



e-ISSN : 2621-4660, p-ISSN : 1979-004X

Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada
Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi

Home page : https://ejurnal.universitas-bth.ac.id/index.php/P3M_JKBTH/index



UJI *IN-SILICO* SENYAWA TURUNAN KURKUMINOID SEBAGAI INHIBITOR BRUTON TYROSINE KINASE PADA LEUKIMIA LIMFOSITIK KRONIS

IN-SILICO TEST OF CURCUMINOID DERIVATIVES AS BRUTON TYROSINE KINASE INHIBITORS IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Abdul Mulki Irpani¹, Muhamad Ilham Bintang¹, Al-Fira Putriyanti¹, Deistha Adinda¹, Jajang Japar Sodik^{1*}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia

Jl. Soekarno-Hatta No.754, Cipadung Kidul, Kec. Panyileukan, Kota Bandung, Jawa Barat 40614

*e-mail korespondensi: jajang.japar@bku.ac.id

ABSTRAK

Leukemia merupakan penyakit kanker darah yang terjadi akibat pertumbuhan abnormal dari sel darah terutama sel darah putih di dalam sumsum tulang. Studi menunjukkan kurkumin telah terbukti efektif dalam menghambat aktivitas faktor transkripsi NF- κ B yang sering terlibat dalam proliferasi sel kanker. penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari senyawa bahan alam kurkuminoid terhadap penyakit kanker darah yang spesifik yaitu leukemia limfositik kronis. Melalui pengujian secara *in-silico* dari senyawa turunan kurkuminoid terhadap target protein *Bruton Tyrosine Kinase* yang memiliki peran dalam proses patofisiologi leukemia limfositik kronis. Metode yang digunakan meliputi persiapan protein dan ligan, penambatan molekuler (*Molecular Docking*) menggunakan AutoDock Vina, serta analisis interaksi molekuler untuk mengevaluasi afinitas ligan terhadap enzim target. Hasil penambatan molekul ligan uji pada enzim Tyrosine-protein kinase BTK, native ligand memiliki nilai energi ikatan (ΔG) paling rendah yaitu -12,04 kcal/mol dengan konstanta inhibisi (KI) sebesar 1,49 nM. Sebagai obat pembanding, imatinib menunjukkan ΔG -11,05 kcal/mol dengan KI 7,88 nM. Ligan uji S02, S05, dan S08. Ligan S02 menunjukkan ΔG sebesar -9,43 kcal/mol dengan KI 123,19 nM, sedangkan S05 memiliki ΔG -9,09 kcal/mol dengan KI 218,10 nM. Sementara itu, S08 mencatat ΔG -9,33 kcal/mol dan KI 143,83 nM. Meskipun nilai afinitas ketiga ligan uji tersebut lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami tetapi memiliki potensi dalam mengikat enzim target. Berdasarkan analisis interaksi ini, terlihat bahwa S05 memiliki potensi inhibisi yang kompetitif, sedangkan S02 dan S08 menunjukkan stabilitas interaksi yang lebih rendah dibandingkan imatinib. Hal ini memberikan indikasi bahwa S05 memiliki peluang terbesar sebagai inhibitor potensial untuk enzim BTK dibandingkan ligan uji lainnya.

Kata Kunci : *Bruton Tyrosine Kinase, Kurkuminoid, Molecular Docking*

ABSTRACT

Leukemia is a blood cancer that occurs due to abnormal blood cell growth, especially white blood cells in the bone marrow. Research shows that curcumin is proven to be effective in inhibiting the activity of the NF- κ B transcription factor which is often involved in the proliferation of cancer cells. This study aims to determine the potential of natural curcuminoid compounds against specific blood cancers, namely chronic lymphocytic leukemia. Through in-silico testing of curcuminoid derivative compounds against the Bruton Tyrosine Kinase protein target which plays a role in the pathophysiological process of chronic lymphocytic leukemia. The methods used include protein and ligand preparation, Molecular Docking using AutoDock Vina, and molecular interaction analysis to

evaluate the affinity of the ligand to the target enzyme. The results of docking the test ligand molecule on the Tyrosine-protein kinase BTK enzyme, the native ligand has the lowest Binding energy value (ΔG) of -12.04 kcal/mol with an Inhibition constant (KI) of 1.49 nM. As a comparison drug, imatinib showed ΔG -11.05 kcal/mol with a KI of 7.88 nM. Test ligands S02, S05, and S08. Ligand S02 showed a ΔG of -9.43 kcal/mol with a KI of 123.19 nM, while S05 had a ΔG of -9.09 kcal/mol with a KI of 218.10 nM. Meanwhile, S08 recorded a ΔG of -9.33 kcal/mol and a KI of 143.83 nM. Although the affinity values of the three test ligands were lower than those of the natural ligands, they had the potential to bind to the target enzyme. Based on the interaction analysis, it was seen that S05 had the potential for competitive inhibition, while S02 and S08 showed lower interaction stability compared to imatinib. This indicates that S05 has the greatest potential as a potential inhibitor of the BTK enzyme compared to other test ligands.

Keywords: *Bruton Tyrosine Kinase, Kurkuminoid, Molecular Docking*

Diterima: 25 Februari 2025 Direview: 28 Februari 2025 Diterbitkan: 28 Februari 2025

PENDAHULUAN

Leukemia merupakan penyakit kanker darah yang terjadi akibat pertumbuhan abnormal dari sel darah terutama sel darah putih di dalam sumsum tulang (Rahadiyanto Y et al., 2014). Leukemia dapat dikategorikan menjadi 4 jenis, yaitu Leukemia limfositik akut (LLA), Leukemia limfositik kronis (LLK), Leukemia mieloid akut (LMA) dan Leukimia mieloid kronis (LMK) (Fedele & Opat, 2024). Leukemia limfositik kronis (LLK) adalah keganasan hematologi yang ditandai dengan proliferasi klonal dan penumpukan limfosit B neoplastik dalam darah (Chisti & Leukemias, 2022). Leukemia limfositik kronis (LLK) biasanya ditandai dengan berbagai perubahan imun yang mempengaruhi imunitas bawaan dan adaptif (Vitale et al., 2021). Leukemia limfositik kronis (LLK) atau *chronic lymphocytic leukemia* (CLL) menunjukkan peningkatan secara global. Pada tahun 2020 terdapat 437.033 kasus, yaituterdiri dari pria 249.454 kasus dan wanita 187.579 kasus (Fedele & Opat, 2024). Menurut data dari WHO di Indonesia pada tahun 2020 terdapat 11.530 kematian yang diakibatkan oleh leukemia yang merupakan kanker dengan kasus kematian tertinggi nomer lima setelah kanker paru-paru, payudara, serviks dan hati.

