

**Prediction Potential Chlorogenic Acid As Inhibitor Ace (In Silico Study)****Yohanes Bare<sup>1\*</sup>, Apriani HERNI ROPHI<sup>2</sup>, Sri Sulistya Ningsih Natalia Daeng Tiring<sup>1</sup>,  
Yoga Tribakti Rachmad<sup>3</sup>, Fitra Arya Dwi Nugraha<sup>4</sup>, Dewi Ratih Tirto Sari<sup>5</sup>**Universitas Nusa Nipa, Maumere<sup>1\*</sup>  
Universitas Cendrawasih, Jayapura<sup>2</sup>  
Sekolah Progresif Bumi Sholawat, Sidoarjo<sup>3</sup>  
Universitas Negeri Padang, Padang<sup>4</sup>  
Universitas Brawijaya, Malang<sup>5</sup>

Email: bareyohanes@gmail.com

**Abstract.** One of the derivatives of flavonoid explored is chlorogenic acid. Chlorogenic acid has antioxidant and anti-inflammatory activity. Hypertension has support for Angiotensin converting enzyme (ACE) which has a role in regulating the renin-angiotensin system. Hypertension therapy is carried out in inhibit ACE pathway. This study aims to analyse and assess the potential of chlorogenic acid as an anti-hypertensive material by inhibiting the work of ACE. We used in silico approach to make our model. Chlorogenic acid ligand was obtained from PubChem while ACE was obtained from RCSB. Interaction of ligand and protein using HEX 8.0.0. Analysis and visualization of the results of interactions using Discovery Study Version 4.1. The results showed an interaction between ligand and protein, namely interactions that occur between chlorogenic acid and sixteen amino acid residues. This interaction produces energy of -292.5cal/mol. This interaction approved the ACE block in the AT-I transformation towards AT-II. Chlorogenic acid has potential as an anti-hypertension material.

Keyword: ACE; Anti Hypertension; Chlorogenic Acid; In Silico



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2017 by author.

**1. PENDAHULUAN**

Eksplorasi senyawa bioaktif dari bahan pangan yang dikenal masyarakat secara luas menjadi salah satu upaya dalam optimalisasi peran sumber daya hayati sebagai salah satu penunjang aspek kesehatan metabolisme (Chiou et al., 2017). Senyawa yang berperan penting sebagai bioaktif adalah senyawa fitokimia yang memiliki berbagai variasi seperti karotein, tanin, saponin, flavonoid, dan isoflavon (Mentari et al., 2018). Beberapa bahan turunan dari flavonoid yang terkandung dalam kopi yaitu asam kafeat dan asam klorogenat. Asam klorogenat merupakan salah satu polifenol paling melimpah dalam makanan manusia dan telah terbukti memberikan aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang kuat.

Hasil penelitian Chiou, Sung, Huang, & Lin, (2017) Asam klorogenat telah terbukti bertindak sebagai senyawa *scavenger* radikal superoksida, radikal hidroksil, dan peroksida nitrit pada penelitian secara *in vitro*. Pada kondisi menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap kerusakan mukosa lambung yang diinduksi indometasin pada kondisi perlakuan *in vivo* (Yun et al., 2012).

Tingginya angka penderita hipertensi menempatkannya menjadi kasus ketiga untuk jumlah kematian tertinggi di Indonesia (Tarigan et al., 2018). Hipertensi memiliki korelasi terhadap Angiotensin converting enzyme (ACE). ACE memiliki peran vital dalam regulasi sistem renin-angiotensin. ACE berperan dalam proses transformasi angiotensin-I untuk menghasilkan angiotensin-II dan juga menghidrolisis dan menonaktifkan protein vasodilator, bradykinin (Ouwerkerk et al., 2017). Oboh et al., (2014) menemukan ekstrak fenolik dari daun rami dan daun ampelas menunjukkan inhibitor ACE secara *in vitro* serta pada tikus yang diberi diet kolesterol tinggi.

