Asia Tenggara sebesar 3%, serta Timur Tengah 2, 1%. Nilai kematian karena malaria pada anak umur kurang dari 5 tahun terkategori besar sebesar 274.000 (67%) kasus meninggal 409.000 tahun 2019. Plasmodium falciparum ialah tipe jenis penginfeksi malaria yang mempunyai tingkatan yang besar di kawasan Afrika 99%, Asia

Tenggara 53%, Timur Tengah 73%, serta Pasifik barat 68%³ dari keseluruhan permasalahan tiap-tiap area pada tahun 2019.

Jenis Plasmodium yang dikenal bisa menimbulkan malaria antara lain *P.falciparum*, *P.vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, serta *P.knowlesi*⁴ yang dikabarkan berawal dari hutan Asia bagian Tenggara. Jenis-jenis plasmodium ini menimbulkan gejala-gejala berlainan dengan tingkatan keparahan yang berbeda.

Daur hidup plasmodium melalui 2 hospes sebagai perantara yaitu nyamuk betina dan orang. Parasit ini mempunyai keahlian menyesuaikan diri di dalam badan nyamuk yang bertabiat antropofilik supaya bisa mengawali daur sprogoni yang menciptakan sporozoit infeksi². Daur mulai menginfeksi orang pada dikala nyamuk Anopheles betina yang bawa parasite (vector) menginfeksi orang diiringi dengan perpindahan plasmodium dalam wujud sporozoit lewat saliva nyamuk ke dalam badan orang. Sporozoit ini hendak merambah serta menginfeksi sel batin kemudian merambah tahap dorman buat

mematangkan diri jadi skizon. Skizon yang sudah matang hendak membuat sel kupfret yang sudah terkena menjadi lisis serta menghasilkan *merozoite*⁵. Daur hidup yang panjang ini memerlukan alternative pengobatan yang berasal dari alam. Salah satu tanaman yang berperan pada penyakit malaria adalah *Coscinium fenestratum*.

Coscinium fenestratum ekstrak air dapat menghambat pertumbuhan *P. falciparum* 3D7 dengan IC_{50} : 1.811 $\mu\text{g/mL}$ ⁶. Tanaman ini mempunyai kemampuan antioksidan dan sitotoksik terhadap sel MCF7 (kanker payudara) dengan metode ekstraksi petroleum eter, kloroform, methanol dan air mendidih⁷. Akar kuning mempunyai menghambat pertumbuhan dari jamur yaitu *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*⁸. Tanaman ini mempunyai kemampuan menghambat kerja dari enzim alfa amylase dan glukosidase serta menangkap radikal DPPH dengan menggunakan ekstrak nheksan, etil astetat dan etanol⁹. Dengan dosis 312 mg/Kg BB tanaman ini mempunyai kemampuan

antiodepresan¹⁰. Berdasarkan urain tersebut maka diperlukan penelitian tentang senyawa dari *C.fenestratum* yang berpotensi dalam pengobatan malaria. Dan sejauh peneliti ketahui belum pernah dilakukan penelitian senyawa terhadap penyakit malaria.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam skrining senyawa bahan alam dari *Coscinium fenestratum* yang berpotensi sebagai inhibitor *Dihydroorotate Dehydrogenase*. software PLANTS¹¹, discovery studio^{12,13}, Yasara¹³, chemaxon¹⁴

Bahan

Bahan yang digunakan dalam skrining senyawa bahan dari *C. fenestratum* yaitu Berberine; (-)-8-*Oxocanadine*; (-)-8-*Oxoisocorypalmine*; (-)-8-*Oxotetrahydrothalifendine*; N,N-*Dimethylindcarpine*; *Berlambine*; 8-*Oxopalmatine*; *Berberrubine*; *Thalifendine*; *Canadine*¹⁵. Protein *Dihydroorotate Dehydrogenase* diperoleh dari RCSB dengan kode 6VTY.

Cara kerja

Download struktur tiga dimensi protein *Dihydroorotate Dehydrogenase* dari website RCSB, protein yang dipergunakan dalam skrining ini adalah 6VTY dengan format PDB dengan link <https://www.rcsb.org/structure/6VTY>. Memilih chain protein yang dipergunakan dan menghilangkan ligand lain yang tidak diperlukan. Sehingga yang digunakan adalah chain A, ligand RLA (*ligand native*), FMN dan ORO. *Docking ligand native* menggunakan software PLANTS. Untuk mengetahui koordinat dan radius yang dipergunakan. Mencari Koordinat dan radius Docking. Docking ligand native. Membuat struktur dua dimensi dari senyawa yang terkandung dari *Coscinium fenestratum* menggunakan Chemaxon. Membuat konformasi 3 Dimensi dari senyawa yang terkandung dari *Coscinium fenestratum* menggunakan Chemaxon sebanyak 10 konformasi. Docking senyawa yang terkandung dari *C. fenestratum* menggunakan PLANTS