Di Indonesia kurkumin secara tradisional digunakan sebagai obat herbal untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan seperti peradangan, gangguan pencernaan, anti nyeri, dan anti kanker. Penggunaan kurkumin sebagai agen antikanker terus diteliti karena sifat antioksidan dan antiinflamasi yang kuat (Fallahi et al., 2021). Dalam studi kurkumin telah terbukti efektif dalam menghambat aktivitas faktor transkripsi NF- κ B yang sering terlibat dalam proliferasi sel kanker. Selain itu, kurkumin juga menekan aktivitas jalur STAT3, yang berperan dalam resistensi apoptosis dan peningkatan ekspresi protein anti-apoptosis seperti Bcl-2 (Amaroli et al., 2024). Kurkumin diklasifikasikan menjadi tiga senyawa utama dalam kelompok kurkuminoid yaitu Kurkumin I (Diferuloilmetana) senyawa ini merupakan komponen paling dominan dalam kunyit dan memiliki aktivitas antikanker paling kuat. Kurkumin I berperan dalam menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis (Amaroli et al., 2024). Demetoksikurkumin (Kurkumin II) dengan satu gugus metoksi lebih sedikit dibandingkan kurkumin I, demetoksikurkumin juga memiliki potensi antikanker yang baik, meski aktivitasnya sedikit lebih rendah dibandingkan kurkumin I (Kuzminska et al., 2024). Bisdemetoksikurkumin (Kurkumin III) Tidak memiliki gugus metoksi, bisdemetoksikurkumin tetap menunjukkan sifat antikanker dan antiinflamasi, meskipun dengan aktivitas yang lebih rendah dibandingkan kedua bentuk kurkumin lainnya (Kaur et al., 2024).

Leukemia dipilih sebagai fokus penelitian ini karena memiliki target terapi yang jelas, yaitu *Bruton Tyrosine Kinase* (BTK), yang berperan dalam proliferasi sel kanker. Penyakit ini juga masih menghadapi tantangan dalam pengobatan, di mana obat-obatan seperti imatinib dan inhibitor BTK lainnya sering dikaitkan dengan efek samping yang signifikan dan potensi resistensi obat. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa kurkumin memiliki aktivitas antiproliferasi dan apoptosis terhadap berbagai jenis kanker, termasuk leukemia, dengan mekanisme yang melibatkan penghambatan faktor transkripsi NF- κ B. Selain itu, prevalensi leukemia terus meningkat secara global, dengan jumlah kasus baru bertambah lebih dari 150% sejak tahun 1990, menunjukkan urgensi penelitian terhadap terapi alternatif yang lebih efektif dan memiliki efek samping yang lebih rendah. Oleh karena itu, evaluasi

potensi kurkuminoid sebagai inhibitor BTK pada leukemia limfositik kronis menjadi langkah penting dalam pengembangan terapi berbasis bahan alam yang lebih aman dan efisien (Galitzia et al., 2024).

Pada penelitian sebelumnya dilakukan pada hewan tikus dan mencit serta studi *in vitro* pada lini sel manusia menunjukkan kemampuan kurkumin untuk menghambat karsinogenesis pada tiga tahap yaitu promosi tumor, angiogenesis, dan pertumbuhan tumor. Dalam dua studi kanker usus besar dan kanker prostat, kurkumin menghambat proliferasi sel dan pertumbuhan tumor. Selain itu, dalam penelitian *in vitro* dan *in vivo* ekstrak rimpang curcuma longa didapatkan Tidak ada sitotoksitas yang terlihat pada garis sel apa pun dengan ekstrak jika dibandingkan dengan kontrol positif (Adriamycin 10 µg/ml), ekstrak curcuma longa NBFR-03 menunjukkan tren yang menjanjikan pada tikus yang diolah sebelumnya dengan NBFR-03, kurkuminoid ini memiliki efek sinergis ketika digunakan bersama agen kemoterapi lain yang dapat meningkatkan efikasi pengobatan dan meminimalkan efek samping pada berbagai jenis kanker seperti kanker payudara, kanker paru-paru, dan leukemia (Paradkar et al., 2021).

Berdasarkan paparan diatas penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari senyawa bahan alam kurkuminoid terhadap penyakit kanker darah yang spesifik yaitu leukemia limfositik kronis. Melalui pengujian secara *in-silico* dari senyawa turunan kurkuminoid terhadap target protein *Bruton Tyrosine Kinase* yang memiliki peran dalam proses patofisiologi leukemia limfositik kronis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan metode eksperimental secara *in-silico*. Proses *in-silico* meliputi metode optimasi geometri dan penambatan molekul. Tahapannya antara lain persiapan ligan, persiapan protein, validasi metode penambatan molekul, dan simulasi penambatan molekul ligan uji dengan protein uji. Persiapan ligan diawali dengan pembuatan struktur 2D dan 3D menggunakan aplikasi ChemDraw 2D dan 3D. Senyawa utama dari tanaman diperoleh dari database PubChem (nih.gov) dengan mengunduh senyawa dalam format .sdf, kemudian dipreparasi ulang menggunakan software Avogadro dengan mengonversi format menjadi .inp. Setelah itu, ligan dilakukan optimasi geometri menggunakan perangkat lunak ORCA dengan metode Density Functional Theory (DFT) B3LYP dan basis set 6-31G (D). Sementara itu, struktur protein target, yaitu *Bruton Tyrosine Kinase* (BTK), diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dan dipreparasi dengan menghilangkan molekul air serta ligan bawaan serta dilakukan penambahan hidrogen untuk menjaga stabilitas struktur. Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan menambatkan ligan alami pada protein target menggunakan aplikasi AutoDock versi 4.2.3. Hasil validasi dilihat dari nilai Root Mean Square Deviation (RMSD), yang dikatakan valid jika $RMSD \leq 2$ Å. Selanjutnya, dilakukan simulasi penambatan molekul ligan uji terhadap protein target menggunakan AutoDock Tools 1.5.7 untuk mengevaluasi afinitas dan stabilitas interaksi antara ligan uji dengan protein BTK. Hasil penambatan molekul kemudian divisualisasikan menggunakan aplikasi Discovery Studio Visualizer 2024 untuk mengidentifikasi jenis interaksi yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan kovalen antara ligan dan protein target. Dengan prosedur ini, diharapkan diperoleh data mengenai potensi kurkuminoid sebagai inhibitor enzim *Bruton Tyrosine Kinase* dalam pengembangan terapi leukemia limfositik kronis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Preparasi Ligand Uji