Penelitian untuk mengeksplorasi bahan pangan sebagai bahan terapi nutrisi memiliki keunggulan resiko efek samping yang lebih rendah. Senyawa pangan terapeutik yang memiliki peran sebagai bioaktif harus memenuhi 2 kriteria: (a) selain dari nilai gizi yang ditentukan dari produk makanan, zat aktif yang diekstraksi di dalamnya harus bagaimana efek biologis yang terukur setelah berlebihan konsumsi; (b) efek biologis harus bermanfaat bagi kesehatan (Actis-Goretta et al., 2006). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk eksplorasi bioaktif tersebut adalah metode *in silico*. *In silico* merupakan metode yang berbasis pada komputasi. Metode ini digunakan untuk menganalisis suatu senyawa kimia dan interaksi yang dihasilkan. Penggunaan lain dari metode *in silico* adalah untuk sebagai informasi awal yang diduga memiliki sifat farmakologis serta meningkatkan efisiensi optimasi aktivitas senyawa. Tahapan analisis *in silico* dimulai memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan baru dalam pengobatan dan terapi (Hardjono, 2013). Penggunaan metode *in silico* sudah menjadi salah satu teknik dalam meramal fungsi farmakologi suatu bahan kimia, Bare et al., (2019) menggunakan metode *in silico* dalam memprediksi potensi asam kafeat sebagai inhibitor COX-2. Docking dilakukan dengan menginteraksikan molekul kandidat senyawa obat dengan reseptor yang di pilih. Ligan merupakan molekul kecil sedangkan reseptor yang merupakan molekul protein yang besar, dengan memperhatikan sifat keduanya (Jensen, 2007). Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi potensi sebagai bahan anti hipertensi dengan menghambat kerja ACE.

## **2. BAHAN DAN METODE**

### **2.1 Persiapan Ligan dan Protein**

Struktur 3D ACE (ID: 3bkk) diperoleh dari pusat data Protein Data Bank (PDB), struktur kimiawi asam klorogenat (CID: 1794427) diperoleh dari pusat data PubChem.com. Asam klorogenat dihidrolisis dan direduksi muatan energi, tahap ini dilaksanakan menggunakan

program *screening* Virtual PyRx Open Babel. Senyawa asam klorogenat dalam format SDF dikoneversi ke format pdb menggunakan perangkat lunak PyRx.

## 2.2 Interaksi Molekul

Ligan asam klorogenat dan ACE pada format pdb dimodelkan dalam interaksi dengan menggunakan perangkat HEX versi 8.0.0. Diawali dengan menginput ligan dan protein tersebut kedalam perangkat lunak HEX, kemudian dianalisis. Hasil analisis berupa file pdb asam klorogenat-ACE. Hasil Docking kemudian divisualisasikan dan pembacaan data ikatan antar molekul menggunakan program Discovery Studio Versi 4.1, yaitu data residu asam amino, energi ikatan dan jenis ikatan yang terbentuk antara ligan- protein.

