

Skrining Virtual dan Elusidasi Moda Ikatan Senyawa Inhibitor Enzim Elastase dan Hyaluronidase Pada Beberapa Tanaman Dengan Aktivitas Anti-Aging

Esti Mumpuni*, Esti Mulatsari, Tri Kumala Noerfa

ABSTRACT: Several studies on elastase enzymes and hyaluronidase enzymes that have the potential to be anti-aging have been previously published. Referring to the various results of the study, a virtual screening of 30 natural substances from 10 anti-aging plants and the binding mode elucidation of the active compound as an inhibitor of enzyme causing aging were carried out. This study aims to determine the inhibiting mechanism of antiaging compounds in plants and to model their interactions. Based on the results of the ChemPLP score from the docking simulation there were 4 active compounds was obtained which inhibited the elastase enzyme, namely : 2 compounds from orange plants (*Citrus aurantium* subsp. *Amara*), 1 compound from lavender flower (*Lavandula angustifolia* L.) and 1 compound from galangal striped plants (*Alpinia zerumbet*). While on the hyaluronidase enzyme obtained 11 compounds that actively inhibit the hyaluronidase enzyme there were 2 compounds from the galangal striped plant (*Alpinia zerumbet*), 3 compounds from the areca nut plant (*Areca catechu* L.), 1 compound from the tea plant (*Camellia sinensis* Kuntze), 1 compound from the rose flower (*Rosa centifolia* L.), 2 compounds from the orange plant (*Citrus aurantium* subsp. *Amara*), 1 compound from lavender (*Lavandula angustifolia* L.) and 1 compound from the seaweed (*Eucheuma spinosum*).

Keywords: Elastase, hyaluronidase, virtual screening, inhibitor.

ABSTRAK: Beberapa penelitian mengenai enzim elastase dan enzim hyaluronidase yang berpotensi sebagai anti-aging telah dipublikasi sebelumnya. Mengacu pada berbagai hasil penelitian tersebut, pada penelitian ini dilakukan skrining virtual 30 senyawa bahan alam yang berasal dari 10 tanaman dan elusidasi moda ikatan terhadap senyawa aktif sebagai inhibitor enzim penyebab penuaan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme kerja senyawa penghambat aging pada tanaman dan memodelkan interaksinya. Berdasarkan hasil score ChemPLP dari simulasi docking pada penelitian ini, diperoleh 4 senyawa yang aktif menghambat enzim elastase yaitu dari 2 senyawa dari tanaman jeruk (*Citrus aurantium* subsp. *Amara*), 1 senyawa dari bunga lavender (*Lavandula angustifolia* L.) dan 1 senyawa dari tanaman lengkuas belang (*Alpinia zerumbet*). Sedangkan pada enzim hyaluronidase diperoleh 11 senyawa yang aktif menghambat enzim hyaluronidase yaitu 2 senyawa dari tanaman lengkuas belang (*Alpinia zerumbet*), 3 senyawa dari tanaman pinang (*Areca catechu* L.), 1 senyawa dari tanaman teh (*Camellia sinensis* Kuntze), 1 senyawa dari bunga mawar (*Rosa centifolia* L.), 2 senyawa dari tanaman jeruk (*Citrus aurantium* subsp. *Amara*), 1 senyawa dari tanaman lavender (*Lavandula angustifolia* L.) dan 1 senyawa dari rumput laut (*Eucheuma spinosum*).

Kata kunci: Elastase, hyaluronidase, skrining virtual, inhibitor.

Fakultas Farmasi Universitas Pancasila

Korespodensi :

