

# Uji *In-Silico* Aktivitas Melanogenesis Senyawa Turunan *Betacyanin* Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) sebagai Inhibitor Enzim Tirosinase

Dhea Nadya Mustika & Taufik M.Fakih & Hilda Aprilia

*Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia*

*email: nm.dhea03@gmail.com, taufikmuhammadf@gmail.com, hilda.apriliah@gmail.com*

**ABSTRACT:** Increased melanogenesis can lead to darkening of the skin color. Melanogenesis requires the enzyme tyrosinase. One of the phenolic compounds that have the potential as skin lightening agents is betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein compounds. Antioxidant activity and betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein compound's plays important role as antimelanogenesis. The purpose of this study was to determine the activity of betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein compounds from dragon fruit in melanogenesis activity using molecular docking method. Molecular docking was carried out through the optimization stages of the compound structure using GaussView version 5.0.8 and Gaussian version 09 software, preparation of tyrosinase enzyme using BIOVIA software, validation of the docking method using MGL Tools software version 1.5.6 equipped with Autodock Tools version 4.2, docking and preparation toxicity using Toxtree software. Betacyanin compound obtained better bond energy results that betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein compounds with a value of -1.01 kcal/mol. Toxicity testing of betacyanin compounds, has shown potential moderate toxicity, but does not cause carcinogenicity and mutagenicity. This shows that betacyanin compound have a potential activity as a tyrosinase inhibitor.

**Keywords :** betacyanin, tyrosinase enzyme, melanogenesis

**ABSTRAK:** Peningkatan melanogenesis dapat menyebabkan penggelapan warna kulit. Proses melanogenesis membutuhkan enzyme tyrosinase. Salah satu senyawa fenolik yang berpotensi sebagai agen pencerah kulit yaitu senyawa betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein. Aktivitas antioksidan dan senyawa betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein berperan penting dalam antimelanogenesis. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas senyawa betacyanin, betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein di dalam buah naga merah terhadap proses melanogenesis menggunakan metode molecular docking secara *in silico*. Molecular docking dilakukan melalui tahapan optimasi struktur senyawa menggunakan software GaussView versi 5.0.8 dan Gaussian versi 09, preparasi protein target enzyme tyrosinase menggunakan software BIOVIA, validasi metode docking menggunakan software MGL Tools versi 1.5.6 dilengkapi dengan Autodock Tools versi 4.2, docking, preparasi toksisitas menggunakan software Toxtree. Senyawa betacyanin memperoleh hasil energi ikatan yang lebih baik dibandingkan senyawa lain (betalain, amaranthin, gomphrenin, bouguvillein) dengan nilai sebesar -1,01 kcal/mol. Pada prediksi toksisitas senyawa betacyanin memiliki potensi toksisitas yang sedang, tidak menyebabkan karsinogenitas dan mutagenitas. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa betacyanin memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase.

**Kata Kunci :** betacyanin, enzyme tyrosinase, melanogenesis

## 1 PENDAHULUAN

Umumnya wanita – wanita di Asia lebih menyukai kulit yang berwarna putih dibandingkan dengan kulit berwarna coklat. Hal ini mendasari terus berkembangnya produk pencerah kulit dalam pasar perawatan kulit. (Sanjeeva *et al.*, 2016)

Proses biosintesis melanin di dalam melanosom membutuhkan enzim melanogenesis salah satunya enzyme tyrosinase. Fungsi dari enzim ini adalah sebagai DHICA oksidase. Enzim ini mengkatalisis oksidasi 5,6-*dihydroxyndole-2-carboxylic acid* (DHICA) menjadi eumelanin serta berperan dalam peningkatan rasio eumelanin

(Videira *et al.*, 2013; Anwar dkk.,2016).

Salah satu tindakan yang dapat dilakukan untuk penanggulangan hiperpigmentasi pada kulit yaitu dengan menggunakan pencerah kulit. Dalam penelitian ini dilakukan usaha untuk menemukan senyawa baru yang dapat digunakan sebagai bahan pencerah kulit yang aman dalam penggunaannya seperti pengembangan pencerah kulit dari bahan alam.

Buah naga merah merupakan buah yang masuk kedalam kelompok tanaman kaktus. Buah naga ini berasal dari negara Mexico, Amerika Tengah dan Amerika Selatan. Buah naga merah

ini sudah banyak dibudidayakan di negara Asia, salah satunya di Indonesia (Winarsih., 2007).

*Betacyanin* telah diketahui memiliki banyak manfaat dan bernilai taksonomi yang signifikan dan banyak teknik yang telah digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa ini (Stinzing, et al. 2004). Buah naga merah atau merah violet merupakan sumber pigmen *betacyanin*.