Senyawa aktif kurkumin dan turunannya menunjukan potensi yang baik sebagai *inhibitor kasein kinase 2-a*, penentuan senyawa berdasarkan hasil potensi terbaik (Hakiki et al., 2024). Pembuatan struktur 2D dan 3D menggunakan aplikasi ChemDraw 2D dan Avogadro, Ligan uji yang digunakan adalah hasil dari senyawa utama dari tanaman didapatkan dari database PubChem (nih.gov)

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Kurkumin dan Turunannya

Ligand	Kode Ligand	Struktur 2D	Pubchem ID
Curcumin	S01		969516
Bisdemethoxycurcumin	S02		5315472
Demethoxycurcumin	S03		5469424
Keto-curcumin	S04		129738071
Dimethoxycurcumin	S05		9952605
Tetrahydrodemethoxycurcumin	S06		9906039
Demethyl Curcumin	S07		5469426
Dimethylcurcumin	S08		6477182
Curcumin-d6	S09		53464495
Di-O-acetyldemethoxycurcumin	S10		10812160

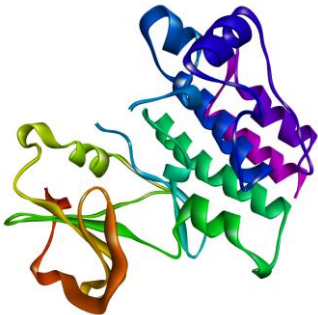
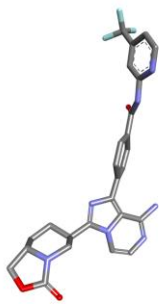
Ligand yang sudah dimodelkan dengan menggunakan Software Avogadro selanjutnya dilakukan Optimasi geometri menggunakan software ORCA dengan menggunakan menggunakan ORCA software dengan menggunakan metode menggunakan metode B3LYP (*Becke's Three-Parameter Hybrid Functional combined with Lee-Yang-Parr correlation functional*) termasuk dalam kategori metode DFT (Density Functional Theory) dengan basis set 6-31G (D) dengan pengoptimalan struktur senyawa uji mencari konfigurasi atom yang memberikan energi total minimum dan menghitung frekuensi getaran molekul. Optimasi geometri bertujuan untuk menghitung energi, mendapatkan struktur dengan energi minimum atau terendah dari sebuah molekul. Struktur dengan energi terendah mewakili keadaan paling stabil. Struktur ini menggambarkan keadaan stabil molekul yang bebas dari tegangan atau distorsi (Kramer et al., 2022). Metode B3LYP dengan basis set 6-31G (D) dipilih karena memiliki keseimbangan yang baik antara akurasi dan efisiensi komputasi dalam optimasi geometri serta perhitungan sifat elektronik molekul. B3LYP, sebagai metode hybrid dalam Density Functional Theory (DFT), mengombinasikan keunggulan metode pertukaran Hartree-Fock dengan korelasi energi DFT, sehingga menghasilkan prediksi struktur molekul yang lebih akurat dibanding metode DFT konvensional lainnya. Basis set 6-31G (D) digunakan karena cukup kompleks untuk menangkap interaksi orbital secara detail, termasuk efek difusi dan polarisasi yang diperlukan untuk menggambarkan interaksi molekuler secara realistis (Bursch et al., 2022)

Metode B3LYP, yang menggabungkan fungsi pertukaran Hartree-Fock dengan fungsi korelasi DFT, menawarkan keseimbangan antara akurasi dan efisiensi. Dengan ini, metode ini dapat mempelajari sifat elektronik, energi ikatan, dan reaktivitas molekul, terutama pada sistem organik dan anorganik berukuran kecil hingga menengah. Basis set 6-31G(d) digunakan untuk meningkatkan akurasi perhitungan dengan menambahkan fungsi polarisasi pada atom berat, sehingga interaksi elektron yang kompleks dapat dimodelkan lebih baik. Kombinasi ini memberikan hasil yang akurat untuk geometri molekul, energi transisi, dan distribusi muatan dengan tetap mempertahankan efisiensi komputasi. Oleh karena itu, metode ini sering digunakan dalam studi teoretis untuk memahami sifat kimia molekul sebelum dilakukan eksperimen. Dapat melakukan perhitungan yang lebih detail, yang penting untuk sistem kompleks atau untuk molekul dengan banyak derajat kebebasan. Ini mengurangi risiko terjebak dalam konfigurasi yang kurang stabil (Bursch et al., 2022; Kramer et al., 2022).