Esti Mumpuni

e-mail : esti_mumpuni@yahoo.com

PENDAHULUAN

Penuaan (*aging*) adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan secara perlahan-lahan untuk memperbaiki atau mengganti diri dan mempertahankan struktur, serta fungsi normalnya. Kulit dapat mengalami penuaan (*aging*) yang salah satunya ditandai dengan munculnya kerut (*wrinkle*). Hal ini tidak terjadi semata-mata karena bertambahnya usia dari kulit itu sendiri, melainkan juga dapat terjadi karena adanya faktor eksternal(1). Penuaan dapat pula disebabkan oleh berbagai macam faktor, yaitu faktor yang berasal dari dalam tubuh itu sendiri (faktor intrinsik) maupun faktor yang berasal dari luar tubuh (faktor ekstrinsik). Adapun yang termasuk faktor intrinsik di antaranya aktivitas enzim-enzim tertentu. Peningkatan aktivitas enzim-enzim tertentu yang terlibat pada proses penuaan kulit di antaranya yaitu elastase, hyaluronidase, dan kolagenase. Enzim-enzim tersebut memiliki peranan masing-masing dalam keterlibatannya pada proses penuaan, dimana proses anti-aging berkaitan dengan penghambatan terhadap aktivitas enzim-enzim tersebut. Elastin pada lapisan dermis merupakan matriks ekstraselular yang berperan dalam elastisitas kulit. Dapat dilihat pada perubahan histopatologi bahwa penuaan kulit di karakterisasi oleh penurunan jumlah elastin dan desintegrasi serabut elastin oleh enzim elastase, hyaluronidase dan kolagenase(2).

Menurut jurnal "BMC Complementary and Alternative Medicine persentase"(BMC Complementary and Alternative Medicine 2009, 9:27) di dalam penelitian tersebut terdapat 23 tanaman yang digunakan sebagai tanaman anti-aging namun dilihat dari kekuatannya untuk penghambatannya kegiatan anti-elastase dan anti-kolagenase dengan aktivitas penghambatan anti-aging yang paling kuat adalah teh (*Camellia sinensis* Kuntze) (~89%), akar burdock (*Arctium lappa* L.) (~51%), rumput laut (*Eucheuma spinosum*) (~50%), adas (*Illicium verum* Hook. F.), angelica (*Angelica*

archangelica L.), bunga mawar (*Rosa centifolia* L.), jeruk (*Citrus aurantium subsp. Amara*), bunga lavender (*Lavandula angustifolia* L.) (~32%)(1). Sedangkan, pada aktivitas penghambatan anti-aging enzim hyaluronidase beberapa tanaman di Indonesia yang dapat dimanfaatkan sebagai pencegah kerusakan kulit (anti kerut) yaitu lengkuas belang (*Alpinia zerumbet*) merupakan tanaman yang tumbuh secara luas di daerah subtropis dan tropis. Lengkuas belang (*Alpinia zerumbet*) memiliki kandungan polifenol berupa 5,6-dyhydrokawain (DK), dihydro-5,6-dyhydrokawain (DDK), 12-labdadiene-15(3) dan biji pinang (*Areca catechu* L.) dengan penggunaan antioksidan secara topikal, banyak mengandung senyawa-senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan di antaranya tanin terhidrolisis, flavan, kuersetin, luteolin, senyawa fenolik, asam galat, lignin serta asam amino (prolin 13 %)(4).

Dari penelitian terkait tanaman yang berpotensi sebagai antiaging tersebut, belum ada kajian terkait senyawa yang menghambat kinerja enzim elastase, kolagenase dan hyaluronidase sehingga pada penelitian ini akan dikaji terkait senyawa yang berperan dalam penghambatan aging melalui studi skrining virtual dan elusidasi mode ikatan pada beberapa struktur kristal enzim elastase, kolagenase dan hyaluronidase dengan metode *molecular docking*.

METODE PENELITIAN

Bahan.

Struktur Senyawa dari Tanaman anti-aging yang diunduh dari The PubChem substance database dan jurnal penelitian, antara lain 5 senyawa dari tanaman Teh (*Camellia sinensis* Kuntze)(1), 4 senyawa dari Bunga Mawar (*Rosa centifolia* L.)(1), 3 Senyawa dari tanaman Jeruk (*Citrus aurantium subsp. Amara*)(1), 4 Senyawa dari tanaman Bunga Lavender (*Lavandula angustifolia* L.)(1), 2 senyawa dari rumput laut(1), 2 senyawa dari Adas (*Illicium verum* Hook. F.) (1), 2 Senyawa dari tanaman Angelica (*Angelica archangelica* L.)(1), 2 senyawa dari Lengkuas

Belang (*Alpinia zerumbet*)(3), 6 senyawa dari tanaman Pinang (*Areca catechu* L.)(5), 2 senyawa dari tanaman Akar burdock atau gobo (*Arctium lappa* L.) [1], Struktur ECGC (*Epigallocatechin gallate*) yang dijadikan senyawa pembanding atau kontrol positif inhibitor enzim elastase dan enzim kolagenase, Struktur Asam Oleanoat yang dijadikan senyawa pembanding atau kontrol positif inhibitor enzim hyaluronidase. Struktur kristalin enzim elastase dengan kode pdb 3TS4, 3UVC, 4NZL, 5A8Y, 5A8Z, 5AO9 dan 5JMY. Struktur kristalin enzim hyaluronidase dengan kode pdb 2J1E, 2PE4, dan 5DIY(6-15).

