

Studi Docking Molekuler *Catechin Gallate*, *Epicatechin Gallate*, *Gallocatechin Gallate*, dan *Epigallocatechin Gallate* sebagai Obat Dislipidemia

Molecular Docking Study of *Catechin Gallate*, *Epicatechin Gallate*, *Gallocatechin Gallate*, and *Epigallocatechin Gallate* as Dyslipidemia Drug Candidates

Ani Isnawati*, Rosa Adelina

Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan,
Kementerian Kesehatan, Indonesia
*E-mail: isnawatiani@yahoo.com

Diterima: 14 Desember 2014

Direvisi: 11 Januari 2015

Disetujui : 30 Januari 2015

Abstrak

Potensi keanekaragaman hayati Indonesia nomor dua terbesar di dunia. Potensi yang besar ini jika dikelola dengan baik dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat. Seperti diketahui 96% bahan baku obat di Indonesia masih diimpor. Hal ini yang menyebabkan harga obat menjadi mahal. Untuk itu perlu upaya kemandirian bahan baku obat diantaranya dengan penelitian tanaman Indonesia yang berpotensi sebagai obat dislipidemia untuk dijadikan sebagai bahan baku asli Indonesia. Studi *docking* molekuler merupakan salah satu model studi *insilico* yang digunakan untuk menapis senyawa berdasarkan mekanisme kerjanya terhadap target protein. Pada penelitian ini *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *gallocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* dilakukan *docking* molekuler menggunakan *software Molecular Operating Environment* (MOE) dengan tujuan untuk mengetahui daya afinitas dan interaksi keempat senyawa terhadap enzim HMG-CoA reduktase yang berperan terhadap metabolisme lemak/kolesterol. Senyawa pembanding digunakan simvastatin dan atorvastatin yang merupakan obat lini pertama untuk pengobatan dislipidemia. Hasil *docking* molekuler menunjukkan bahwa nilai energi Gibbs pada simvastatin, atorvastatin, *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *gallocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* masing-masing sebesar -6,4974; -8,543; -9,5736; -10,6395; -10,4765; dan -10,598. Keempat derivat katekin tersebut mempunyai daya hambatan dengan skor afinitas lebih baik dibandingkan simvastatin dan atorvastatin sehingga keempat derivat dari katekin ini mampu untuk menghambat biosintesis kolesterol dibandingkan dengan simvastatin dan atorvastatin serta berpotensi sebagai obat dislipidemia.

Kata Kunci : Derivat katekin; Simvastatin; Atorvastatin; Docking molekuler; HMG-CoA reduktase

Abstract

Indonesia has the second biggest natural in the world. This natural resources could be used as raw material for drug if well managed. As we know, 96% of raw material in Indonesia are imported which caused the price of drugs are expensive. In order to overcome the problem, it is essential to conduct research about Indonesian plants which are potential as dyslipidemia drug. The molecular docking study is one of *insilico* studies that is used to screen compounds based on their working mechanism to protein. In this study, *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *gallocatechin gallate* and *epigallocatechin gallate* were docked using *Molecular Operating Environment* (MOE). Software in order to determine their affinity and interaction with HMG-CoA reductase enzyme which has a role in cholesterol/fat metabolism. This research used simvastatin and atorvastatin as the standard drug for dyslipidemia. The result of molecular docking showed that Gibbs values of simvastatin, atorvastatin, *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *gallocatechin gallate* and *epigallocatechin gallate* were -6,4974; -8,543; -9,5736; -10,6395; -10,4765; and -10,598. The results stated that four cathechin derivates have an inhibiting energy better than simvastatin and atorvastatin. These are potential as dyslipidemia drugs candidate.