2. Preparasi Protein

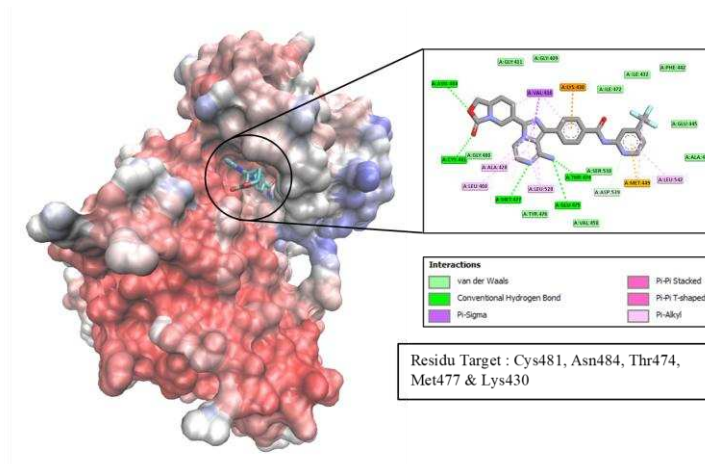
Struktur enzim *Tyrosine-protein kinase* BTK yang diunduh dari RCSB mengandung molekul air, sehingga dilakukan penghilangan molekul air agar tidak mengganggu proses simulasi penambatan molekul, untuk memastikan bahwa yang berinteraksi adalah ligan dengan *Tyrosine-protein kinase* BTK. Daerah aktif pada protein menunjukkan daerah interaksi, jika ligan membentuk interaksi dengan asam amino pada daerah aktif akan menunjukkan adanya ikatan interaksi antara ligan dengan protein. Interaksi antara native ligan dengan enzim *Tyrosine-protein kinase* BTK terbentuk pada cincin A.

Tabel 2. Protein Tyrosine-protein kinase BTK dan native ligand (ULV)

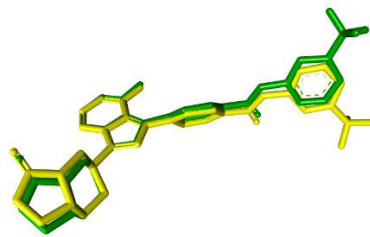
PDB code	Makromolekul	Native Ligand
3NRZ		

3. Validasi Molecular Docking

Validasi metode docking memiliki parameter berupa nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Nilai RMSD menunjukkan perbandingan konformasi antara native ligand hasil docking dengan konformasi sebelum docking yang ditentukan oleh grid box pada daerah aktif enzim. Grid box dalam proses docking biasanya ditentukan berdasarkan ukuran dan lokasi target molekul serta ligan yang ingin diuji. Grid box adalah volume dalam ruang 3D di mana algoritma docking mencari kemungkinan tempat ikatan atau posisi yang mengoptimalkan interaksi antara ligan dan target. Penyesuaian tersebut dilakukan agar ligan masuk kedalam kotak koordinat sehingga fleksibilitas interaksi yang terjadi tidak terganggu karena ligan tidak memiliki ruang untuk berinteraksi. Berdasarkan hasil pada validasi metode docking protein 6X3N didapatkan nilai RMSD sebesar 1.888 Å yang dimana nilai validasi dikatakan valid dan baik jika nilai RMSD yang diperoleh ≤ 2 Å (Amrulloh et al., 2023), semakin kecil nilai RMSD yang didapat dari hasil re-docking maka akan menyerupai posisi ligand native aslinya. Hal ini menunjukkan bahwa posisi *native ligand* pada PDB ID: dengan hasil redocking kemudian di *overlapping* (Gambar 2) memiliki konformasi yang mirip.



Gambar 1. Visualisasi validasi docking molekuler enzim tirosin-protein kinase BTK dengan Native ligand



Gambar 2. Visualisasi *overlay native ligand*

Interaksi yang terjadi antara protein target dan native ligand dapat berupa ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik dan interaksi *van der waals*, yang merupakan ikatan intermolecular (Tabel 4, Gambar 1). Ikatan intermolecular merupakan ikatan yang penting terjadi antara interaksi obat dengan targetnya. Residu asam amino yang penting dan bertanggung jawab adalah Cys481 dan Asn484 pada target *Tyrosine-protein kinase* BTK (Kowalchick et al., 2007; Liu et al., 2020). Hasil interaksi penambatan ulang ligan alami memiliki interaksi terhadap residu asam amino target dengan membentuk ikatan hydrogen dengan residu asam amino Cys481, Asn484, Thr474, Met477 & Lys430, ikatan hidrogen menandakan akurasi prediksi dari sebuah interaksi *intermolecular* penilaian ikatan hidrogen untuk memastikan bahwa kompleks yang dihasilkan adalah yang paling sesuai dan stabil, dan berdasarkan hasil interaksi membuktikan validasi penambatan molekul telah valid (Gupta et al., 2021). Kesesuaian konformasi ligand mengikat residu asam amino tertentu dan memiliki nilai RMSD yang kurang dari 2 Å, sehingga parameter yang telah divalidasi dipakai ketahap penambatan ligand uji.

4. Simulation Molecular Docking

Simulasi penambatan molekul ligan uji terhadap protein target menggunakan pengaturan gridbox sesuai ukuran dan daerah aktif pada protein dari hasil validasi sebelumnya. Dilakukan penyesuaian sesuai daerah aktif pada protein dengan pengaturan ukuran grid 40 x 40 x 52 pada koordinat binding site.