Alat.

Perangkat lunak yang digunakan antara lain : Protein-Ligand ANT System (PLANTS).

Versi untuk Linux dapat diunduh secara gratis di <http://www.tcd.uni-konstanz.de/index.php>, Co-PendriveLinux-KDE Software hibridasi Linux dalam windows, sehingga program PLANTS dapat digunakan di windows, YASARA Dapat diunduh secara gratis di: <http://www.yasara.org/viewdl.htm>, ChemSketch Dapat diunduh secara gratis di: <http://www.chemaxon.com/marvin/download-user.html>. Perangkat keras yang digunakan antara lain : Laptop ACER Presario CQ43, AMD E-300 APU with Radeon™ HD Graphic 1.30 GHz, 2.00 GB , 32-bit Operating System, x64-based processor.

Cara Kerja(16,17). Preparasi Reseptor (Protein).

Struktur komplek protein 5JMY dan 2J1E. pdb didapatkan dari Protein Data Bank (PDB) di-download dari situs <http://www.rcsb.org/pdb> . Dipreparasi kembali dengan program YASARA. Dari prosedur ini diperoleh tiga file yaitu protein. mol2, ref_ligand.mol2 dan ligand.mol2.

Preparasi Native Ligan, Ligan Kontrol Positif dan Ligan Senyawa Uji.

Dilakukan preparasi ligan protein, ligan kontrol positif (p-nitroanilin), ligan senyawa uji dengan MarvinSketch pada pH 7,4. Ligan disimpan

sebagai ligand_2D.mrv. Pilih Conformational search lalu simpan hasil pencarian konformasi sebagai ligand dantipe file .mol2. Prosedur diatas dilakukan untuk setiap satu ligan.

Optimasi Protein dan Menetapkan Nilai RMSD.

Native ligan yang sudah dipreparasi, lalu dioptimasi dengan struktur kristal protein menggunakan program PLANTS yang dihubungkan program Co-PendriveLinux-KDE hingga didapat *score*. Dipilih *score* terbaik lalu disimpan dalam bentuk file mol 2. Dihitung besarnya RMSD pose hasil optimasi dengan referensi hasil eksperimen atau struktur kristal protein dengan program YASARA.

Docking Ligan Pembanding.

File ligan pembanding yang diperoleh dari prosedur preparasi protein kemudian dilakukan docking menggunakan program PLANTS yang dihubungkan program Co-PendriveLinux-KDE. Diperoleh besarnya *best score* dari ligan pembanding atau control positif (ECGC dan Asam Oleanoat) yang nantinya akan dibandingkan dengan nilai *best score* dari ligan senyawa uji(16,17).

Docking Ligan Uji.

Pada prosedur ini dilakukan *docking* antara masing masing ligan senyawa uji menggunakan program PLANTS 1.1 yang dihubungkan oleh program co-pendriveLinux. Hasil *docking* diperoleh nilai *best score* ligan senyawa uji, nilai inilah yang akan dibandingkan dengan *best score* ligan kontrol positif (ECGC dan Asam Oleanoat).

Visualisasi Interaksi Ligan dan Reseptor.

Langkah selanjutnya adalah membuat file hasil docking dari masing-masing ligan senyawa uji dengan program YASARA (tipe file.pdb) atau VMD. File hasil docking inilah yang akan divisualisasi dan diinterpretasi untuk diketahui interaksi-interaksi yang terjadi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Virtual Aktivitas Senyawa Uji Pada Penghambatan Enzim Elastase dan Hyaluronidase.

Tahap awal dari proses docking ialah penentuan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dimana nilai RMSD < dari sama dengan 2 Å menunjukkan protocol docking memenuhi syarat untuk digunakan, dimana posisi ligand yang berikatan pada sisi aktif protein (active site) pergeserannya tidak terlalu jauh karena konversi dari 2 Å sama dengan 0,2 nm sesuai dengan kisaran ukuran diameter suatu atom yaitu sekitar 0,1 nm [18]. Hasil perhitungan RMSD beberapa reseptor disajikan dalam Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1. Reseptor yang memenuhi syarat untuk digunakan proses docking uji penghambatan enzim elastase ialah enzim dengan kode PDB 5JMY dan enzim hyaluronidase dengan kode PDB 2J1E karena memiliki nilai RMSD kurang dari 2 Å.