Keywords : Catechin derivate; Simvastatin; Atorvastatin; Molecular docking; HMG-CoA reductase

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati Indonesia termasuk nomor dua di dunia. Potensi yang besar ini, jika dikelola dengan baik akan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat untuk pasar domestik. Pada saat ini, 95% bahan baku untuk obat di Indonesia didatangkan dari luar negeri atau impor.^{1,2} Indonesia mengimpor sebanyak 250 jenis bahan baku obat senilai enam trilyun rupiah per tahun. Hal ini yang menyebabkan ketergantungan terhadap bahan baku obat yang menyebabkan harga obat di Indonesia menjadi mahal bahkan tergolong paling mahal dibandingkan negara ASEAN lainnya.^{1,2,3}

Ketergantungan Indonesia terhadap bahan baku obat yang diproduksi di luar negeri karena ketidakpedulian pemerintah terhadap anggaran penelitian di bidang farmasi yang masih rendah. Sebagian besar industri farmasi tidak tertarik pada penelitian dan pengembangan bahan baku obat. Pada umumnya industri farmasi Indonesia hanya mengalokasikan 0,5-1% dari anggarannya untuk penelitian dan pengembangan, sedangkan di negara maju seperti Amerika Serikat dan Jerman, anggaran penelitian dan pengembangan di industri farmasi rata-rata mencapai 15%.¹

Penelitian eksperimental laboratorium menunjukkan adanya korelasi positif antara konsumsi katekin dalam teh hijau dengan kesehatan jantung melalui banyak mekanisme yaitu antioksidan, antihipertensi, antiinflamasi, antiproliferasi, anti-trombogenik dan menurunkan kadar lemak.^{4,5} Katekin diperoleh dari isolasi gambir dapat dijadikan bahan baku obat untuk mengatasi plak aterosklerosis, sedangkan turunan dari katekin diantaranya *catechin gallate* (CG), *epicatechin gallate* (ECG), *galocatechin gallate* (GCG) dan *epigallocatechin gallate* (EGCG) yang juga berfungsi sebagai antioksidan diduga dapat digunakan sebagai antihiperlipidemia. *Galocatechin gallate* adalah ester dari *galocatechin* dan asam gallat. Senyawa ini merupakan

epimer dari *epigallocatechin gallate*. *Epicatechin gallate* terkandung dalam teh hijau sebesar 5, 2%.^{6,7} Katekin pada suhu 120°C, terdegradasi sebesar 24 % dan terjadi epimerisasi dari (-)-EGCG menjadi (-)-GCG. Selanjutnya katekin terdegradasi sampai dengan 50% ketika pemanasan berlangsung selama 2 jam. Adanya Proses penyeduhan menyebabkan kandungan senyawa epistruktur seperti epigalokatekin galat, epigalokatekin, epikatekin dan epikatekin galat menjadi turun. Sementara itu, kandungan katekin non epistruktur seperti galokatekin, galokatekin galat, dan katekin galat menjadi meningkat.⁸