Tabel 3. Hasil Docking Molekuler Ligand terhadap Enzim *Tirosin-Protein Kinase BTK*

Ligand	Binding energy (kcal/mol)	Inhibition constant	Number of hydrogen bond (HB)	Number of hydrophobic interaction (HI)
Native Ligand	-12,04 kcal/mol	1,49 nM	8 HB : Thr474 , Glu475, Met477 , Cys481 , Asn484 , Asp539, Lys430	12 HI : Val416, Met449, Leu408, Ala428, Leu528, Lys430
S01	-8,80 kcal/mol	356,95 nM	5 HB : Lys430 , Thr474 , Phe540, Glu445	10 HI : Phe540, Val416, Leu542, Met449, Leu408, Ala428, Leu528, Lys430
S02	-9,43 kcal/mol	123,19 nM	4 HB : Lys430 , Met477 , Glu445	6 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu542
S03	-9,24 kcal/mol	169,22 nM	4 HB : Lys430 , Met477, Phe540	7 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408, Leu542
S04	-8,14 kcal/mol	1,07 uM	3 HB : Lys430 , Thr474 , Phe540	8 HI : Asp539, Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408, Leu542
S05	-9,09 kcal/mol	218,10 nM	7 HB : Thr474 , Lys430 , Gly480, Tyr476, Glu445, Phe540	12 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408, Leu542, Val448, Tyr476
S06	-8,04 kcal/mol	1,27 uM	5 HB : Lys430 , Met477 , Ser538, Glu445	6 HI : Phe540, Val416, Ala428, Leu528, Leu542
S07	-8,25 kcal/mol	900,39 nM	4 HB : Lys430 , Met477 , Glu445	7 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408, Leu542
S08	-9,33 kcal/mol	143,83 nM	4 HB : Lys430 , ASP539, Glu445, Gly480	8 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu542
S09	-8,45 kcal/mol	641,85 nM	4 HB : Lys430 , Thr474 , Phe540, Glu445	9 HI : Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408
S10	-9,16 kcal/mol	192,13 nM	2 HB : Thr474 , Gly480	7 HI : Val416, Leu408, Ala428, Leu528, Leu542 Asp539
Imatinib	-11,05 kcal/mol	7,88 nM	5 HB : Thr474 , Phe540, Glu445, Gln421	6 HI : Val416, Leu528, Ala428, Leu408, Lys430
Tamox	-9,20 kcal/mol	179,91 nM	1 HB : Thr474	10 HI : Thr474, Phe540, Asp539, Val458, Met449, Lys430, Ile472, Leu542
Doxo	-9,86 kcal/mol	58,81 nM	10 HB : Thr474 , Met477 , Ser538, Arg525, Asn525, Asp539, Glu475	8 HI : Val416, Leu408, Ala428, Leu528

Residu Penting : Cys481, Asn484, Thr474, Met477 & Lys430

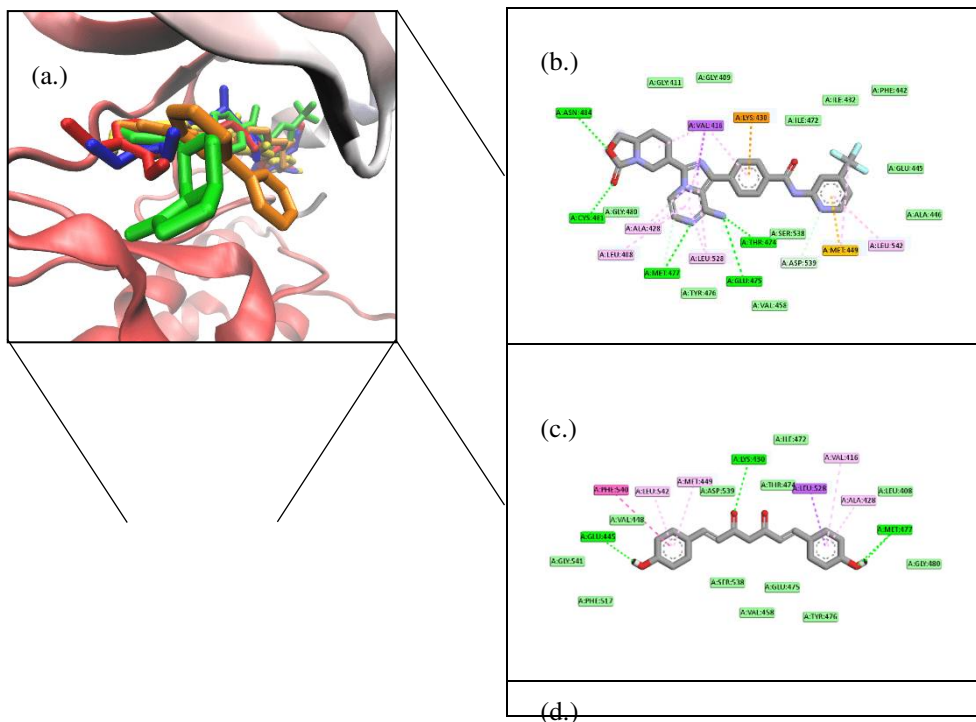
Simulasi penambatan molekul dapat menganalisis posisi suatu ligan terhadap target dan ikatan kimia yang terjadi sehingga afinitas senyawa terhadap suatu target dapat diprediksi. Simulasi penambatan molekul untuk ligand uji dilakukan untuk memperoleh interaksi dan afinitas ligand uji terhadap sisi aktif pada enzim. Energi bebas ikatan merupakan ukuran kemampuan ligan untuk bisa berikatan dengan target. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan maka afinitas antara target dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya jika semakin besar nilai energi bebas ikatan maka afinitas