Docking merupakan suatu teknik penelitian untuk memperkirakan potensi dan afinitas senyawa kimia yaitu apakah suatu molekul dapat berikatan dengan suatu makromolekul (umumnya merupakan protein). Suatu molekul

ligand dan protein diprediksikan dengan teknik penempatan pada area tertentu (*active site*) sehingga memberikan hasil yang optimal. Menghasilkan suatu pose interaksi dan suatu nilai yang menentukan baik tidaknya suatu pose interaksi (*score docking*). Skor docking dihitung antara lain dengan nilai ChemPLP. Nilai ChemPLP dihitung berdasarkan energi bebas Gibbs dimana semakin kecil (makin negatif) terhadap senyawa pembanding maka dapat dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik, yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut dengan mudah berikatan dengan reseptor [18]. Dari hasil skor dilakukan pemilihan senyawa representatif aktif dengan nilai ChemPLP lebih kecil (lebih negatif) dan senyawa representatif tidak aktif dengan nilai ChemPLP lebih besar (lebih positif). Senyawa aktif sebagai ligan pada reseptor enzim elastase dan enzim hyaluronidase secara *in silico* divisualisasi menggunakan aplikasi VMD. Dari analisis dapat diketahui asam amino yang aktif dalam binding site reseptor atau enzim. Nilai ChemPLP senyawa uji dan senyawa pembanding pada enzim elastase dan hyaluronidase ditampilkan dalam Tabel 2 dan Tabel 3.

Hasil *docking* pada Tabel 2 menunjukkan bahwa ada 4 senyawa yang diprediksi aktif sebagai ligan penghambat pada enzim elastase yaitu: senyawa Naringen ((2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one), Neoeriocitrin ((2S)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one), Asam rosmarinic ((2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid) dan 5,6-dihidrokawain ((3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide). Nilai ChemPLP senyawa uji tertinggi

Tabel 1. Nilai RMSD Enzim Elastase dan Hyaluronidase.

Enzim	Kode pdb	RMSD(Å)
Elastase	3TS4	13.24
	3UVC,	3.38
	4NZL,	19.29
	5A8Y,	1.9
	5A8Z,	5.14
	5A09	6.5
Hyaluronidase	5JMY	1.12
	2J1E	1.83
	2PE4	5.34
	5DIY	3.09

Tabel 2. Skor Docking Senyawa Uji dan Ligan Pembanding (ECGC) pada Enzim Elastase.

No	Nama IUPAC Senyawa Dari Tanaman	Nilai Chem PLP		Prediksi aktifitas
		Senyawa Uji	Senyawa Pembanding ECGC	
a	Senyawa Pada Tanaman Teh (<i>Camellia sinensis Kuntze</i>)			
1	(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol	-79,2235	-90,5667	Inaktif
2	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one	-74,7898	-90,5667	Inaktif
3	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	-71,4192	-90,5667	Inaktif
4	3,4,5-trihydroxybenzoic acid	-67,7442	-90,5667	Inaktif
b	Senyawa Pada Tanaman Bunga Mawar (<i>Rosa centifolia L.</i>)			
5	4[(1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-18-(4-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-2-en-1-yl)-3,7,12,16-tetramethyloctadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaenyl]-3,5,5-trimethylcyclohex-3-en-1-ol	-75,6980	-90,5667	Inaktif
6.	4-nitrobenzaldehyde	-60,7322	-90,5667	Inaktif
7	(2R)-2-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxy-2H-furan-5-one	-73,4075	-90,5667	Inaktif
8	(2S,3R,4S,5R,6S)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic acid	-62,4189	-90,5667	Inaktif
c	Senyawa Pada Tanaman Jeruk (<i>Citrus aurantium subsp. Amara</i>)			
9.	(3S,4aR,6aR,6a R,6b R,14a R,14bR)-4,4,6a,6b,11,11,14b-heptamethyl-2,3,4a,5,6,6a,7,8,9,10,12,13,14,14a-tetradecahydro-1H-picen-3-ol	-62,4189	-90,5667	Inaktif
10	(2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy -6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3- dihydrochromen-4-one	-100,48	-90,5667	Aktif
11	(2S)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[[[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydro xy-6-methyloxan-2-yl]oxy-2- (3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy -2,3- dihydrochromen-4-one	-94,1558	-90,5667	Aktif
d	Senyawa Pada Tanaman Bunga Lavender (<i>Lavandula angustifolia L.</i>)			
12	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-yl acetate	-74,3542	-90,5667	Inaktif
13	2-[(2S,5S)-5-ethenyl-5-methylo xolan- 2-yl]propan-2-ol	-62,5775	-90,5667	Inaktif