Studi *in silico* adalah uji yang dilakukan melalui komputer (Hardjono., 2016). Komputasi adalah cabang ilmu kimia yang menggunakan hasil kimia teori yang dimasukkan ke dalam program komputer.

*Molecular docking* adalah upaya menyerasikan antara ligan yang termasuk molekul kecil ke dalam reseptor yang termasuk molekul protein yang besar. *Molecular docking* ini adalah proses dari komputasi untuk memprediksi konformasi protein atau molekul asam nukleat dan ligan (Suharna., 2012).

Berdasarkan latar belakang diatas dapat ditarik rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu, apakah kandungan *betacyanin* buah naga merah memiliki aktivitas melanogenesis secara *in silico*. Sehingga berdasarkan rumusan masalah, tujuan dari penelitian ini untuk menguji aktivitas *betacyanin* pada buah naga merah sebagai melanogenesis secara *in silico*. Dan diharapkan dari penelitian ini dapat memberikan informasi mengenai khasiat buah naga merah sebagai aktivitas melanogenesis.

## 2 METODOLOGI

### Optimasi Geometri

Struktur *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein* dioptimasi menggunakan GaussView dan Gaussian. Optimasi ini untuk menggunakan metode DFT basis set 3-21G.

### Preparasi Struktur 3D Protein Enzyme Tyrosinase

Preparasi protein target dilakukan menggunakan *software BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019* dengan memisahkan struktur 3D protein *enzyme tyrosinase* dengan ligan alaminya. Dilakukan juga penghilangan molekul air pada protein target.

### Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan cara *men-docking*-kan ligan alami pada protein target

inhibitor *enzyme tyrosinase* menggunakan *software Autodock Tools 4.2*. Parameter yang dilihat adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Distances*) dikatakan valid jika nilai RMSD  $< 2\text{\AA}$ .

### Simulasi Docking Senyawa Uji pada Protein Inhibitor Enzyme Tyrosinase

Senyawa *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein* yang telah teroptimasi di-*docking*-kan dengan protein target inhibitor *enzyme tyrosinase* yang sudah dipreparasi dengan tahapan *docking* yang sesuai dengan validasi metode *docking*.

### Analisis Hasil Docking

Hasil docking dianalisis menggunakan *software BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019*. Analisis data dari hasil docking ini pada sisi binding site yang meliputi nilai paling baik dengan reseptor inhibitor *enzyme tyrosinase* dan interaksi inhibitor *enzyme tyrosinase* dengan senyawa *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein*.

### Prediksi Toksisitas Senyawa Uji

Senyawa *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein* hasil optimasi dilakukan uji toksisitas menggunakan *software Toxtree* versi 2.6.0 dengan parameter prediksi *cramer rules*, *kroes TCC decision tree* dan *begigni/bossa rulerbase*.

## 3 PEMBAHASAN DAN DISKUSI

### Penentuan Parameter Fisiko Kimia

Penentuan parameter fisiko kimia untuk melihat nilai koefisien partisi (C log P), nilai refraksi molar (CMR) dan nilai bobot molekul (BM).

### Koefisien Partisi (C Log P)

Hasil C log P dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Nilai C Log P

Nama Senyawa	Nilai Log P
Betacyanin	4,5782
Betalain	4,5782
Amaranthin	6,5840
Gomphrenin	3,3736
Bougenvillein	6,1052

Berdasarkan data yang diperoleh yang menunjukkan nilai paling baik adalah senyawa *Gomphrenin* dengan nilai 3,3736. Dimana

menurut acuan *lipinsky rule of five* nilai yang baik itu dibawah 5.

### Refraksi Molar (CMR)

Hasil nilai CMR dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Nilai CMR

Nama Senyawa	Nilai CMR
Betacyanin	12,8041
Betalain	12,8041
Amaranthin	16,2107
Gomphrenin	16,2637
Bougenvillein	16,175

Berdasarkan hasil data yang diperoleh menunjukkan bahwa dua dari ke-lima senyawa yang diuji memiliki nilai CMR yang lebih kecil dibandingkan ke-tiga senyawa lainnya. Sehingga senyawa *Betacyanin* dan *Betalain* termasuk senyawa yang memiliki sifat hidrofobik yang dimana nantinya akan mempermudah senyawa untuk berikatan dengan reseptor.