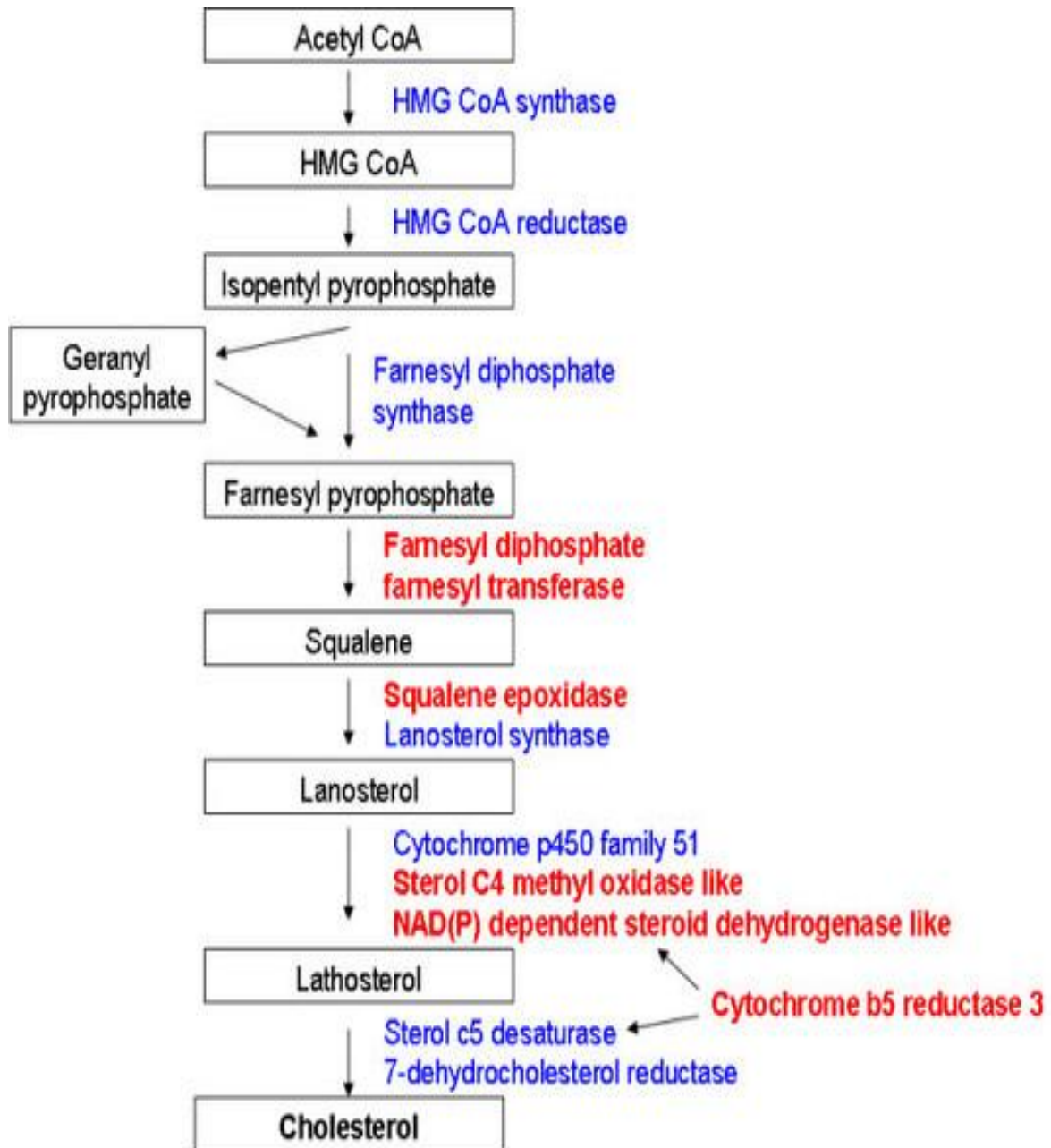
Produksi tanaman gambir yang banyak tersedia di Indonesia khususnya di Sumatera Barat, Jambi, Bengkulu dan Sumatera Selatan dapat merupakan sumber bahan baku katekin yang berkesinambungan. Penelitian ini bermanfaat untuk memaksimalkan potensi gambir sebagai bahan baku obat yang banyak tersedia dan mempunyai kandungan katekin tinggi dan merupakan salah satu senyawa yang dapat diderivatisasi menjadi *epicatechin gallate* dan *galocatechin gallate*. Tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat diantaranya sebagai bahan obat dislipidemia.^{9,10,11}

Data Riskesdas 2007 menunjukkan prevalensi obesitas pada orang dewasa di Indonesia 15,4%. Penderita obesitas biasanya mengalami hiperlipidemia dan hiperglikemi yang ditunjukkan oleh peningkatan kadar kolesterol, LDL, trigliserida dan gula darah. Peningkatan kadar kolesterol ini, lambat laun akan memicu terbentuknya "*fatty streak*" yang mengumpul di pembuluh darah dan dapat mengakibatkan terbentuknya lapisan plak aterosklerosis.^{12,13,14}

Dalam rangka mengurangi ketergantungan negara terhadap bahan baku obat, maka perlu dilakukan penelitian pada tahap awal yaitu melakukan pemodelan mekanisme kerja senyawa kimia *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate*

dengan enzim HMG-CoA reduktase untuk menghambat pembentukan kolesterol pada tahap awal.¹⁴ Pathways pembentukan

kolesterol didalam darah dapat ditunjukkan pada Gambar 1 di bawah ini:



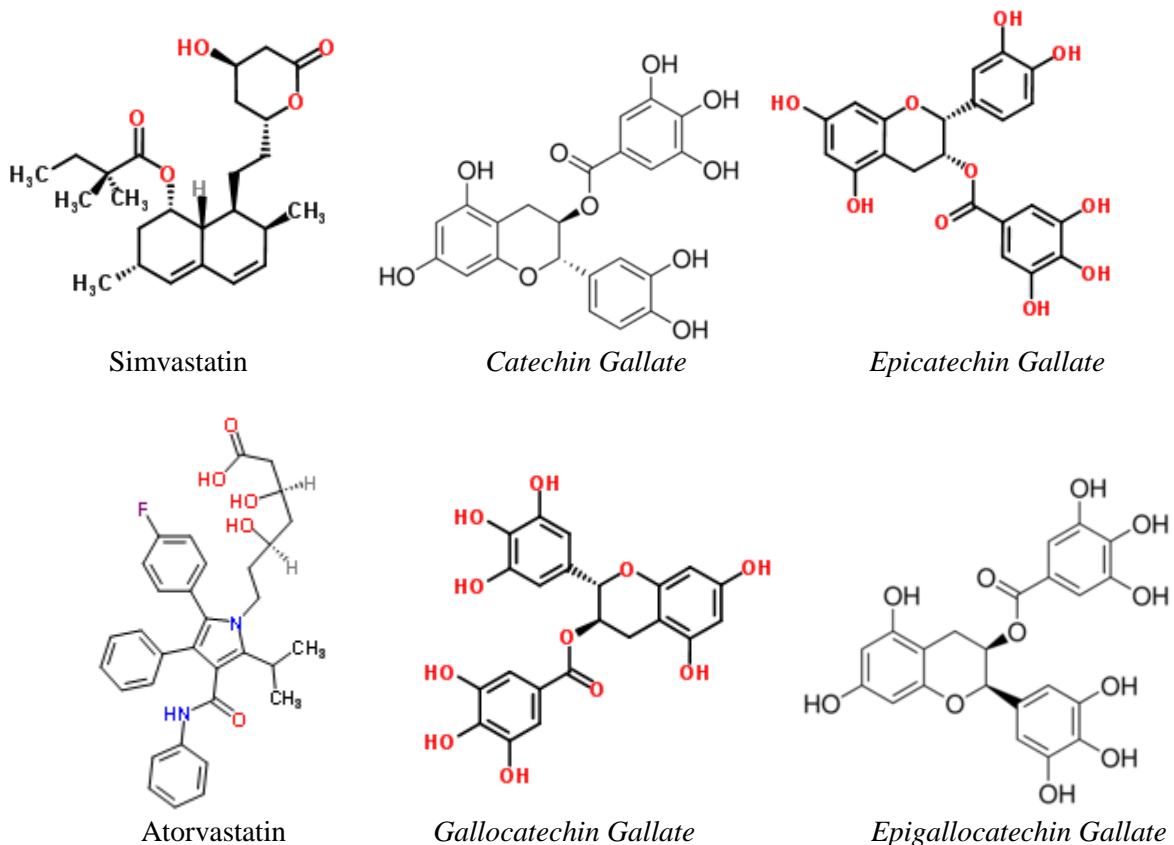
Gambar 1. Proses pembentukan kolesterol

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan salah satu studi model penelitian *in silico* dan pemodelan mekanisme kerja senyawa kimia aktif dengan suatu enzim/protein target berdasarkan pendekatan komputasi untuk menilai kekuatan afinitas ikatan antara keduanya yang ditunjukkan dengan nilai energi Gibbs. Studi ini ditujukan untuk mengetahui senyawa turunan/derivat dari katekin yaitu: *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* sebagai obat dislipidemia. Sebagai pembanding digunakan obat dislipidemia lini pertama golongan statin yaitu: simvastatin dan atorvastatin.¹⁴

Sehingga untuk mengetahui kerja ke dua senyawa kimia dilakukan *docking* menggunakan enzim *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A* (HMG-CoA) sebagai protein target karena dapat menghambat pembentukan kolesterol pada tahap awal supaya tidak terjadi pembentukan *isopenthyll pyrophosphate*.