Analisis data

Data di analisis dengan melihat skor docking yang dibandingkan dengan ligand native dengan rumus :

$$\text{Docking score relative} = \frac{\text{docking score sample}}{\text{docking score ligand native}} 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

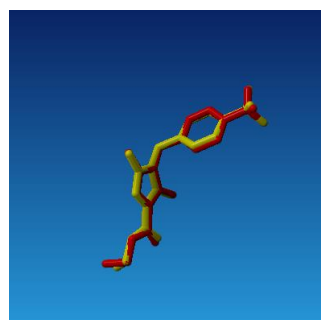
Dihydroorotate dehydrogenase merupakan enzim plasmodium yang dikodekan oleh DHODH gen pada kromosom 16. Protein yang dikode oleh gen ini mengkatalisis langkah enzimatik keempat, ubiquinone dimediasi oksidasi dari dihydroorotate untuk orotate, di de novo pirimidin biosintesis. Protein ini merupakan protein mitokondria yang terletak di permukaan luar membran bagian dalam (IMM). Inhibitor enzim ini digunakan untuk mengobati penyakit malaria¹⁶.

DHODH plasmodium adalah flavoprotein FMN yang ada di mana-mana . Pada bakteri (gen pyrD), terletak di sisi dalam membran sitosol. Dalam beberapa ragi, seperti di *Saccharomyces cerevisiae* (gen URA1), itu adalah protein sitosol, sedangkan pada eukariota lain, ditemukan di mitokondria¹⁷. Ini juga

merupakan satu-satunya enzim dalam jalur biosintesis pirimidin yang terletak di mitokondria daripada di sitosol¹⁸. Sebagai enzim yang terkait dengan rantai transpor elektron, DHODH menghubungkan bioenergi mitokondria, proliferasi sel, produksi ROS, dan apoptosis pada tipe sel tertentu. Deplesi DHODH juga mengakibatkan peningkatan produksi ROS, penurunan potensial membran dan retardasi pertumbuhan sel. Juga, karena perannya dalam sintesis DNA, penghambatan DHODH dapat menyediakan sarana untuk mengatur pemanjangan transkripsi¹⁸.

Dengan nilai RMSD 1,2308 Å Hasil dari redocking diperoleh nilai RMSD 1,2308 Å pada gambar 1.

dengan koordinat adalah X:10.3287 Y:103.868 Z:16.1894 Å dan radius yang diperoleh 12.1413Å, nilai RMSD yang diperoleh ini dibawah 2 Å sehingga memenuhi syarat validasi¹⁹. Koordinat yang diperoleh selanjutnya dipergunakan untuk docking 10 senyawa yang terkandung dari *C. fenestratum*.

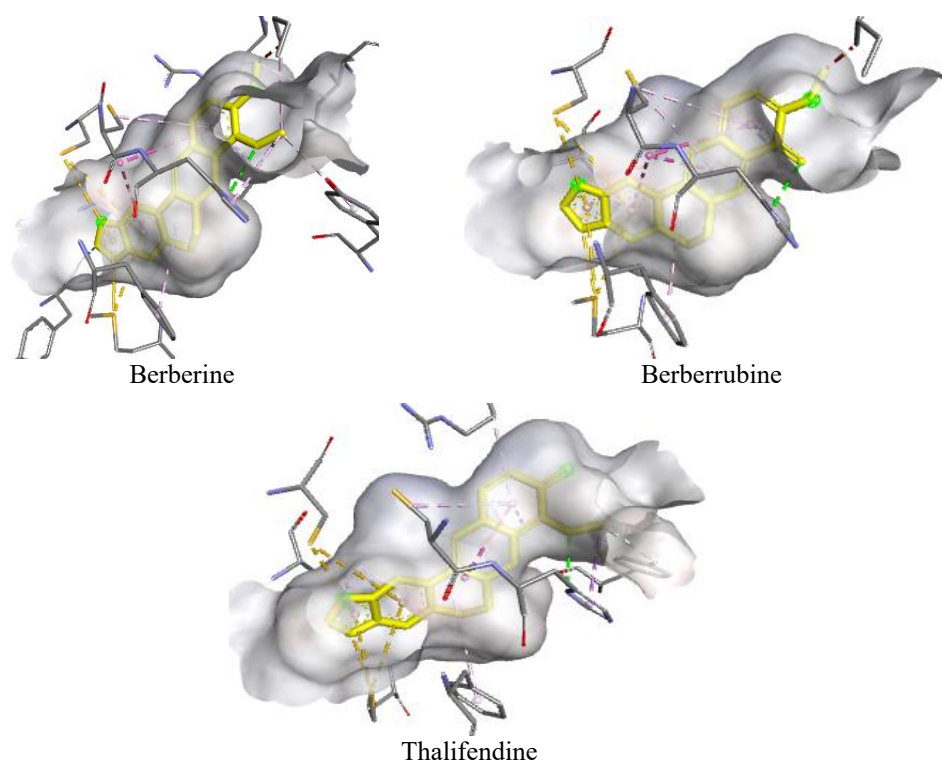


Gambar 1 . Visualisasi Ligand Reference Dan Conformer 1.