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

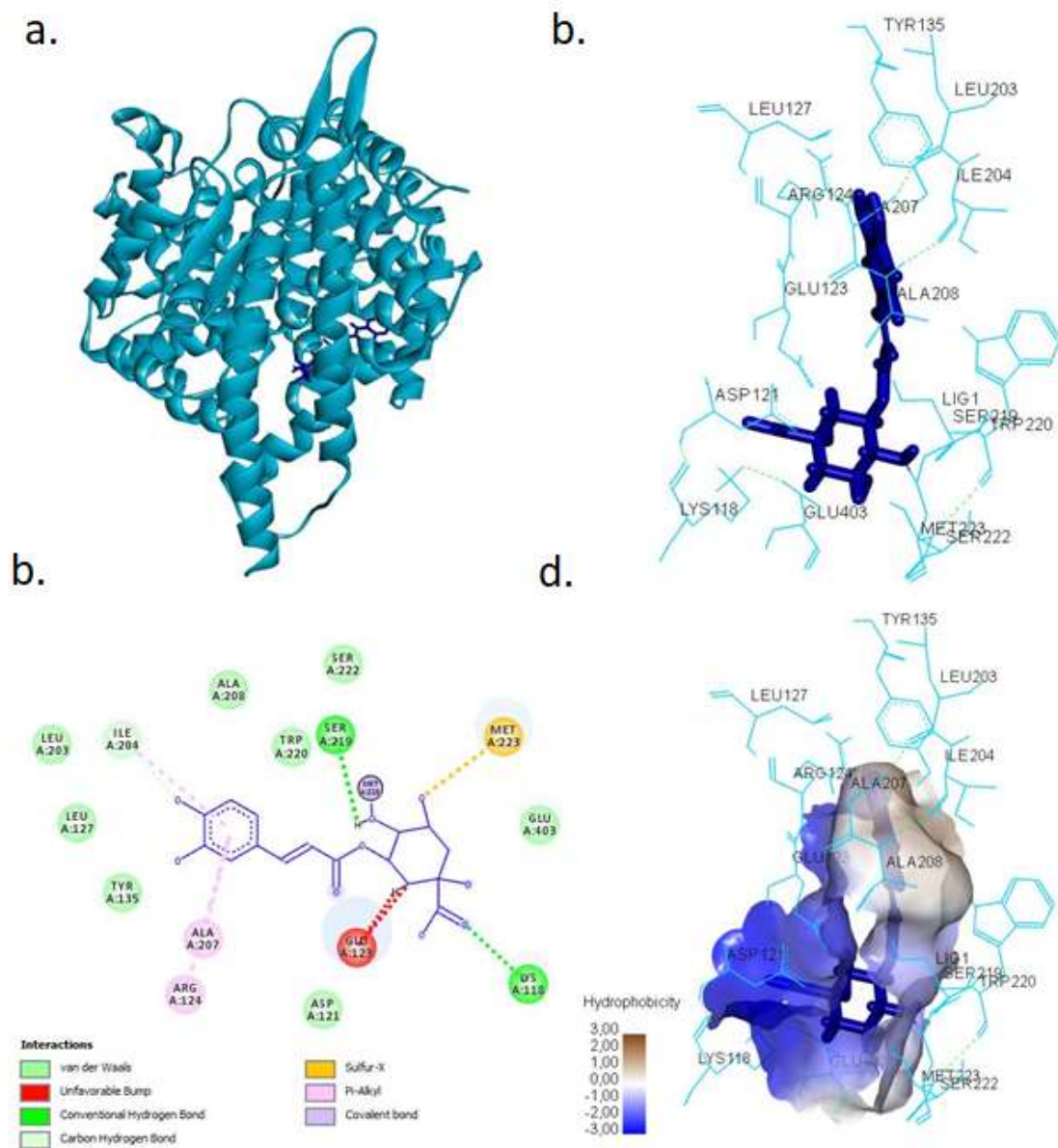
Visualisasi interaksi dari ACE dan asam klorogenat ditemukan terdapat 4 ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu pada residu asam amino LYS118, ILE204, dan SER219 (Gambar 1 dan Tabel 1). Interaksi dengan karakter hidrophobik kompleks pada residu asam amino ARG124, ALA207, dan ILE204

**Tabel 1.** Interaksi antara Asam Klorogenat dan ACE

Complexes	Energy (cal/mol)	Name	Distance	Category	Types	from chemistry	to chemistry	
Chlorogenic acid-ACE	-292,5	A:LYS118:HZ		Hydrogen	Conventional			
		1 - :LIG1:O	2,5525	Bond	Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	
		:LIG1:H	-		Hydrogen	Conventional		
		A:SER219:O	2,51142	Bond	Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	
		A:ILE204:CA	-		Hydrogen	Carbon		
		:LIG1:O	3,30628	Bond	Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	
		A:MET223:SD						
		- :LIG1:O	2,83098	Other	Sulfur-X	Sulfur	O,N,S	
		:LIG1	-					
		A:ARG124	5,23489	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	
		:LIG1	-					
		A:ILE204	4,62279	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	
		:LIG1	-					
		A:ALA207	4,43727	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	
		A:GLU123:OE				Unfavorable		
1 - :LIG1:C	2,24451	Unfavorable	Bump	Steric	Steric			
A:GLU123:OE				Unfavorable				
1 - :LIG1:H	1,35194	Unfavorable	Bump	Steric	Steric			

Enam belas residu asam amino berinteraksi dengan asam klorogenat yaitu LEU203, LEU127, TYR135, ALA207, ARG124, ASP121, GLU123, LYS118, GLU403, MET223 (terdapat pada 2 ikatan pada sisi yang berbeda pada asam klorogenat), SER219, TRP220, ALA208, ILE204, dan SER222 pada sisi ikatan lainnya. Interaksi lain menghasilkan residu asam amino MET223 (Gambar 1 b). Energi yang terbentuk dari ikatan antara asam klorogenat-ACE sebesar -292,5cal/mol. Menariknya pada interaksi ACE dan asam klorogenat terdapat tipe

ikatan lainnya yaitu tipe ikatan Sulfur-X yaitu ikatan yang dimulai dari kimia sulfur ke kimia O, N, dan S.