Dalam uji komputasi digunakan *software Molecular Operating Environment* (MOE) 2013.08. Studi *docking* melalui 3 tahap pengerjaan. Tahap pertama, enzim HMG-CoA reduktase disiapkan. Struktur 3D enzim HMG-CoA reduktase dicari melalui Protein Data Bank di situs www.rcsb.org dan didapatkan kode 3BGL.



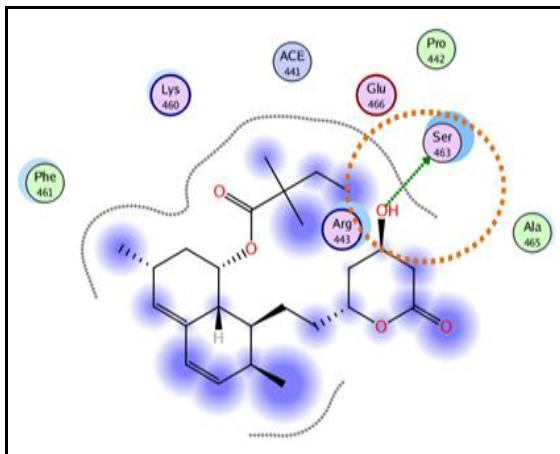
Gambar 2. Struktur molekul simvastatin, atorvastatin, *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate*

Setelah itu, protein diunduh menggunakan kode 3BGL yang terhubung langsung menggunakan software MOE. Protein yang sudah diunduh kemudian dihilangkan molekul airnya, dioptimasi, dan ditetapkan sisi aktif enzim HMG-CoA reduktase. Pada tahap kedua dilakukan penyiapan ligan/senyawa uji. Struktur 2D *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* dicari di situs www.chemspider.com. Keempat struktur ditampilkan, ditambahkan atom hidrogen, diberikan muatan potensial, dan diminimalisasi energinya. Pada tahap ketiga dilakukan *docking* (penambatan molekul) antara protein HMG-CoA dengan senyawa uji *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* dengan senyawa pembanding simvastatin dan atorvastatin.

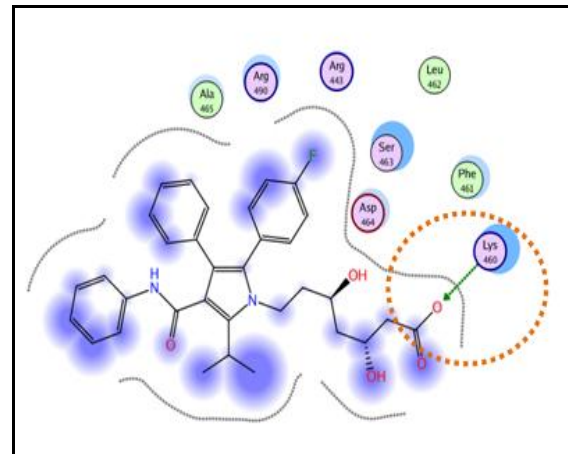
Pada tahap keempat dilakukan analisis jarak ikatan dan bentuk interaksi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