Ket: Merah adalah ligand native dan kuning adalah conformer 1.

Tabel 1. Skore Docking

No	Senyawa	Skore docking
native ligand	ethyl 3,5-dimethyl-4-[[4-(trifluoromethyl)phenyl]methyl]-1H-pyrrole-2-carboxylate	-114,743
compound 1	Berberine	-82,2408
compound 2	(-)-8-Oxocanadine	-78,0734
compound 3	(-)-8-Oxoisocorypalmine	-72,1507
compound 4	(-)-8-Oxotetrahydrothalifendine	-70,6601
compound 5	Dimethylindcarpine	-62,4541
compound 6	Berlambine	-77,0065
compound 7	8-Oxopalmatine	-72,3465
compound 8	Berberrubine	-84,6866
compound 9	Thalifendine	-81,1591
compound 10	Canadine	-63,4977



Gambar 2. Visualisasi 3D antara ligand dengan *Dihydroorotate dehydrogenase*

Ket: Visualiasi warna dari muatan protein, abu abu menggambarkan muatan dari -0.033 sampai dengan 0.033; merah muatannya -0.100 dan biru muatannya 0.067.

Tabel 2. Interaksi

Senyawa	Residu	kategori
Native	ARG265	electrostatic
	CYS175, HIS185, ARG265	hydrogen
	Val532, PHE188, LEU176, CYS184, LEU187, PHE227, LEU172, CYS175, MET536	hydrophobic
Berberine	HIS185, TYR168, TYR528	hydrogen
	LEU172, VAL532, CYS184, ILE263, ARG265, ILE 272, HIS185, TYR528, CYS184	hydrofobic
	MET536, CYS175	lainnya
Berberrubine	HIS185	hydrogen
	VAL532, PHE188, CYS184, LEU172	hydrophobic
	MET536, CYS175	lainnya
Thalifendine	HIS 185, TYR528	hydrogen
	VAL532, HIS185, CYS184, PHE188, LEU172, ARG265	hydrophobic
	MET536, CYS175	lainnya

Berdasarkan docking yang dilakukan Skor doking yang melebihi 70% adalah *Berberine*, *Berberrubine* dan *Thalifendine*. Sehingga ketiga senyawa ini dilanjutkan untuk melihat visualisasi 3 dimensi antara ligand dengan *Dihydroorotate dehydrogenase* pada gambar 2.

Residu katalitik dari *Dihydroorotate dehydrogenase* adalah HIS185, PHE227, ARG 265 dan CYS 175 (7). Residu yang sama berinteraksi dengan protein ketika dibandingkan dengan native ligand dari berberine (58%) yaitu VAL532, CYS184, ARG265, HIS185, CYS184 dengan score docking -82.2408 (71%). *Berberrubine* (58%) residu yang sama adalah HIS 185, VAL532, PHE188, CYS184, LEU172, MET536, CYS175 dengan skore docking -84,6866 (73%). Residu *Thalifendine* (78%) adalah HIS 185, VAL532, HIS185, CYS184, PHE188, LEU172, ARG265 dan MET536, CYS175 dengan skore docking -81,1591 (71 %).

Berdasarkan skor docking dan visualisasi 3 dimensi maka senyawa yang terkandung dari *C. fenestratum* berpotensi untuk dikembangkan dalam

pengobatan malaria seperti halnya leflunamide dan brequinar²⁰. Sehingga dengan ditemukan obat malaria baru dapat mencegah perkembangan penyakit menular ini dan memberikan berbagai macam alternative pengobatan²¹.

KESIMPULAN

Berdasarkan skor docking diatas maka senyawa dari *C. fenestratum* yang berpotensi secara insilico terhadap plasmodium adalah *Berberrubine* dengan skor docking - 82,488 karena penelitian ini masih sebatas model sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan model invitro dan invivo.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih terhadap universitas Lambung mangkurat yang telah memberikan kesempatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Tjay T han, Rahardja K. 2015. Obat-obat penting. Edisi 7. PT Elex Media Komputindo, Jakarta;.
2. Fitriany J, Sabiq A. 2018. Malaria. *Averrous*.;4(2).
3. WHO. 2020. World Malaria Report 2020: 20 years of global progress and challenges. World Health Organization, Geneva.