**Gambar 1.** Interaksi antara Asam Klorogenat dan ACE. a. Interaksi ligan dan Protein, b. Interaksi struktur 3D, c. Interaksi struktur 2D, d. Kompleks hydrophobicity

#### 4. PEMBAHASAN

Penghambatan ACE adalah salah satu tahapan yang menjadi kunci dalam pengobatan tekanan darah tinggi (hipertensi). Beberapa dampak terapi inhibitor ACE tertentu juga telah dikaitkan dengan efek kesehatan positif di luar pengaturan tekanan darah (Bhullar et al., 2014). Konsumsi makanan yang mengandung senyawa flavonoid dapat memediasi penurunan tekanan darah, hal ini memungkinkan eksplorasi bahan pangan dengan kandungan flavonoid tinggi dapat bertindak sebagai inhibitor ACE (Actis-Goretta et al., 2006). Asam

klorogenat merupakan salah satu polifenol paling melimpah dalam makanan manusia dan telah terbukti memberikan aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang kuat. Kondisi inflamasi yang terjadi pada penderita DMT2 (hyperglukemia) menunjukkan profil protein signifikan berbeda dengan kondisi normal (Bare et al., 2018; Bare and Fatchiyah, 2018). CGA telah terbukti bertindak sebagai *scavenger* radikal superoksida, radikal hidroksil, dan peroksinitrit dalam cara yang tergantung pada konsentrasi in vitro dan juga menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap kerusakan mukosa lambung yang diinduksi indometasin (Iwaniak et al., 2014). Analisis aktivitas interaksi senyawa asam klorogenat dengan enzim ACE berdasarkan pemodelan interaksi menunjukkan pola interaksi penghambatan terhadap enzim ACE. Teknik in silico yang dilaksanakan telah berhasil menunjukkan indikasi dampak positif yang sistematis sebagai peran senyawa asam klorogenat dalam menghambat dampak aktivitas enzim ACE yang mengarah pada penghambatan mekanisme pembentukan hipertensi, bukti asam klorogenat sebagai penghambat ACE dengan adanya interaksi yang ditunjukkan oleh enam belas residu asam amino yang berinteraksi dengan asam klorogenat (tabel 1 dan gambar 1) dengan energy sebesar -292.5cal/mol.

Identifikasi ikatan molekul spesifik yang menentukan dampak aktivitas biologis dapat menjadi salah satu faktor yang dipertimbangkan dalam mencetuskan produk pangan fungsional yang mengindikasikan dampak positif (Darewicz et al., 2011). ACE inhibitor yang berasal dari bahan pangan yang banyak dipelajari dan memiliki dampak fungsi biologis yang berbeda (Erdmann et al., 2008). Tren ini juga dapat diamati dengan menganalisis metadata senyawa bio-aktif sebagai sumber terapi nutrisi dalam menekan dampak ACE pada metabolisme. Beberapa hasil penelitian saat ini telah memiliki beberapa tipe bioaktif yang berperan dalam mereduksi dampak patologis pada metabolisme, dalam penelitian ini, indikasi serupa dihasilkan dari hasil analisis pola interaksi molekuler yang ditunjukkan oleh asam klorogenat dalam penghambat ACE (Ouwerkerk et al., 2017).

Penghambatan yang dilakukan oleh asam klorogenat terhadap ACE memiliki potensi berperan vital dalam menghentikan regulasi sistem renin-angiotensin. Hal ini dibuktikan dengan adanya interaksi 16 residu asam amino yang berikatan dengan asam klorogenat. Interaksi ini memiliki keterkaitan terhadap menghambat ACE. Sehingga tidak terjadinya proses transformasi angiotensin-I untuk menghasilkan angiotensin-II dan juga menghentikan hidrolisis dan nonaktifkan protein vasodilator, bradykinin.

## 5. KESIMPULAN

Asam klorogenat memiliki potensi sebagai anti hipertensi. Hal ini dibuktikan dengan ditemukan enam belas residu asam amino yang berinteraksi dengan asam klorogenat. Interaksi ini memiliki potensi untuk menghambat regulasi ACE dalam transformasi AT-I

menuju AT-II. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengkaji senyawa kimia lain dalam kopi sebagai inhibitor ACE.