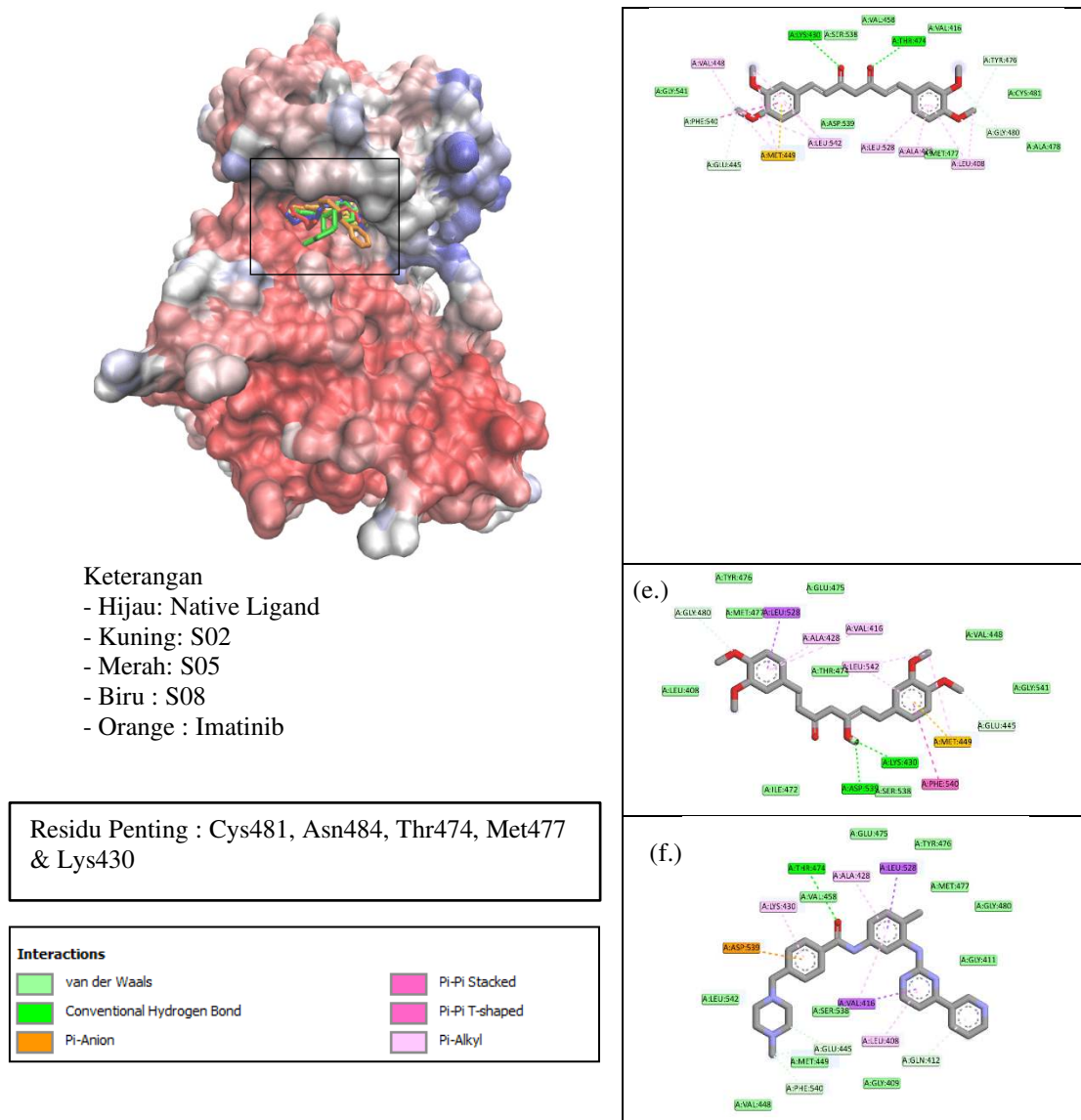
antara target dengan ligan semakin rendah. Semakin rendah nilai energi bebas ikatan maka semakin rendah nilai konstanta inhibisi (K_i). Nilai K_i menunjukkan konsentrasi inhibitor yang diperlukan untuk menghambat kinerja target. Ligan uji yang memiliki nilai konstanta inhibisi kurang dari 100 μM dianggap sebagai inhibitor yang potensial sedangkan nilai konstanta inhibisi lebih besar dari 100 μM adalah inhibitor yang tidak kuat (Zheng & Polli, 2010).

Hasil penambatan molekul ligan uji pada enzim Tyrosine-protein kinase BTK (PDB ID 6X3N) menggunakan aplikasi AutoDock 1.5.6 menunjukkan variasi dalam energi ikatan dan konstanta inhibisi. Berdasarkan data yang diperoleh, ligan alami (native ligand) memiliki nilai energi ikatan paling rendah yaitu -12,04 kcal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 1,49 nM, mengindikasikan afinitas yang sangat tinggi terhadap reseptor BTK. Sebagai obat pembanding, imatinib menunjukkan energi ikatan -11,05 kcal/mol dengan konstanta inhibisi 7,88 nM, yang relatif mendekati nilai afinitas dari ligan alami. Tamoxifen dan doxorubicin memiliki nilai energi ikatan masing-masing -9,20 kcal/mol dan -9,86 kcal/mol dengan konstanta inhibisi 179,91 nM dan 58,81 nM, menunjukkan afinitas yang lebih rendah dibandingkan imatinib namun tetap lebih baik dibandingkan beberapa ligan uji.

Ligan uji yang dipilih untuk analisis lebih lanjut adalah S02, S05, dan S08. Ligan S02 menunjukkan energi ikatan sebesar -9,43 kcal/mol dengan konstanta inhibisi 123,19 nM, sedangkan S05 memiliki energi ikatan -9,09 kcal/mol dengan konstanta inhibisi 218,10 nM. Sementara itu, S08 mencatat energi ikatan -9,33 kcal/mol dan konstanta inhibisi 143,83 nM. Meskipun nilai afinitas ketiga ligan uji tersebut lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami dan obat imatinib, nilainya masih cukup kompetitif jika dibandingkan dengan tamoxifen dan doxorubicin, menunjukkan potensi sebagai kandidat inhibitor pada enzim BTK.

Dari hasil analisis ini, dapat disimpulkan bahwa ligan uji S02 memiliki afinitas paling tinggi di antara ligan uji lainnya, diikuti oleh S08 dan S05. Afinitas ini ditunjukkan melalui nilai energi ikatan yang lebih rendah serta konstanta inhibisi yang lebih kecil, meskipun masih lebih tinggi dibandingkan imatinib. Hal ini menunjukkan bahwa S02, S05, dan S08 berpotensi sebagai inhibitor BTK, namun perlu dilakukan optimasi lebih lanjut untuk mencapai efikasi yang setara atau lebih baik dibandingkan obat pembanding seperti imatinib. Dengan menunjukkan nilai energi pengikatan yang negative, artinya ligan dapat berinteraksi dengan target menggunakan energi seminimal mungkin untuk berinteraksi, nilai energi bebas ikatan yang rendah menunjukkan kompleks ligan dengan target stabil.





