

Pendekatan Insilico Kandidat Obat Dislipidemia dari Daun Binahong Sebagai Inhibitor Hmg-Coa

Refga Utama*¹, Ade Kiki Riezky¹, M. Hendro Mustaqim¹

¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Abulyatama, Aceh Besar, 23372, Indonesia.

*Email korespondensi: murtirahmah99@gmail.com

Diterima 20 Januari 2022; Disetujui 15 Februari 2022; Dipublikasi 29 April 2022

Abstract: *Dyslipidemia is a metabolic syndrome that is often found in society. Dislipidemia therapy is carried out by using statin class compounds to inhibit the HMG-CoA reductase enzyme. Ursolic acid is reported to be present in the leaves of binahong (anredera cordifolia) which is widely used as an herbal plant. This study aims to determine the effectiveness of ursolic acid as an inhibitor of the in-silico HMG-CoA reductase enzyme. Molecular docking was performed using AutoDock vina 4.0 software. Ursolic acid was downloaded from the pubchem.ncbi page. The results showed that the free energy of gibbs was -7.2 kcal / mol and an RMSD value of 0.998 Å. This shows that the interaction formed between the receptor and ursolic acid is stable and the reaction can take place spontaneously. The interaction between the receptor and ursolic acid occurs at the amino acid residues Lys A: 691, Arg A: 590, Asp A: 690, Ser A: 684, Lys B: 735, Ser A: 661, Val A: 683, Ala B : 751, Leu B: 853, Leu and His B: 752 which are the active side of the HMG-CoA reductase enzyme. According to Lipinski's rules, it shows that ursolic acid can't be used orally as an antihypercholesterolemic therapy.*

Keywords: *Ursolic acid, HMG-CoA reductase, Dyslipidemia*

Abstrak: Dislipidemia merupakan sindrom metabolik yang sering ditemukan dalam masyarakat. Terapi dislipidemia dilakukan dengan menggunakan senyawa golongan statin untuk menghambat enzim HMG-CoA reduktase. Asam ursolat dilaporkan terdapat dalam daun binahong (*anredera cordifolia*) yang banyak digunakan sebagai tanaman herbal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas asam ursolat sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase secara in-silico. Penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *AutoDock vina 4.0*. Senyawa asam ursolat diunduh dari laman *pubchem.ncbi*. Hasil penelitian diperoleh energi bebas gibbs sebesar -7.2 kkal/mol dan nilai RMSD 0.998 Å. Hal tersebut menunjukkan bahwa interaksi yang terbentuk antara reseptor dan asam ursolat stabil dan reaksi dapat berlangsung spontan. Interaksi yang terbentuk antara reseptor dan asam ursolat terjadi pada residu asam amino Lys A:691, Arg A:590, Asp A:690, Ser A:684, Lys B:735, Ser A:661, Val A:683, Ala B:751, Leu B:853, Leu dan His B:752 yang merupakan sisi aktif enzim HMG-CoA reduktase. Berdasarkan aturan Lipinski menunjukkan bahwa asam ursolat tidak dapat digunakan secara oral sebagai terapi antihiperkolesterolemia.

Kata kunci : *Asam Ursolat, HMG-CoA reduktase, Dislipidemia*

Era globalisasi telah mengubah gaya hidup masyarakat Indonesia seperti konsumsi makanan

siap saji, berlemak, dan jarang berolahraga. Perubahan gaya hidup berdampak pula pada

perubahan pola penyakit, dari penyakit menular ke penyakit tidak menular seperti penyakit jantung iskemik (PJI). Ada beberapa faktor kemungkinan penyebab jantung iskemik, salah satunya adalah dislipidemia. Dislipidemia sebagai salah satu faktor kemungkinan penyebab penyakit jantung iskemik (PJI) merupakan suatu kelainan salah satu atau keseluruhan metabolisme lipid yang dapat berupa peningkatan ataupun penurunan profil lipid dari keadaan normal, meliputi peningkatan kadar kolesterol, peningkatan kadar *Low Density Lipoprotein* (LDL), peningkatan kadar trigliserida, dan penurunan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL).¹