14	(4-methyl-1-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-yl)propanoate	-68,3028	-90,5667	Inaktif
15	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid	-101,788	-90,5667	Aktif
e	Senyawa Pada Tanaman Rumput Laut (<i>Eucheuma spinosum</i>)			
16	4-(3,5-dihydroxyphenoxy)dibenzo-p-dioxin-1,3,6,8-tetrol	-76,0971	-90,5667	Inaktif
17	[2-[2,4-dihydroxy-6-(2,4,6-trihydroxyphenoxy)phenoxy]-4,6-dihydroxyphenyl]benzene-1,3,5-triol	-66,6577	-90,5667	Inaktif
f	Senyawa Pada Tanaman Adas (<i>Illicium verum</i> Hook. F.)			
18	4-methoxybenzaldehyde	-58,3707	-90,5667	Inaktif
19	1-methoxy-4-prop-2-enylbenzene	-64,6056	-90,5667	Inaktif
g	Senyawa Pada Tanaman Angelica (<i>Angelica archangelica</i> L.)			
20	9-methoxyfuro[3,2-g]chromen-7-one	-68,3829	-90,5667	Inaktif
21	furo[2,3-h]chromen-2-one	-66,3126	-90,5667	Inaktif
h	Senyawa Pada Tanaman Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)			
22	2-phenyl-3,4-dihydro-2H-chromene	-82,4433	-90,5667	Inaktif
23	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	-81,0375	-90,5667	Inaktif
24	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	-68,9876	-90,5667	Inaktif
25	(2S,3R,4S,5R)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic acid disodium;(2R)-3-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[2-methoxy-4-(3-sulfonatopropyl)phenoxy]propane-1-sulfonate	-70,5678	-90,5667	Inaktif
26	4-aminobutanoic acid	-72,2540	-90,5667	Inaktif
27	4-aminobutanoic acid	-65,8230	-90,5667	Inaktif
i	Senyawa Pada Tanaman Akar Burdock Atau Gobo (<i>Arctium lappa</i> L.)			
28	1,4-diphenylbenzene	-70,6575	-90,5667	Inaktif
29	2-(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid	-73,8495	-90,5667	Inaktif
j.	Senyawa Pada Tanaman Lengkuas Belang (<i>Alpinia zerumbet</i>)			
30	(3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide	-96,0885	-90,5667	Aktif
31	butyl 2,2-dimethyl-4-oxo-3H-pyran-6-carboxylate	-69,9581	-90,5667	Inaktif

Tabel 3. Skor Docking Senyawa Uji dan Ligan Pembanding (asam oleanoat) pada Enzim Hyaluronidase.

