

In silico study of columbin from *Tinospora crispa* L. as dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS) inhibitor

Yohanes Bare^{1*}, Dewi Ratih Tirto Sari², Marsiana Coo Mogi¹, Lydia Efliani Coriessa Meak¹

¹ Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Nusa Nipa Indonesia, Maumere, Indonesia

² Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ibrahimy, Indonesia

*Correspondence author: bareyohanes@gmail.com, 085337373969

ABSTRACT. The Brotowali plant is used to treat malaria. *Tinospora crispa* L contains active compounds that are good for health and has been widely used for medicine. Crude extract from *Tinospora crispa* L can be used as target dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS). This research study was to analyse the potential chemical content of *Tinospora crispa* L in the form of columbine compounds as a focus of malaria therapy through inhibition of dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS). In silico research method, columbine (CID: 188289) ligand was obtained from Pubchem while DHFR-TS (PDB ID 2bl9) protein was obtained from Protein Data Bank, ligands and proteins were interacted using HEX 8.0.0.0 and visualised using discovery studio. The results obtained are six amino acid residues that bind to the DHFR-TS protein. This binding has an impact on the work function of the DHFR-TS protein. Physicochemical analysis shows that the ligand acts as a donor and acceptor so that the protein is formed and the ligand becomes very strong. This interaction is also supported by amino acid residues that act as supports by forming Van der Waals forces outside of the Van hydrogen bonding forces, pi-Alkyl and Pi also provide support in order to increase the strength and stabilisation of the. Based on the discussion, it can be concluded that the columbine content in *Tinospora crispa* L has potential as a therapy and treatment for malaria through inhibition of DHFR-TS.

Keywords: antimalaria, columbine, DHFR-TS, in silico, *Tinospora crispa* L

ABSTRAK. Tanaman Brotowali digunakan untuk mengobati penyakit malaria. *Tinospora crispa* L mengandung senyawa aktif yang baik untuk kesehatan dan telah banyak digunakan untuk pengobatan. Ekstrak kasar *Tinospora crispa* L dapat digunakan sebagai target dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS). Penelitian bertujuan menganalisis potensi kandungan kimia *Tinospora crispa* L berupa senyawa kolumbin sebagai fokus terapi malaria melalui penghambatan dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS). Metode penelitian in silico diperoleh ligan kolumbin (CID: 188289) dari Pubchem sedangkan protein DHFR-TS (PDB ID 2bl9) diperoleh dari Protein Data Bank, ligan dan protein diinteraksikan menggunakan HEX 8.0.0.0 dan divisualisasikan menggunakan discovery studio. Hasil yang diperoleh enam residu asam amino berikatan dengan protein DHFR-TS. Pengikatan berdampak pada fungsi protein DHFR-TS. Analisis fisikokimia menunjukkan ligan berperan sebagai donor dan akseptor sehingga protein yang terbentuk dan ligan menjadi sangat kuat. Interaksi ini didukung residu asam amino yang bertindak sebagai pendukung membentuk gaya Van der Waals di luar gaya ikatan hidrogen Van, pi-Alkil dan Pi juga memberikan dukungan meningkatkan kekuatan dan stabilisasi. Kandungan kolumbin pada *Tinospora crispa* L berpotensi sebagai terapi dan pengobatan malaria melalui penghambatan DHFR-TS.

Kata kunci: antimalaria, kolumbin, DHFR-TS, in silico, *Tinospora crispa* L



1. PENDAHULUAN

Tanaman Brotowali digunakan untuk mengobati penyakit malaria. Proses pengolahan cukup sederhana yakni batang dari tanaman brotowali direbus hingga mendidih dan kemudian air rebusan tersebut diminum. Pengetahuan ini bersifat tradisional oleh kelompok tabib, sehingga tidak semua masyarakat mengetahui hal tersebut. Belum ditemukan korelasi secara ilmiah mengenai pengetahuan lokal masyarakat sehingga menurunkan nilai penggunaannya, oleh karena itu perlu untuk dilakukan kajian mendalam mengenai sistem pengobatan dan ditulis agar tidak hilang oleh zaman.