## DAFTAR PUSTAKA

- Actis-Goretta, L., Ottaviani, J.I., Fraga, C.G., 2006. Inhibition of Angiotensin Converting Enzyme Activity by Flavanol-Rich Foods. *J. Agric. Food Chem.* 54, 229–234. <https://doi.org/10.1021/jf052263o>
- Bare, Y., Fatchiyah, F., 2018. Profil Protein pada Organ Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus Tipe 2 (DMT2). *Biota* 11, 1–12. <https://doi.org/10.20414/jb.v11i1.95>
- Bare, Y., Krisnamurti, G.C., Elizabeth, A., Tribakti, Y., Sari, D.R.T., 2019. The potential role of caffeic acid in coffee as cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor: in silico study 4. <https://doi.org/10.33263/BRIAC95.424427>
- Bare, Y., Marhendra, A., Sasase, T., Fatchiyah, F., 2018. Differential Expression of IL-10 Gene and Protein in Target Tissues of *Rattus Norvegicus* Strain Wistar Model Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). *Acta Inform. Medica* 26, 87. <https://doi.org/10.5455/aim.2018.26.87-92>
- Bhullar, K.S., Lassalle-Claux, G., Touaibia, M., Rupasinghe, H.P.V., 2014. Antihypertensive effect of caffeic acid and its analogs through dual renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. *Eur. J. Pharmacol.* 730, 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.02.038>
- Chiou, S.-Y., Sung, J.-M., Huang, P.-W., Lin, S.-D., 2017. Antioxidant, Antidiabetic, and Antihypertensive Properties of *Echinacea purpurea* Flower Extract and Caffeic Acid Derivatives Using *In Vitro* Models. *J. Med. Food* 20, 171–179. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.3790>
- Darewicz, M., Dziuba, B., Minkiewicz, P., Dziuba, J., 2011. The Preventive Potential of Milk and Colostrum Proteins and Protein Fragments. *Food Rev. Int.* 27, 357–388. <https://doi.org/10.1080/87559129.2011.563396>
- Erdmann, K., Cheung, B.W.Y., Schröder, H., 2008. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *J. Nutr. Biochem.* 19, 643–654. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.010>
- Hardjono, S., 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-KLOROBENZOILOKSI) Urea dan 1-(4-KLOROBENZOILOKSI) Urea 6.
- Iwaniak, A., Minkiewicz, P., Darewicz, M., 2014. Food-Originating ACE Inhibitors, Including Antihypertensive Peptides, as Preventive Food Components in Blood Pressure Reduction: Food peptides reducing blood pressure... *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 13, 114–134. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12051>
- Jensen, F., 2007. Introduction to Computational Chemistry, 2nd Ed. Odense, Denmark.

- Mentari, C.I., Sudarmi, S., Harun, F.R., 2018. Pemeriksaan Flavonoid dan Polifenol serta Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak Kemasan (*Annona Muricata* Linn.) dengan Metode Dpph. *Talenta Conf. Ser. Trop. Med. TM* 1, 277–283. <https://doi.org/10.32734/tm.v1i1.76>
- Oboh, G., Akinyemi, A.J., Osanyinlusi, F.R., Ademiluyi, A.O., Boligon, A.A., Athayde, M.L., 2014. Phenolic compounds from sandpaper (*Ficus exasperata*) leaf inhibits angiotensin 1 converting enzyme in high cholesterol diet fed rats. *J. Ethnopharmacol.* 157, 119–125. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.09.029>
- Ouwerkerk, W., Voors, A.A., Anker, S.D., Cleland, J.G., Dickstein, K., Filippatos, G., van der Harst, P., Hillege, H.L., Lang, C.C., ter Maaten, J.M., Ng, L.L., Ponikowski, P., Samani, N.J., van Veldhuisen, D.J., Zannad, F., Metra, M., Zwinderman, A.H., 2017. Determinants and clinical outcome of up-titration of ACE-inhibitors and beta-blockers in patients with heart failure: a prospective European study. *Eur. Heart J.* 38, 1883–1890. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehx026>
- Tarigan, A.R., Lubis, Z., Syarifah, S., 2018. Pengaruh Pengetahuan, Sikap Dan Dukungan Keluarga Terhadap Diet Hipertensi Di Desa Hulu Kecamatan Pancur Batu Tahun 2016. *J. Kesehat.* 11, 9–17. <https://doi.org/10.24252/kesehatan.v11i1.5107>
- Yun, N., Kang, J.-W., Lee, S.-M., 2012. Protective effects of chlorogenic acid against ischemia/reperfusion injury in rat liver: molecular evidence of its antioxidant and anti-inflammatory properties. *J. Nutr. Biochem.* 23, 1249–1255. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.06.018>