		Nilai ChemPLP		Prediksi Aktivitas
No	Nama IUPAC Senyawa Dari Tanaman	Senyawa Uji	Senyawa Pembanding Asam Oleanoat	
a Senyawa Pada Tanaman Lengkuas Belang (<i>Alpinia zerumbet</i>)				
1	(3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide	-65.2789	-56.5686	Aktif
2	butyl 2,2-dimethyl-4-oxo-3H-pyran-6-carboxylate	-64.9584	-56.5686	Aktif
b Senyawa Pada Tanaman Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)				
3	2-phenyl-3,4-dihydro-2H-chromene	-45.8366	-56.5686	Inaktif
4	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	-62.4494	-56.5686	Aktif
5	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one	-64.202	-56.5686	Aktif
6	(2S,3R,4S,5R)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic acid	-52.6646	-56.5686	Inaktif
7	disodium;(2R)-3-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[2-methoxy-4-(3-sulfonatopropyl)phenoxy]propane-1-sulfonate	-64.1838	-56.5686	Aktif
8	4-aminobutanoic acid	-46.7806	-56.5686	Inaktif
c Senyawa Pada Tanaman Teh (<i>Camellia sinensis</i> Kuntze)				
9.	(2R,3S)-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,4-dihydro-2H-chromene-3,5,7-triol	-51.5293	-56.5686	Inaktif
10	2-(3,4-dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxychromen-4-one	-45.9865	-56.5686	Inaktif
11	3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one	-52.3496	-56.5686	Inaktif
12	3,4,5-trihydroxybenzoic acid	-60.6287	-56.5686	Aktif
d Senyawa Pada Tanaman Bunga Mawar (<i>Rosa centifolia</i> L.)				
13	4[(1E,3E,5E,7E,9E,11E,13E,15E,17E)-18-(4-hydroxy-2,6,6-trimethylcyclohex-2-en-1-yl)-3,7,12,16-tetramethyloctadeca-1,3,5,7,9,11,13,15,17-nonaenyl]-3,5,5-trimethylcyclohex-3-en-1-ol	-47.1567	-56.5686	Inaktif
14	4-nitrobenzaldehyde	-48.8979	-56.5686	Inaktif
15	(2R)-2-[(1S)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxy-2H-furan-5-one	-55.9559	-56.5686	Inaktif
16	(2S,3R,4S,5R,6S)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic acid	-60.746	-56.5686	Aktif
e Senyawa Pada Tanaman Jeruk (<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>Amara</i>)				
17	(3S,4aR,6aR,6aR,6bR,14aR,14bR)-4,4,6a,6b,11,11,14b-heptamethyl-2,3,4a,5,6,6a,7,8,9,10,12,13,14,14a-tetradecahydro-1H-picen-3-ol	-38.4492	-56.5686	Inaktif
18	(2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one	-62.4211	-56.5686	Aktif

19	(2S)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	-66.9756	-56.5686	Aktif
f Senyawa Pada Tanaman Bunga Lavender (<i>Lavandula angustifolia</i> L.)				
20	3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-yl acetate	-48.825	-56.5686	Inaktif
21	2-[(2S,5S)-5-ethenyl-5-methyloxolan-2-yl]propan-2-ol	-43.7418	-56.5686	Inaktif
22	(4-methyl-1-propan-2-yl)cyclohex-3-en-1-yl propanoate	-46.2575	-56.5686	Inaktif
23	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid	-69.4736	-56.5686	Aktif
g Senyawa Pada Tanaman Rumput Laut (<i>Eucheuma spinosum</i>)				
24	4-(3,5-dihydroxyphenoxy)dibenz o-p-dioxin-1,3,6,8-tetrol	-63.3567	-56.5686	Aktif
25	2-[2-[2,4-dihydroxy-6-(2,4,6-trihydroxyphenoxy)phenoxy]-4,6-dihydroxyphenyl]benzene-1,3,5-triol	-40.2878	-56.5686	Inaktif
h. Senyawa Pada Tanaman Adas (<i>Illicium verum</i> Hook. F.)				
26	4-methoxybenzaldehyde	-43.4519	-56.5686	Inaktif
27	1-methoxy-4-prop-2-enylbenzene	-44.7033	-56.5686	Inaktif
i. Senyawa Pada Tanaman Angelica (<i>Angelica archangelica</i> L.)				
28	9-methoxyfuro[3,2-g]chromen-7-one	-50.7477	-56.5686	Inaktif
29	furo[2,3-h]chromen-2-one	-48.9141	-56.5686	Inaktif
j. Senyawa Pada Tanaman Akar Burdock Atau Gobo (<i>Arctium lappa</i> L.)				
30	1,4-diphenylbenzene	-56.1622	-56.5686	Inaktif
31	2-(2,4-dichlorophenoxy)acetic acid	-48.394	-56.5686	Inaktif

berdasarkan hasil uji in silico yaitu senyawa Naringen ((2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one) dengan nilai -100,48. Senyawa tersebut dapat dikembangkan dan diteliti lebih lanjut sebagai inhibitor pada enzim elastase. Senyawa pembanding (ECGC) yang digunakan memiliki aktivitas yang sangat selektif pada enzim elastase.

Tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa uji yang diprediksi aktif sebagai ligan penghambat pada enzim hyaluronidase yaitu: senyawa ((3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide dan senyawa butyl 2,2-dimethyl-4-oxo-3H-pyran-6-carboxylate) dari tanaman

lengkuas belang; senyawa (2-phenyl-3,4-dihydro-2H-chromene, 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one, senyawa 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one dan senyawa disodium; (2R)-3-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[2-methoxy-4-(3-sulfonatopropyl)phenoxy]propane-1-sulfonate) dari tanaman pinang; senyawa (3,4,5-trihydroxybenzoic acid) dari bunga mawar; senyawa ((2S,3R,4S,5R,6S)-3,4,5,6-tetrahydroxyoxane-2-carboxylic) dari tanaman teh; senyawa ((2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]

Tabel 4. Interaksi ligan pembanding dengan asam amino reseptor.

Ligand	Enzim	Sekuen Asam Amino pada Binding Site Reseptor
ECGC	5JMY	PHE544, ARG222, TYR398, ARG110, HIS711
Asam oleanoat	2J1E	VAL763, VAL685, LEU672, LEU741, TRP657, SER659

Tabel 5. Asam Amino pada Binding Pocket Reseptor elastase (5JMY) yang berinteraksi dengan ligan aktif.

No.	Tanaman Asal	Senyawa Aktif	Jenis Asam Amino
1.	Jeruk (<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>Amara</i>)	Naringen ((2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[[[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one)	PHE544, ASN542, THR708, VAL710, TYR701, PHE106, HIS711.
		Neocitricin ((2S)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-2,3-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one)	ARG222, ARG110, ASN542, PHE544, HIS711, VAL710.
		(Asam rosmarinic) (2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid	PHE106, ARG102, ARG110, TRP693, ARG717, HIS711, VAL710, ASP709.
3.	Lengkuas Belang (<i>Alpinia zerumbet</i>)	(5,6-dihidrokawain) (3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide	ARG222, HIS711, ALA543, ASN542.

oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one, dan senyawa ((2S)-7(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one) dari tanaman jeruk; senyawa((2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid) dari bunga lavender dan senyawa (4-(3,5-dihydroxyphenoxy)dibenzo-p-dioxin-1,3,6,8-tetrol) dari tanaman rumput laut. Nilai ChemPLP senyawa uji tertinggi berdasarkan hasil uji *in silico* yaitu senyawa asam rosmarinic

dengan nilai -69.4736. Senyawa tersebut dapat dikembangkan dan diteliti lebih lanjut sebagai inhibitor pada enzim hyaluronidase.

Elusidasi Moda Ikatan.

Elusidasi moda ikatan adalah suatu metode yang dilakukan untuk melihat interaksi antara ligan dan asam amino dalam binding site reseptor. Asam amino yang berinteraksi dengan ligan pembanding (*control positif*) ditunjukkan pada Tabel 4.

Senyawa ECGC (kontrol positif) berikatan dengan sekuen asam amino pada binding site

5JMY (enzim elastase) yaitu ARG222 dengan jarak 5,44 Å, TYR398 dengan jarak 6,72 Å, HIS711 dengan jarak 10,00 Å, ARG222 dengan jarak 7,89 Å, HIS711 dengan jarak 2,50 Å, dan PHE544 dengan jarak 6,76 Å. Sedangkan senyawa asam oleanat berikatan dengan sekuen asam amino pada binding site 5JMY (enzim elastase) yaitu sekuen LEU741 dengan jarak 7,02 Å, sedangkan

pada sekuen LEU741 dengan jarak 3,91 Å, pada sekuen LEU672 dengan jarak 6,34 Å dan pada sekuen LEU741 dengan jarak 1,54 Å.

Asam – asam amino dalam binding pocket protein yang berinteraksi dengan ligan aktif penghambat elastase dan penghambat hyaluronidase ditunjukkan pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Tabel 6. Asam Amino pada Binding Pocket Reseptor Hyaluronidase (2J1E) yang berinteraksi dengan ligan aktif.