### Bobot Molekul

Hasil nilai bobot molekul dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Nilai Bobot Molekul

Nama Senyawa	Bobot Molekul
Betacyanin	249,38
Betalain	249,38
Amaranthin	345,6
Gomphrenin	325,7
Bougenvillein	328,53

Berdasarkan hasil data yang diperoleh, ke-lima senyawa yang diuji menunjukkan hasil yang baik. Tetapi dari ke-lima senyawa tersebut yang paling baik adalah senyawa *Betacyanin* dan *Betalain* karena dari hasil yang didapat senyawa tersebut memiliki nilai bobot molekul yang paling rendah dibandingkan senyawa lainnya.

### Optimasi Geometri

Struktur *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein* dioptimasi tujuannya untuk memperoleh struktur yang paling stabil.

Optimasi geometri dilakukan untuk meminimalisasi energi agar diperoleh struktur yang paling stabil ditandai dengan penurunan nilai energi total pada struktur senyawa. Hasil optimasi geometri dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Energi Total Senyawa Uji

Nama Senyawa	Energi Total (kkal/mol)
Betacyanin	-2006,42153
Betalain	-1994,77513
Amaranthin	-2741,36371
Gomphrenin	-2614,42776
Bougenvillein	-2613,80661

Berdasarkan data yang didapat menunjukkan bahwa senyawa *betalain* yang memiliki energi total terendah dilihat dari nilai terkecil yang menunjukkan bahwa senyawa *betalain* memiliki konformasi yang paling stabil dibandingkan dengan senyawa yang lainnya.

Hasil analisis homo lumo dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Nilai Homo Lumo

Nama Senyawa	Nilai Homo	Nilai Lumo	Nilai Setisih Homo-Lumo
Betacyanin	-0,18785	-0,10314	0,08471
Betalain	-0,28091	0,00398	0,27693
Amaranthin	-0,29992	-0,18584	0,11408
Gomphrenin	-0,00527	0,0053	0,00003
Bougenvillein	-0,17423	-0,1019	0,07233

Berdasarkan hasil selisih nilai homo-lumo bahwa menunjukkan senyawa *gomphrenin* yang lebih baik karena memiliki nilai selisih yang lebih kecil dibandingkan dengan senyawa lainnya.

### Preparasi Protein Inhibitor Enzyme Tyrosinase

Preparasi protein inhibitor *enzyme tyrosinase* dilakukan menggunakan *software BIOVIA Discovery Studi Visualizer 2019* dengan cara memisahkan protein dengan ligan. Tujuan dari preparasi ini yaitu untuk memperoleh struktur protein target tanpa ligan alami sehingga memiliki ruang untuk proses *docking*.

Proses preparasi juga dilakukan penghilangan molekul air yang bertujuan untuk menyisakan asam amino pada protein target (Huey et al., 2012). Molekul air dihilangkan tujuannya untuk dapat memaksimalkan interaksi antara senyawa uji dengan protein (Kitchen et al., 2004)

## Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan untuk melihat nilai RMSD. RMSD adalah pengukuran dua pose dengan cara membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental terhadap struktur yang di *docking*.

Dari hasil penelitian mendapatkan nilai RMSD  $<2\text{\AA}$  yang artinya bahwa metode docking ini memenuhi persyaratan parameter validasi *docking*.

## Docking Senyawa Uji pada Protein Enzyme Tyrosinase

Senyawa *betacyanin*, *betalain*, *amaranthin*, *gomphrenin*, *bougenvillein* yang sudah dioptimasi dilakukan *docking* dengan protein *enzyme tyrosinase* yang sudah dipreparasi. Koordinat senyawa uji pada sisi aktif protein disamakan dengan koordinat ligan alami pada protein target. Karena koordinat tersebut sudah tervalidasi dan memenuhi persyaratan parameter validasi RMSD.

*Docking* antara senyawa uji dengan protein target menghasilkan nilai yang dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6.** Hasil Docking Senyawa Uji dengan Protein Target

Nama Senyawa	Nilai Binding Energi (kcal/mol)	Nilai Konstanta Inhibisi (MilliMolar)
Betacyanin	-1,01	181,44
Betalain	-1,81	47,46
Amaranthin	-0,61	357,52
Gomphrenin	-1,2	131,15
Bougenvillein	-2,0	33,92

Hasil *docking* senyawa uji dengan protein target menunjukkan bahwa yang memiliki energi ikatan baik yaitu *betacyanin*.

## Analisis Hasil Docking

Selanjutnya dilakukan analisis docking dari hasil simulasi docking. Analisis *docking* ini dilakukan menggunakan software *BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019*. Analisis ini untuk mengamati interaksi antara residu asam amino pada senyawa uji.

Hasil Residu Asam Amino Betacyanin dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Residu Asam Amino Betacyanin

Nama Residu	Jarak	Interaksi
ASP137	2,37013	Hidrogen
ALA188	2,31970	Hidrogen
ALA188	2,20897	Hidrogen
LYS243	2,20897	Hidrogen
LYS243	4,36444	Hidrofobik

Hasil Residu Asam Amino Betacyanin dapat dilihat pada Tabel 8.