Gambar 3. Visualisasi *Molecular Docking* ligand-protein Tyrosine-protein kinase BTK (a.) Native Ligand (b.) S02 (c.) S05 (d.) S08 (e.) Imatinib (f.)

Visualisasi dilakukan menggunakan software DSV dan VMD untuk melihat interaksi antara ligand dengan target dengan melihat kesesuaian konformasi. Kesesuaian konformasi ligand uji dibandingkan dengan ligan asli untuk mengkonfirmasi mengikat nilai energi bebas karena ligand aktif harus mengikat residu asam amino tertentu pada situs pengikatan untuk menghasilkan penghambatan atau induksi kegiatan. Hasil interaksi ligand uji dengan Tyrosine-protein kinase BTK memiliki interaksi dengan residu asam amino penting yaitu Cys481, Asn484, Thr474, Met477 & Lys430 pada (Gambar 3 dan Tabel 2), yang membentuk interaksi hidrogen, Interaksi hidrogen merupakan interaksi antara atom hidrogen dengan atom F,O dan N. Interaksi hidrogen lebih kuat dan lebih spesifik dibandingkan dengan interaksi hidrofobik dikarenakan dapat mempengaruhi sifat fisikokimia senyawa, seperti titik didih, kelarutan, titik lebur dan keasaman yang dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologi senyawa (Dewi & Ginarsih, 2021).

Hasil interaksi molekul ligan uji dan obat pembanding pada enzim Tyrosine-protein kinase BTK (PDB ID 6X3N) melalui penambatan menggunakan AutoDock 1.5.7 dianalisis berdasarkan jumlah ikatan hidrogen (HB) dan interaksi hidrofobik (HI). Pada ligan alami (native ligand), ditemukan 8 ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu penting seperti Thr474, Glu475, Met477, Cys481, Asn484, dan Asp539. Selain itu, terdapat 12 interaksi hidrofobik yang melibatkan residu Val416, Met449, Leu408, Ala428, Leu528, dan Lys430. Hal ini menunjukkan bahwa ligan alami memiliki afinitas yang kuat terhadap situs aktif enzim BTK melalui interaksi yang melibatkan residu penting.

Pada ligan uji S02, ditemukan adanya 4 ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu Lys430, Met477, dan Glu445. Jumlah interaksi hidrofobik yang teridentifikasi adalah 6, dengan melibatkan residu Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, dan Leu542. Meskipun jumlah ikatan hidrogen yang lebih sedikit dibandingkan dengan ligan alami, interaksi hidrofobik yang cukup signifikan memberikan kontribusi pada stabilitas kompleks ligan-reseptor. Interaksi ini menunjukkan bahwa S02 mampu mengikat situs aktif BTK, namun dengan afinitas yang lebih rendah dibandingkan ligan alami. Ligan S05 menunjukkan performa yang lebih baik dibandingkan ligan uji lainnya, dengan 7 ikatan hidrogen yang terbentuk melalui interaksi dengan residu Thr474, Lys430, Gly480, Tyr476, Glu445, dan Phe540. Selain itu, terdapat 12 interaksi hidrofobik yang teridentifikasi, serupa dengan ligan alami, yang melibatkan residu seperti Phe540, Val416, Met449, Ala428, Leu528, Leu408, Leu542, dan Val448. Hal ini mengindikasikan bahwa S05 memiliki profil interaksi yang mirip dengan ligan alami, sehingga menunjukkan potensi sebagai inhibitor kompetitif yang efektif pada enzim BTK.

Obat pembanding seperti imatinib menunjukkan adanya 5 ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu Thr474, Phe540, Glu445, dan Gln421, serta 6 interaksi hidrofobik yang melibatkan Val416, Leu528, Ala428, Leu408, dan Lys430. Interaksi yang teridentifikasi menunjukkan bahwa imatinib memiliki afinitas yang cukup baik, meskipun jumlah ikatan hidrogen lebih sedikit dibandingkan ligan alami. Berdasarkan analisis interaksi ini, terlihat bahwa S05 memiliki potensi inhibisi yang kompetitif, sedangkan S02 dan S08 menunjukkan stabilitas interaksi yang lebih rendah dibandingkan imatinib. Hal ini memberikan indikasi bahwa S05 memiliki peluang terbesar sebagai inhibitor potensial untuk enzim BTK dibandingkan ligan uji lainnya. Selain itu interaksi hidrofobik menjadi salah satu hal penting pada proses penggabungan wilayah non polar molekul ligan dengan daerah non polar target. Pembentukan ikatan hidrofobik dapat meminimalisir interaksi residu non polar dengan air (Arwansyah et al., 2014).

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil penambatan molekul ligan uji pada enzim Tyrosine-protein kinase BTK, native ligand memiliki nilai energi ikatan (ΔG) paling rendah yaitu -12,04 kcal/mol dengan konstanta inhibisi (KI) sebesar 1,49 nM. Sebagai obat pembanding, imatinib menunjukkan ΔG -11,05 kcal/mol dengan KI 7,88 nM. Ligan uji S02, S05, dan S08. Ligan S02 menunjukkan ΔG sebesar -9,43 kcal/mol dengan KI 123,19 nM, sedangkan S05 memiliki ΔG -9,09 kcal/mol dengan KI 218,10 nM. Sementara itu, S08 mencatat ΔG -9,33 kcal/mol dan KI 143,83 nM. Meskipun nilai afinitas ketiga ligan uji tersebut lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami tetapi memiliki potensi dalam mengikat enzim target.