No	Tanaman	Nama IUPAC Senyawa dari Tanaman	Jenis Asam Amino
1	Lengkuas Belang (<i>Alpinia serumbet</i>)	(3R)-3-(4-ethylphenyl)-N-[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]butanamide Butyl 2,2-dimethyl-4-oxo-3H-pyran-6-carboxylate	TRP657, LEU672, VAL763, ILE698, ALA760. LEU672, ILE698, VAL743, ALA648.
2	Pinang (<i>Areca catechu</i> L.)	(2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxy-3-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one) (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-yl]oxychromen-4-one) (disodium;(2R)-3-(2-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-[2-methoxy-4-(3-sulfonatopropyl)phenoxy]propane-1-sulfonate)	ALA760, ALA763, VAL763, VAL743, LEU672, LEU674, THR673, HIS671, ASN764, TYR687, LYS686. LEU742, LEU741, LEU672, HIS671, ILE631, ALA648, ALA760, LYS686, TYR701, LYS702. LEU672, LEU741, HIS671, HOH207, ALA688, ALA760, LYS686.
3	Teh (<i>Camellia sinensis</i> Kuntze)	(3,4,5-trihydroxybenzoic acid)	LEU672, GLU763
4	Jeruk (<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>Amara</i>)	2S)-5-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-trihydroxy-6-[(2R,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxymethyl]oxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one (2S)-7-[(2S,3R,4S,5S,6R)-4,5-dihydroxy-6-(hydroxymethyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxyoxan-2-yl]oxy-2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-2,3-dihydrochromen-4-one	VAL763, LEU672, TYR687, HIS671, ILE698. ILE698, ILE741, HIS761, TRP657, ALA760, ARG697, PRO689, THR699, THR759, ALA648, HIS671, HOH207, SER635.
5	Bunga Mawar (<i>Rosa centifolia</i> L.)	(2S,3R,4S,5R,6S)-3,4,5,6-tetrahydroxoxane-2-carboxylic acid	LEU672, LEU741, VAL763.
6	Rumput Laut (<i>Eucheuma spinosum</i>)	4-(3,5-dihydroxyphenoxy)dibenzo-p-dioxin-1,3,6,8-tetrol	LEU672, VAL763, ALA648, LEU674, GLU762, LYS686, TYR687, ILE729, VAL743, HIS670, HIS671, ALA633, ILE631, LEU674.
7	Bunga Lavender	(2R)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxypropanoic acid	LEU672, LEU741, VAL763, ASN764, LYS686, LEU720, TYR701, THR632, HIS671, ILE631.

KESIMPULAN

Dari 31 senyawa uji pada 10 tanaman *antiaging* terdapat 4 senyawa aktif menghambat enzim elastase dan 11 senyawa aktif menghambat enzim hyaluronidase.

DAFTAR PUSTAKA

1. Thring TSA, Hili P, Naughton DP. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2009;9(1):27.
2. Review, Peer activity of earthworm extracts as potential new anti-aging agent A nti-elastase , 2014: 4: Suppl 1: 3-7
3. Chompoo J, Upadhyay A, Fukuta M, Tawata S. Effect of *Alpinia zerumbet* components on antioxidant and skin diseases-related enzymes. BMC Complement Altern Med [Internet]. 2012;12(1):106.
4. Lee, K.K., & Choi, J.D. (1999), "The Effects of *Areca Catechu* L Extract. II. On Anti-Inflammation and Anti-Melanogenesis". International Journal of Cosmetic Science. 21, 275–284.
5. Awang, M.N. (1986). "Estimation of Arecoline Contents in Commercial Areca (Betel) Nuts and Its Relation to Oral Precancerous Lesions". Singapore Medicine Journal. 27, (4), 317-320
6. <https://www.rcsb.org/structure/3TS4> diakses 19 Januari 2017
7. <https://www.rcsb.org/structure/3UVC> diakses 19 Januari 2017
8. <https://www.rcsb.org/structure/4NZL> diakses 19 Januari 2017
9. <https://www.rcsb.org/structure/5A8Y> diakses 19 Januari 2017
10. <https://www.rcsb.org/structure/5A8Z> diakses 19 Januari 2017
11. <https://www.rcsb.org/structure/5A09> diakses 19 Januari 2017
12. <https://www.rcsb.org/structure/5JMY> diakses 19 Januari 2017
13. <https://www.rcsb.org/structure/2J1E> diakses 19 Januari 2017
14. <https://www.rcsb.org/structure/2PE4> diakses 19 Januari 2017
15. <https://www.rcsb.org/structure/5DIY> diakses 19 Januari 2017
16. Korb O, Stützle T, Exner TE. PLANTS: Application of Ant Colony Optimization to Structure-Based Drug Design. Lect notes Comput Sci vol 4150 Ant colony Optim swarm Intell - ANTS2006 Proc. 2006;4150:247–58.