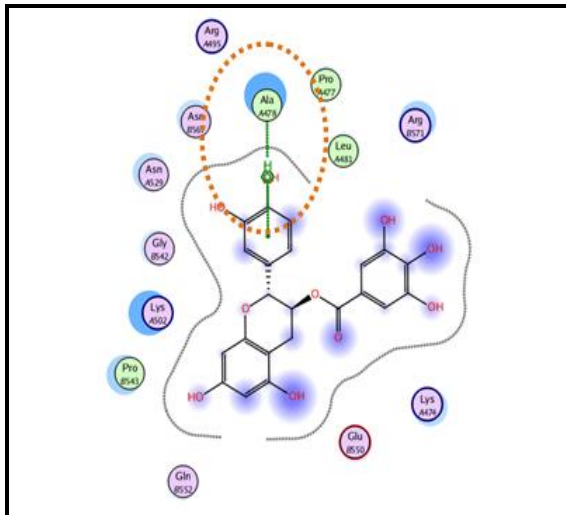
Hasil *docking* molekuler menunjukkan bahwa nilai energi Gibbs pada simvastatin, atorvastatin, *catechin gallate*, *epicatechin gallate*, *galocatechin gallate* dan *epigallocatechin gallate* masing-masing nilai energinya sebesar -6,4974; -8,543; -9,5736; -10,6395; -10,4765; dan -10,598. Nilai energi Gibbs menunjukkan kekuatan ikatan dan daya hambatan senyawa turunan katekin terhadap HMG-CoA reduktase lebih baik jika dibandingkan dengan Simvastatin dan Atorvastatin. Bentuk interaksi antara 6 senyawa tersebut dengan senyawa protein HMG-CoA dapat dilihat pada Gambar 3 hingga 8.



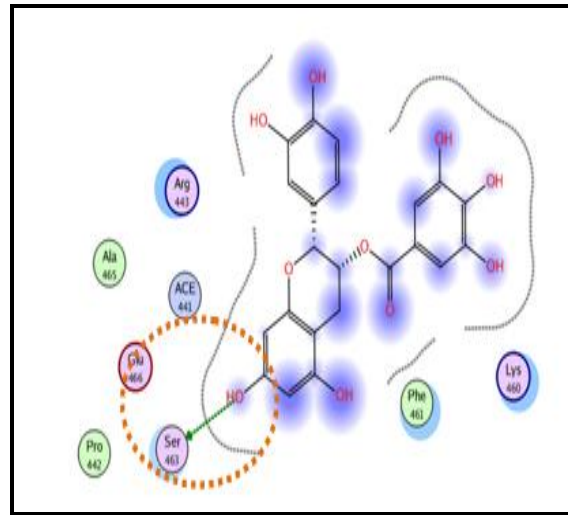
Gambar 3. Interaksi antara simvastatin dengan HMG-CoA reduktase. Ikatan terjadi pada atom hidrokxi (-OH) pada gugus lakton simvastatin dengan asam amino serin (Ser 463).



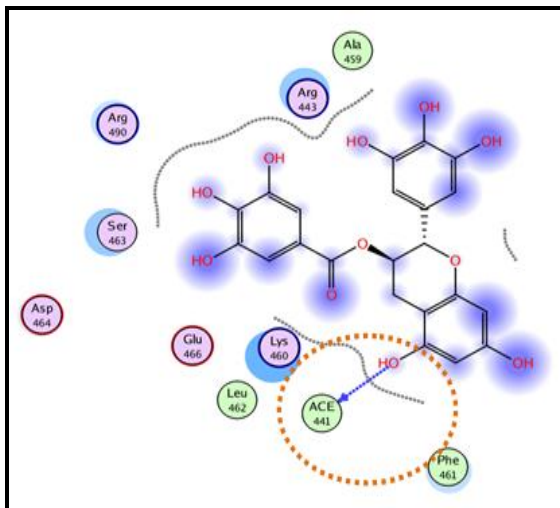
Gambar 4. Interaksi antara atorvastatin dengan HMG-CoA reduktase. Ikatan terjadi antara atom O pada gugus karboksilat atorvastatin dengan asam amino lisin (Lys 460).



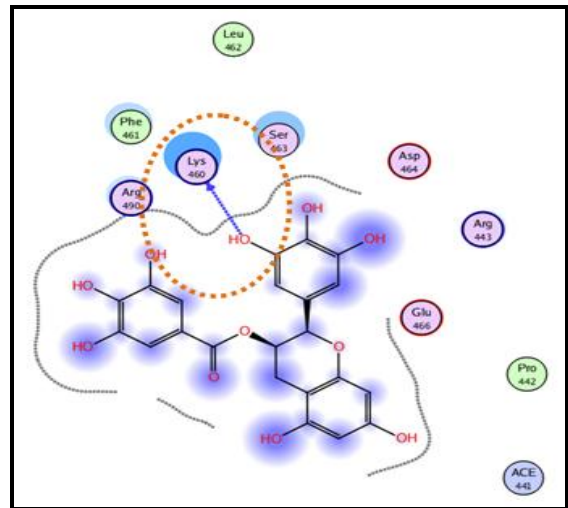
Gambar 5. Interaksi antara *catechin gallate* dengan HMG-CoA reduktase. Interaksi terjadi pada gugus benzen *catechin gallate* dengan asam amino alanin (Ala A478).