4. WHO. 2015. Guidelines For the treatment of malaria. 3rd Ed. World Health Organization. World Health Organization, Geneva.
5. CDC. 2020. Malaria: Lifecycle. [Internet]. [cited 2020 Sep 2]. Available from: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html#:~:text=The malaria parasite life cycle,which rupture and release merozoites>.
6. Ramadhani R, Arwati H, Lovin E. 2012. In Vitro Intraerythrocytic Antimalarial Activity of Akar Kuning (*Arcangelisia flava* (L) Merr) Stem Aqueous Extract in *Plasmodium falciparum*. *Folia Medica Indones*. Jun;48(3):90–5.
7. Niwat K, Dej-adisai S, Yuenyongsawad S. 2005. Antioxidant and cytotoxic activities of Thai medicinal plants named *Khaminkhruea*: *Arcangelisia flava*, *Coscinium blumeianum* and *Fibraurea tinctoria*. *Songklanakarinn J Sci Technol*. Aug 1;27.
8. Setyowati R, Sudarsono S, Setyowati E P. 2014. The Effect of Water-Soluble Stem Extract “Kayu Kuning” (*Arcangelisia flava* L.Merr) On The Growth Inhibition of *Candida albicans* ATCC 10231 and *Trichophyton mentagrophytes* IN VITRO. *Biol Med & Nat Prod Chem*.3:15–9.
9. Wahyudi LD, Ratnadewi A, Siswoyo TA. 2016. Potential Antioxidant and Antidiabetic Activities of Kayu Kuning (*Arcangelisia Flava*). *Agric Agric Sci Procedia*. Dec 31;9:396–402.
10. Tiara A, Arief H, Sudarsono S. 2015. The Antidepressant Effects of (*Arcangelisia flava* (L) Merr) Water-Soluble Extract in Balb-C Mice Reviewed from Immobility Time by Forced. *Biol Med Nat Prod Chem*. Oct 19;3:65.
11. Korb O, Stützel T, Exner TE. 2009. Empirical scoring functions for advanced Protein-Ligand docking with PLANTS. *J Chem Inf Model*.;49(1):84–96.
12. Biovia DS. Discovery Studio Visualizer [Internet]. Available 2019 from: https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download#_ga=2.4935860.685747970.1587999055-a5d1c1c0-3176-11e9-a86f-e302515d21c8
13. Krieger E, Vriend G. YASARA. 2014. View—molecular graphics for all devices—from smartphones to workstations. *Bioinformatics* [Internet]. Oct 15;30(20):2981–2. Available from: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu426>
14. ChemAxon. ChemAxon. 2016. Software Solutions and Services for Chemistry and Biology [Internet]. MarvinSketch, Version 16.10.31.. Available from: <https://chemaxon.com/>
15. Nakamura K, Shimura N, Otabe Y, Hirai-Morita A, Nakamura Y, Ono N, et al. 2013. KNApSAC-3D: a three-dimensional structure database of plant metabolites. *Plant Cell Physiol*. Feb;54(2):e4.
16. Munier-Lehmann H, Vidalain PO, Tangy F, Janin YL. 2013. On Dihydroorotate Dehydrogenases and Their Inhibitors and Uses. *J Med Chem* [Internet]. Apr 25;56(8):3148–67. Available

from:

<https://doi.org/10.1021/jm301848>

w

17. Nagy M, Lacroute F, Thomas D. Divergent evolution of pyrimidine biosynthesis between anaerobic and aerobic yeasts. *Proc Natl Acad Sci [Internet]*. 1992 Oct 1;89(19):8966 LP – 8970. Available from: <http://www.pnas.org/content/89/19/8966.abstract>
18. Fang J, Uchiumi T, Yagi M, Matsumoto S, Amamoto R, Takazaki S, et al. 2013. Dihydroorotate dehydrogenase is physically associated with the respiratory complex and its loss leads to mitochondrial dysfunction. *Biosci Rep [Internet]*. Feb 5;33(2). Available from: <https://doi.org/10.1042/BSR20120097>
19. Shivanika C, Kumar D, Ragunathan V, Tiwari P, Sumitha, Brindha D. 2022. Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease. *J Biomol Struct Dyn*. Feb;40(2):585–611.
20. Phillips MA, Rathod PK. 2010. Plasmodium dihydroorotate dehydrogenase: a promising target for novel anti-malarial chemotherapy. *Infect Disord Drug Targets*. Jun;10(3):226–39.
21. Talapko J, Škrlec I, Alebić T, Jukić M, Včev A. Malaria. 2019. The Past and the Present. *Microorganisms*. Jun;7(6).