Tanaman Brotowali (*Tinospora crispa*, L) merupakan kelompok tanaman keluarga Menispermaceae tumbuh di hutan, lading, ditanam di halaman dekat pagar sebagai tumbuhan obat (Yesi dkk., 2019). Secara umum di dalam tanaman *Tinospora crispa* terkandung *T. crispa* terdiri dari keragaman metabolit sekunder, lebih dari 65 senyawa telah diisolasi dan diidentifikasi seperti furanoditerpen, lakton, steroid, flavonoid, lignan, dan alkaloid (Ahmad dkk., 2012; Dumeva and Fitriah, 2016). Menurut Pranata (2014) brotowali (*Tinospora crispa*, L) memiliki kandungan senyawa aktif yang baik untuk kesehatan. *Tinospora crispa* L telah banyak digunakan untuk pengobatan. Ekstrak kasar dari *Tinospora crispa* dapat digunakan sebagai anti inflamasi, antidiabetes, antimalaria (Yesi dkk., 2019). Salah satu bahan aktif yang diprediksi memiliki potensi sebagai anti malaria yaitu kolumbin (Cui et al., 2015; Landau et al., 2013).

Penyakit Malaria memiliki korelasi pada tingkat gen dimana evolusi yang terjadi parasite ini terjadi pada penyakit sel sabit (SCD), talasemia, glukosa-6-fosfat defisiensi dehidrogenase (G6PD) (de Mendonça dkk., 2012). Kelainan genetik memiliki keterkaitan kerentanan atau resistensi malaria sedang meningkat, dan studi tentang heritabilitas menunjukkan hal itu sekitar 25% dari risiko perkembangan malaria yang parah ditentukan melalui faktor genetik manusia (de Mendonça dkk., 2012). Selain itu target dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS) (Gibson et al., 2016; Luzz et al., 2001). DHFR-TS1 dan DHFR-TS2 terletak pada kromosom 2 dan kromosom 4, masing-masing dalam wilayah yang diketahui telah mengalami peristiwa duplikasi kromosom (Gorelova et al., 2017; Landau et al., 2013). Kajian penelitian ini adalah menganalisis potensi kandungan kimia *Tinospora crispa*, L berupa senyawa kolumbin sebagai salah satu fokus terapi penyakit malaria melalui penghambatan dihydrofolate reductase-thymidylate synthase (DHFR-TS).

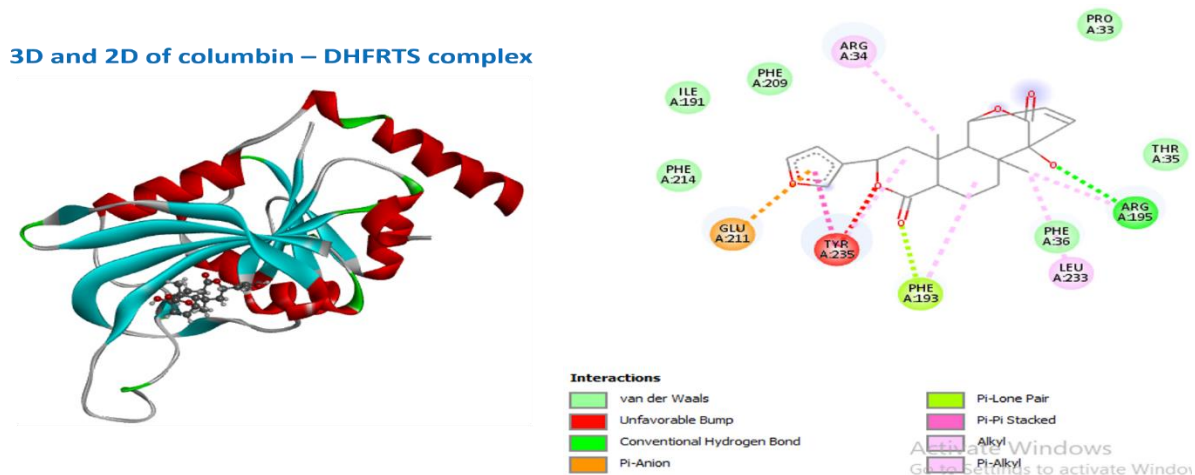
2. METODE

Analisis interaksi molekuler kolumbin- DHFR-TS mengadopsi Metode *in silico* (Bare & Sari, 2021). Struktur tiga dimensi senyawa kolumbin (CID: 18828) diperoleh dari Pubchem dan protein DHFR-TS (PDB ID 2bl9) diunduh dari Protein Data Bank. Ligan dan protein kemudian diinteraksikan menggunakan perangkat lunak HEX 8.0.0.0, Hasil interaksi berberin dengan