Gambar 6. Interaksi antara *epicatechin gallate* dengan HMG-CoA reduktase. Ikatan terjadi antara atom hidroksi (-OH) pada gugus cincin *decalin epicatechin gallate* dengan asam amino serin (Ser 463).



Gambar 7. Interaksi antara *gallo catechin gallate* dengan HMG-CoA reduktase. Ikatan terjadi antara atom hidroksi (-OH) pada gugus cincin *decalin gallo catechin gallate* dengan asam amino asam glutamat (ACE 441).



Gambar 8. Interaksi antara *epigallo catechin gallate* dengan enzim HMG-CoA reduktase. Ikatan terjadi antara atom hidroksi (-OH) pada gugus benzen *epigallo catechin gallate* dengan asam amino lisin (Lys 460).

Ikatan yang terjadi antara ligan-ligan dengan enzim HMG-CoA reduktase merupakan ikatan hidrogen atau ionik kecuali pada senyawa *catechin gallate* yang memiliki ikatan hidrofobik yaitu antara cincin benzen dengan asam amino

alanin (AlaA478) (Gambar 5). Gugus asam amino yang berikatan dengan *epicatechin gallate* merupakan asam amino yang sama dengan interaksi antara simvastatin dengan ligan (Gambar 3 dan 6) sedangkan kekuatan ikatan antara *epicatechin gallate*

dengan enzim HMG-CoA reduktase mempunyai ikatan yang lebih kuat apabila dibandingkan dengan senyawa pembanding simvastatin dengan enzim HMG-CoA reduktase. Serin merupakan asam amino penyusun enzim dan sering memainkan peran penting dalam fungsi katalisator enzim.

Ikatan yang terjadi antara *gallo-catechin gallate* dan enzim HMG-CoA reduktase memiliki ikatan dengan asam amino yang berbeda dengan ikatan antara simvastatin dan *epicatechin gallate* dengan enzim HMG-CoA reduktase. Walaupun demikian, ikatan ini memberikan kekuatan ikatan yang lebih baik dari Simvastatin. atorvastatin dan *epigallocatechin Gallate* memiliki ikatan hidrogen yang sama yaitu antara atom hidroksi (-OH) pada ligan dengan asam amino lisin (Lys460) (Gambar 4 dan 8). Berdasarkan kekuatan ikatan, *epigallocatechin gallate* memiliki kekuatan ikatan yang lebih kuat dibandingkan atorvastatin. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Istvan dan Deisenhofer (2001) yang menjelaskan bahwa asam amino yang berperan dalam ikatan HMG-CoA reduktase dan senyawa golongan statin pada ikatan ionik diantaranya serin, lisin dan asam glutamate, sedangkan asam amino yang berperan dalam ikatan hidrofobik salah satunya adalah alanin.¹⁴ Gugus-gugus asam amino yang berperan dalam ikatan ligan-reseptor ini akan berkontribusi dalam hal penghambatan aksi enzimatis HMG-CoA reduktase sehingga biosintesis kolesterol tidak terjadi.

Simvastatin dan atorvastatin adalah senyawa inhibitor kompetitif HMG-CoA reduktase dan merupakan analog struktural dari HMG-CoA. Secara umum statin bekerja dengan memperlambat produksi kolesterol dan meningkatkan kemampuan hati untuk mengeluarkan kolesterol dari dalam darah. Mekanisme kerja HMG-CoA reduktase merupakan perantara langkah awal biosintesis sterol. Statin menghambat reduktase HMG-CoA dengan membentuk sejenis asam mevalonat cincin

terbuka. Adanya inhibisi ini menyebabkan sintesis kolesterol terhambat, sehingga meningkatkan ekspresi reseptor LDL dan menurunkan degradasi reseptor LDL.¹⁵ Dari hasil tersebut, keempat ligan mempunyai potensi untuk dapat digunakan sebagai bahan kandidat obat penurun kadar kolesterol darah.