Berdasarkan analisis interaksi ini, terlihat bahwa S05 memiliki potensi inhibisi yang kompetitif, sedangkan S02 dan S08 menunjukkan stabilitas interaksi yang lebih rendah dibandingkan imatinib. Hal ini memberikan indikasi bahwa S05 memiliki peluang terbesar sebagai inhibitor potensial untuk enzim BTK dibandingkan ligan uji lainnya. Berdasarkan hasil penambatan molekul, disarankan untuk mengoptimalkan struktur kimia ligan S05 melalui simulasi dinamika molekuler, kemudian melanjutkan verifikasi in vitro dan in vivo guna memastikan efektivitas dan keamanan sebagai inhibitor BTK.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaroli, A., Panfoli, I., Bozzo, M., Ferrando, S., Candiani, S., & Ravera, S. (2024). The Bright Side of Curcumin: A Narrative Review of Its Therapeutic Potential in Cancer Management. *Cancers*, 16(14), 2580.
- Amrulloh, L., Harmastuti, N., Prasetyo, A., & Herowati, R. (2023). Analysis of molecular docking and dynamics simulation of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) compounds against the PLpro enzyme SARS-COV-2. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia Vol*, 10(3), 347–359.
- Arwansyah, Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. (2014). Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1(1), 11–19. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>
- Bursch, M., Mewes, J., Hansen, A., & Grimme, S. (2022). Best-practice DFT protocols for basic molecular computational chemistry. *Angewandte Chemie*, 134(42), e202205735.
- Chisti, M. M., & Leukemias, S. C. (2022). Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Medscape*.
- Dewi, N. L. P. L., & Ginarsih, N. M. A. (2021). Molecular Docking Ellagic Acid As An Anti-Photoaging Agent In Silico. *Acta Holist, Pharm*, 3(1), 22–30.
- Fallahi, F., Borran, S., Ashrafizadeh, M., Zarrabi, A., Pourhanifeh, M. H., Mahabady, M. K., Sahebkar,

- A., & Mirzaei, H. (2021). Curcumin and inflammatory bowel diseases: From in vitro studies to clinical trials. *Molecular Immunology*, 130, 20–30.
- Fedele, P. L., & Opat, S. (2024). Chronic Lymphocytic Leukemia: Time to Care for the Survivors. *Journal of Clinical Oncology*, 42(17), 2005–2011. <https://doi.org/10.1200/JCO.23.02738>
- Galitzia, A., Maccaferri, M., Mauro, F. R., Murru, R., & Marasca, R. (2024). Chronic lymphocytic leukemia: management of adverse events in the era of targeted agents. *Cancers*, 16(11), 1996.
- Gupta, N., Choudhary, S. K., Bhagat, N., Karthikeyan, M., & Chaturvedi, A. (2021). In silico prediction, molecular docking and dynamics studies of steroidal alkaloids of *holarrhena pubescens* wall. ex G. don to guanylyl cyclase C: Implications in designing of novel antidiarrheal therapeutic strategies. *Molecules*, 26(14), 4147.
- Hakiki, A., Andika, A., & Rahmawati, R. (2024). Studi Molecular Docking dan Prediksi ADMET Senyawa Turunan Kurkumin Sebagai Inhibitor Kasein Kinase 2- α . *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 5(2), 195–212.
- Kaur, K., Al-Khazaleh, A. K., Bhuyan, D. J., Li, F., & Li, C. G. (2024). A review of recent curcumin analogues and their antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer activities. *Antioxidants*, 13(9), 1092.
- Kowalchick, J. E., Leiting, B., Pryor, K. A. D., Marsilio, F., Wu, J. K., He, H., Lyons, K. A., Eiermann, G. J., Petrov, A., Scapin, G., Patel, R. A., Thornberry, N. A., Weber, A. E., & Kim, D. (2007). Design, synthesis, and biological evaluation of triazolopiperazine-based β -amino amides as potent, orally active dipeptidyl peptidase IV (DPP-4) inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17(21), 5934–5939. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2007.07.100>
- Kramer, C. A. C., da Silva, A. R. L., de Lima-Neto, P., & de Carvalho, L. S. (2022). Computational approach in lignin structural models: Influence of non-covalent intramolecular interactions on β O4 bond properties. *Journal of Molecular Structure*, 1251, 131938.
- Kuzminska, J., Szyk, P., Mlynarczyk, D. T., Bakun, P., Muszalska-kolos, I., Dettlaff, K., Sobczak, A., Goslinski, T., & Jelinska, A. (2024). *Curcumin Derivatives in Medicinal Chemistry: Potential Applications in Cancer Treatment*.
- Liu, J., Guiadeen, D., Krikorian, A., Gao, X., Wang, J., Babu Boga, S., Alhassan, A. B., Yu, W., Selyutin, O., Yu, Y., Anand, R., Xu, J., Kelly, J., Duffy, J. L., Liu, S., Yang, C., Wu, H., Cai, J., Bennett, C., ... Kozlowski, J. A. (2020). Potent, non-covalent reversible BTK inhibitors with 8-amino-imidazo[1,5-a]pyrazine core featuring 3-position bicyclic ring substitutes. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(17), 127390. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127390>
- Paradkar, P. H., Juvekar, A. S., Barkume, M. S., Amonkar, A. J., Joshi, J. V, Soman, G., & Vaidya, A. D. B. (2021). In vitro and in vivo evaluation of a standardized *Curcuma longa* Linn formulation in cervical cancer. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 12(4), 616–622. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2021.06.002>
- Rahadiyanto Y, K., Liana, P., & Indriani, B. (2014). Pola Gambaran Darah Tepi pada Penderita Leukemia di Laboratorium Klinik RSUP dr. Moh. Hoesin Palembang. *Majalah Kedokteran Sriwijaya*, 46(4), 259–265.
- Roig-Zamboni, V., Cobucci-Ponzano, B., Iacono, R., Ferrara, M. C., Germany, S., Bourne, Y., Parenti, G., Moracci, M., & Sulzenbacher, G. (2017). Structure of human lysosomal acid α -glucosidase-A guide for the treatment of Pompe disease. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01263-3>
- Vitale, C., Boccellato, E., Comba, L., Jones, R., Perutelli, F., Griggio, V., & Coscia, M. (2021). Impact of immune parameters and immune dysfunctions on the prognosis of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancers*, 13(15), 1–22. <https://doi.org/10.3390/cancers13153856>
- Zheng, X., & Polli, J. (2010). Identification of Inhibitor Concentrations to Efficiently Screen and Measure Inhibition K_i Values against Solute Carrier Transporters. *NIH Public Acces*, 41(1), 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2010.05.013>.Identification