DHFR-TS dianalisis dan di visualisasi menggunakan perangkat lunak discovery studio version 21.1.1. Parameter yang dianalisis adalah residu asam amino yang berinteraksi dengan kolumbin, jenis ikatan yang terbentuk, gaya-gaya van der waals dan sifat fisikokimia ikatan.

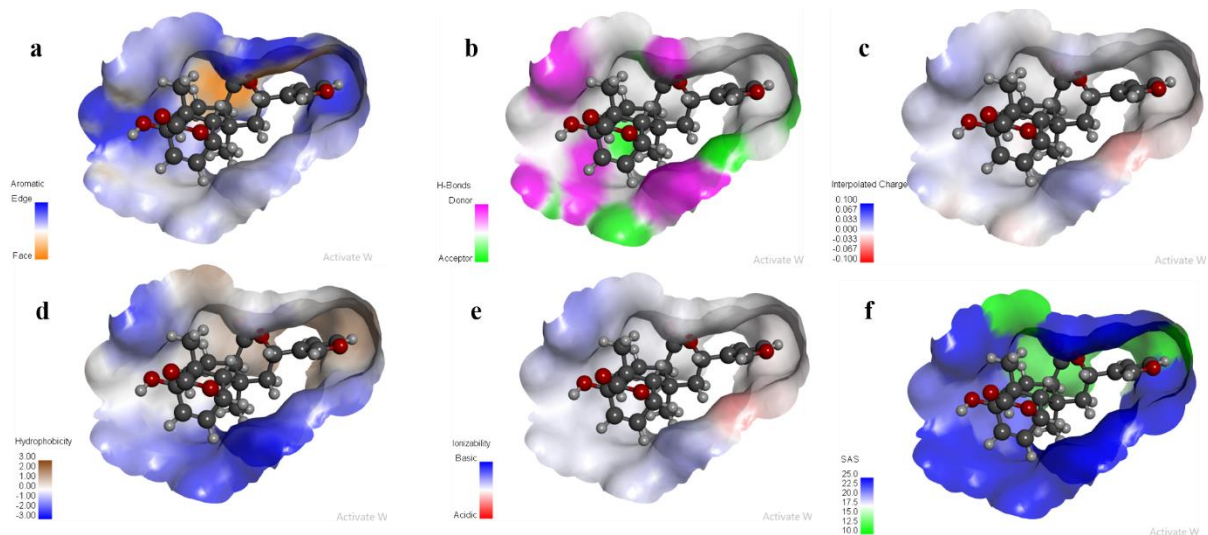
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa kolumbin yang diinteraksikan DHFR-TS menghasilkan enam residu asam amino yang berikatan dengan kolumbin, keenam residu asam amino tersebut adalah GLU211, TYR235, PHE193, LEU233, ARG195, dan ARG34 (Gambar 1). Enam residu asam amino lainnya juga memberikan kontribusi dengan embentuk gaya Van der Waal pada residu asam amino PHE209, ILE191, PHE214, PHE36, THR35, dan PRO33 (Gambar 1). Hasil interaksi ligan-protein membentuk beberapa jenis ikatan yaitu ikatan *Unfavorable Bump* (TYR235), *Conventional Hydrogen Bond* (ARG193), *Pi-Anion* (GLU211), *Pi-Lone Pair* (PHE193), dan *Alkyl* dan *Pi-ALkyl* (LEU233, ARG34) (Gambar 1). Ikatan yang menyertai interaksi ligan enam residu asam amino memiliki kontribusi terhadap kuatnya ikatan yang terbentuk (Bare, 2021; Elfi et al., 2021). Ikatan antara ligan kolumbin dan protein DHFR-TS menjadi lebih kuat karena adanya kompleks senyawa dengan protein yang berinteraksi, dan semakin banyak jumlah ikatan (Bare et al., 2019, 2020, 2021; Krisnamurti et al., 2021; Sari et al., 2020a, 2020b).