**Tabel 8.** Residu Asam Amino Betalain

Nama Residu	Jarak	Interaksi
ASP137	2,37013	Hidrogen
ALA188	2,31970	Hidrogen
ALA188	2,20897	Hidrogen
LYS243	2,20897	Hidrogen
LYS243	4,36444	Hidrofobik

Hasil Residu Asam Amino Betacyanin dapat dilihat pada Tabel 9.

**Tabel 9.** Residu Asam Amino Amaranthin

Nama Residu	Jarak	Interaksi
ALA188	2,92421	Hidrogen
LYS243	2,07454	Hidrogen

Hasil Residu Asam Amino Betacyanin dapat dilihat pada Tabel 10.

**Tabel 10.** Residu Asam Amino Gomphrenin

Nama Residu	Jarak	Interaksi
ASP137	2,70833	Hidrogen
ALA188	2,69621	Hidrogen
LYS243	2,18033	Hidrogen

Hasil Residu Asam Amino Betacyanin dapat dilihat pada Tabel 11.

**Tabel 11.** Residu Asam Amino Bougenvillein

Nama Residu	Jarak	Interaksi
ASP137	2,66833	Hidrogen
ALA188	2,5062	Hidrogen
LYS243	2,14033	Hidrogen
LYS243	4,41644	Hidrofobik

## Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan *software Toxtree* versi 3.1.0 dengan melihat beberapa parameter yaitu *Cramer rules* yang untuk melihat tingkat toksisitas, *benigni-Bossa rulebase* untuk melihat senyawa uji dapat menyebabkan karsinogenitas dan *Kroes TCC* untuk memperkirakan ambang batas paparan senyawa obat pada manusia.

Hasil prediksi toksisitas dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 12. Prediksi Toksisitas**

Senyawa	Cramer Rules	Koes TCC Decision Tree	Benigni/ Bossa Rulebase
Betacyanin	High (Class II)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity
Betainin	High (Class II)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity
Amaranthin	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity
Gomphrenin	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity
Bougenvillain	High (Class III)	Substance would not be expected to be a safety concern	Negative for genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity

## 4 KESIMPULAN

Senyawa turunan *betacyanin* khususnya senyawa *betacyanin* memiliki afinitas yang kuat terhadap *enzyme tyrosinase* yang dapat dilihat dari nilai energi ikatan. Senyawa turunan *betacyanin* memiliki aktivitas sebagai agen pencerah kulit secara *in silico*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anwar, A. I., Zainuddin, F., Miranti, A. (2016). *Melesma*. Makassar.
- Chang T. S. (2009). *An updated review of tyrosinase inhibitors*. Int J Mol Sci.
- Hardjono, Suko. (2016). *Pemodelan Molekul, Sintesis Dan Penentuan Aktivitas Antineoplastik 1-(4-Trifluoromethylbenzoyloxy) Molecular Modeling, Synthesis and Antineoplastic Activity of 1-(4-Tryfluoromethylbenzoyloxy)*. 14(1):62-65
- Johan, A. K. (2016). *Uji In Silico Senyawa Genistein sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Beta*. Skripsi. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma
- Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., Bajorath, J. (2004). *Docking and Scoring in Virtual*

- Screening in Drug Discovery, Methods and Applications*. Nat. Rev Discov, 3: 935-949
- Natalia F. E., Mamoto, S. J. (2009). *Peran Melanokortin pada melanosit*.
- Sanjeeva KKA, Kim EA, Son KT, Jeon YJ. (2016). *Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: a review*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.100–105.
- Stinzing F.C., J. Conrad., I. Klaiber., U. Beifuss., R. Carle. (2004). *Structural Investigation on Betacyanin Pigment by LC NMR and 2D Spectroscopy*. Photochem, 65:415-422.
- Suharna. (2012). *Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase*. Skripsi. Makassar: UIN Alauddin
- Videira, I. F. S., Moura, D. F. L., Magina, S. (2013). *Mechanism Regulating Melanogenesis*. An Bras Dermatol, 88:76
- Winarsih, H. (2017). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius. Hal 13:79-80.
- Nuraeni Anisa Dwi, Lukmayani Yani, Kodir Reza Abdul. (2021). *Uji Aktivitas Antibakteri Propionibacterium acnes Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Karuk (Piper sarmetosum Roxb. Ex. Hunter) serta Analisis KLT Bioautografi*. Jurnal Riset Farmasi, 1(1), 9-15.