KESIMPULAN

Catechin gallate, epicatechin gallate, gallo-catechin gallate, dan epigallocatechin gallate berpotensi sebagai kandidat obat dislipidemia dan lebih baik jika dibandingkan dengan simvastatin berdasarkan studi *docking* molekuler.

DAFTAR RUJUKAN

1. Bahan baku obat di Indonesia andalkan impor [internet].Kompas.com,2009 Juli 1 [disitasi 2013 Maret 14]. Diperoleh dari: <http://kesehatan.kompas.com/read/2009/07/01/1137354/Bahan.Baku.Obat.di.Indonesia.Andalkan.Impor>.
2. Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 87 Tahun 2013 tentang Peta Jalan Pengembangan Bahan Baku Obat. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2013.
3. Kementerian Perindustrian. Impor Bahan Obat Tembus Rp 11 Trilyun.[Internet]. Kementerian Perindustrian, [disitasi 2013 Maret 12 Diperoleh dari: <http://www.kemenperin.go.id/artikel/2808/Impor-Bahan-Obat-Tembus-Rp-11-T>.
4. Babu PVA, Liu D. Green tea catechins and cardiovascular health.; an update. *Current Medical Chemistry*. 2008,15(18): 1840-50.
5. Auclair S, Milenkovic D, Besson C, Chauvet S, Gueux E, Morand C, et al. Catechin reduces atherosclerotic lesion development in apo E-deficient mice: A transcriptomic study. *Atherosclerosis*, 2008;204:21-27.
6. Widyaningrum N. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) pada daun teh hijau sebagai anti jerawat,.Majalah Farmasi dan Farmakologi. 2013;17(3):95-98.

7. Chyu KY, Babbidge SM, Zhao X, Dandillaya R, Rietveld AG, Yano J, et al. Differential effects of green tea-derived catechin on developing versus established atherosclerosis in apolipoprotein E-null mice. *Circulation*. 2004;109:2448–53.
8. Susanti E. Keajaiban katekin teh hijau pada fungsi kardiovaskuler [Internet]. AKA Farma; 2012, Mei [disitasi 2015 Jan 26] Diperoleh dari: <http://www.putraindonesiamalang.or.id/keajaiban-katekin-teh-hijau-pada-fungsi-cardiovaskuler.html>.
9. Doyle M. The advantages of green tea tablets. [cited 2011 December 14] Available from <http://www.livestrong.com/article/>.
10. Nazir N. Gambir: budidaya, pengolahan dan prospek diversifikasinya. Padang: Yayasan Hutanku; 2000.
11. Sa'id EG, Review kajian, penelitian dan pengembangan agroindustri, strategis nasional: kelapa sawit, kakao dan gambir, *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 2009;19(1):45-55
12. Mangiapane H, Thomson J, Salter A, Brown S, Bell GD, White DA. The inhibition of the oxidation of low density lipoprotein by (+)-catechin, a naturally occurring flavonoid. *Biochemical Pharmacology*. 1992;43(3):445-50. doi 10.1016/0006-2952(92)90562-w.
13. Badan Litbangkes. Riskesdas 2013 [Internet]. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2013 [disitasi 2014 Maret 12], Diunduh dari www.litbang.depkes.go.id/sites/.../rkd2013/Laporan_Riskesdas2013.PDF, tanggal 12 Maret 2015.
14. Istvan ES, Deisenhofer J. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA Reductase. *Science*. 2001;292:1160-64.
15. Suyatna FD, Handoko T. Hipolipidemik. Dalam: Ganiswara SG, Setiabudy R, Suyatna FD, Purwastyastuti, editor. *Farmakologi dan terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi FK-UI; 1995. 364-79.