Gambar 1. Interaksi 3D dan 2D Senyawa Kolumbin terhadap protein DHFR-TS

Nilai aromatis yang terbentuk dari interaksi kolumbin- DHFR-TS menutupi seluruh permukaan dengan warna biru (Gambar 2a). Residu asam amino DHFR-TS memiliki peran sebagai donor (Hijau) dan Acceptor (Ungu) pada permukaan ligan (Gambar 2b). Pola netral ditunjukkan pada kategori Interpolated charged dan Ionzability (gambar 2c, 2e). Level hidrofobisitas kolumbin-DHFR-TS dan menunjukan tingkat yang rendah dengan dominasi warna biru (gambar 2d), sedangkan Nilai solvent accessible surface (SAS) pada permukaan DHFR-TS termasuk dalam kategori tinggi (gambar 2f).



Gambar 2. Sifat Fisikokimia Interaksi Kolumbin-DHFR-TS. a. Aromatic b. H-Bonds c. Interporated Charge d. Hydrophobicity e. Ionizability f. SAS

Enam residu dari protein DHFR-TS yang berikatan dengan kolumbin memberikan arti penghambatan DHFR-TS pada kasus oleh pyrimethamine dan cycloguanil (Yuvaniyama et al., 2003) penghambatan ini dimulai dengan menginhibisi folat sehingga tidak terjadi proses konversi dengan melepas atom H pada NADPH menjadi NADP⁺ yang kemudian tidak terjadinya pembentukan DHF pada proses Thymidine (Banerjee et al., 2002; Gibson et al., 2016; Gorelova et al., 2017; Yuvaniyama et al., 2003). Enam residu diprediksi mengikat sisi aktif DHFR-TS sehingga menghambat kinerja DHFR-TS. Penelitian ini menemukan potensi kolumbin sebagai media antifolat merujuk kepada antimalaria.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan pembahasan dapat disimpulkan bahwa kandungan kolumbin pada *Tinospora crispera* L berpotensi sebagai terapi dan pengobatan malaria melalui penghambatan DHFR-TS dengan menginhibisi folat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada kepada Direktur Sumber Daya, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kemendikbud Ristek yang memberikan kepercayaan insentif melalui Program Talenta Inovasi Indonesia.

REFERENSI

- Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Farooq, S., Ali, M., & Khan, M. A. (2012). Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(3), S1945–S1953. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60524-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60524-3)
- Bare, Y. (2021). ANALISIS SENYAWA FITOSTEROL *Cymbopogon citratus* dan *Curcuma longa* SEBAGAI ANTIALZHEIMER. *Biopendix: Jurnal Biologi, Pendidikan dan terapan*, 7(2), 53–159. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol7issue2page153-159>
- Bare, Y., Helvina, M., Krisnamurti, G. C., & S, M. (2020). The Potential Role of 6-gingerol and 6-shogaol as ACE Inhibitors in Silico Study. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 8(2), 210. <https://doi.org/10.24252/bio.v8i2.15704>
- Bare, Y., Indahsari, L. I. N., Sari, D. R. T., & Watuguly, T. (2021). In Silico Study: Potential Prediction of *Curcuma longa* And *Cymbopogon citratus* Essential Oil As Lipoxygenase Inhibitor Yohanes. *JSMARTech*, 02(02), 76–80. <https://doi.org/10.21776/ub.jsmartech.2021.002.02.75> In
- Bare, Y., Maulidi, A., Sari, D. R. T., & Tiring, S. S. N. D. (2019). Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK). *Jurnal Jejaring Matematika Dan Sains*, 1(2), 59–63. <https://doi.org/10.36873/jjms.v1i2.211>
- Bare, Y., & Sari, D. R. T. (2021). Pengembangan Lembar Kerja Mahasiswa (LKM) Berbasis Inkuiri Pada Materi Interaksi Molekuler. *BioEdUIN*, 11(1), 8. <https://doi.org/10.15575/bioeduin.v11i1.12077>
- Cui, L., Mharakurwa, S., Ndiaye, D., Rathod, P. K., & Rosenthal, P. J. (2015). Antimalarial Drug Resistance: Literature Review and Activities and Findings of the ICEMR Network. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 93(3_Suppl), 57–68. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0007>
- de Mendonça, V. R. R., Goncalves, M. S., & Barral-Netto, M. (2012). The Host Genetic Diversity in Malaria Infection. *Journal of Tropical Medicine*, 2012, 1–17. <https://doi.org/10.1155/2012/940616>
- Dumeva, A., & Fitriah, S. (2016). PENGARUH EKSTRAK BATANG BROTOWALI (*Tinospora crispa*) TERHADAP KEMATIAN LARVA NYAMUK *Aedes aegypti*. *Jurnal Biota*, 2(2), 7.
- Elfi, T. N., Bunga, Y. N., & Bare, Y. (2021). Studi Aktivitas Biologi Secara In Silico Senyawa Nonivamide Dan Nordihydrocapsaicin Sebagai Anti Inflamasi. *Florea : Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 8(2), 82. <https://doi.org/10.25273/florea.v8i2.9983>
- Gibson, M. W., Dewar, S., Ong, H. B., Sienkiewicz, N., & Fairlamb, A. H. (2016). Trypanosoma brucei DHFR-TS Revisited: Characterisation of a Bifunctional and Highly Unstable Recombinant Dihydrofolate Reductase-Thymidylate Synthase. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 10(5), e0004714. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004714>
- Gorelova, V., De Lepeleire, J., Van Daele, J., Pluim, D., Meï, C., Cuypers, A., Leroux, O., Rébeillé, F., Schellens, J. H. M., Blancquaert, D., Stove, C. P., & Van Der Straeten, D. (2017). Dihydrofolate Reductase/Thymidylate Synthase Fine-Tunes the Folate Status and Controls Redox Homeostasis in Plants. *The Plant Cell*, 29(11), 2831–2853. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00433>
- Krisnamurti, G. C., Thian, B. K., Krisnamurti, G. C., Ratih, D., Sari, T., & Bare, Y. (2021). Capsaicinoids from *Capsicum annuum* as an Alternative FabH Inhibitor of Mycobacterium Tuberculosis: In Silico Study Capsaicinoids from *Capsicum annuum* as an Alternative FabH Inhibitor of Mycobacterium Tuberculosis: In Silico Study. *Makara Journal of Science*, 25(4), 195–202. <https://doi.org/10.7454/mss.v25i4.1248>

- Landau, M. J., Sharma, H., & Anderson, K. S. (2013). Selective peptide inhibitors of bifunctional thymidylate synthase-dihydrofolate reductase from *Toxoplasma gondii* provide insights into domain-domain communication and allosteric regulation: Peptide Inhibitors of Parasitic TS-DHFR. *Protein Science*, 22(9), 1161–1173. <https://doi.org/10.1002/pro.2300>
- Luzz, M., Berman, J., Toledo, J., Llinas, N., Gutierrez, P., Soto, J., Dunne, M., & Cedeño, N. (2001). Plasmodium vivax clinically resistant to chloroquine in Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(2), 90–93. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2001.65.90>
- Sari, D. R. T., Safitri, A., Cairns, J. R. K., & Fatchiyah, F. (2020a). Anti-Apoptotic Activity of Anthocyanins has Potential to inhibit Caspase-3 Signaling. *Journal of Tropical Life Science*, 10(1), 15–25. <https://doi.org/10.11594/jtls.10.01.03>
- Sari, D. R. T., Safitri, A., Cairns, J. R. K., & Fatchiyah, F. (2020b). Virtual screening of black rice anthocyanins as antiobesity through inhibiting TLR4 and JNK pathway Virtual screening of black rice anthocyanins as antiobesity through inhibiting TLR4 and JNK pathway. *Journal of Physics: Conference Series PAPER*, 1665(1), 1–7. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1665/1/012024>
- Yesi, Zen, S., & Achyani. (2019). Pengaruh Variasi Dosis Ekstrak Batang Brotowali (*Trinospora crispa* L.) Terhadap Mortalitas Hama Kutu Daun (*Aphis gossypii* L.) Tanaman Mentimun (*Cucumis sativus* L.) Sebagai Sumber Belajar Biologi. *BIOEDUKASI Jurnal Pendidikan Biologi*, 10(2).