Dislipidemia adalah kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan fraksi lipid dalam plasma. Beberapa kelainan fraksi lipid yang utama adalah kenaikan kadar kolesterol total, kolesterol LDL, dan atau trigliserida, serta penurunan kolesterol HDL. Dislipidemia dalam proses terjadinya aterosklerosis semuanya memiliki peran yang penting dan sangat berkaitan satu dengan yang lain, sehingga tidak mungkin dibahas sendiri-sendiri. Ketiganya dikenal sebagai triad lipid^{2,3}

Lipid dalam plasma terdiri dari kolesterol, trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak bebas. Normalnya lipid ditranspor dalam plasma darah berikatan dengan protein yang berbentuk lipoprotein.⁴ Ikatan protein dan lipid tersebut menghasilkan 4 kelas utama lipoprotein bergantung pada kandungan lipid dan jenis apoproteinnya: kilomikron, VLDL, LDL, dan HDL. Peningkatan lipid dalam darah akan mempengaruhi kolesterol, trigliserida dan keduanya (hiperkolesterolemia,

hipertrigliseridemia atau kombinasinya yaitu hiperlipidemia).⁵

Pasien dengan hiperkolesterolemia (>200-220 mg/dl serum) merupakan gangguan yang bersifat familial, berhubungan dengan kelebihan berat badan dan diet. Makanan berlemak meningkatkan sintesis kolesterol di hepar yang menyebabkan penurunan densitas reseptor LDL di serum (>135 mg/dl). Ikatan LDL mudah melepaskan lemak dan kemudian membentuk plak pada dinding pembuluh darah yang selanjutnya akan menyebabkan terjadinya arterosklerosis dan penyakit jantung koroner.⁵

Enzim 3-hidroksi-3-metil-glutaril-koenzim A (HMG-CoA) reduktase adalah enzim kunci dari jalur mevalonat yang menghasilkan kolesterol. Penghambatan HMG-CoA reduktase mengurangi biosintesis kolesterol di hati. Obat-obatan sintesis seperti obat golongan statin merupakan golongan obat yang biasanya digunakan untuk pengobatan hiperkolesterolemia. Statin sebagai inhibitor HMG-CoA reduktase berfungsi sebagai katalitis, sehingga menghalangi akses substrat ke bagian aktif. Melalui mekanisme ini, sintesis mevalonate dicegah, akhirnya mengarah pada penurunan kandungan kolesterol dalam hepatosit. Untuk mengkompensasi berkurangnya ini, sel-sel mengaktifkan mekanisme seperti meningkatkan jumlah reseptor LDL di membran sel. Akibatnya, kadar kolesterol LDL dalam aliran darah berkurang.⁶

Biosintesis kolesterol secara langsung diatur oleh kadar kolesterol. Oleh karena itu peningkatan kadar kolesterol akibat pola makan akan menyebabkan penurunan produksinya, dan

sebaliknya. Hal ini juga diketahui bahwa mekanisme peraturan penting dari homeostasis kolesterol intraseluler dimediasi oleh protein regulasi yang mengikat sterol elemen, faktor-faktor transkripsi yang mengatur gen penting yang terlibat dalam metabolisme kolesterol, seperti encoding HMG-CoA reduktase. Selain itu, diketahui bahwa gen reseptor LDL pengkodean diatur oleh protein regulasi yang mengikat sterol elemen. Ketika kolesterol menurunkan tingkat intraseluler, protein regulasi yang mengikat sterol elemen memainkan peran ganda: HMG-CoA reduktase diregulasi dalam rangka untuk mensintesis molekul kolesterol baru dan ekspresi dari reseptor LDL juga meningkat, yang mengarah ke pembesaran berikutnya dari reseptor dimediasi penyerapan LDL dalam rangka untuk memulihkan konsentrasi intraseluler kolesterol.

Manifestasi penyakit dislipidemia yang kadang tidak menunjukkan gejala yang spesifik kadang kala membuat penanganan penyakit ini menjadi terlambat dan terdiagnosa apabila telah muncul penyakit komplikasi. Pemberian pelayanan kefarmasian untuk penyakit dislipidemia dapat menjadi salah satu upaya dalam mencegah perkembangan penyakit ini. Pemberian terapi farmakologi pada penyakit dislipidemia meliputi proses etiologi dari penyakit itu sendiri yaitu dari sumber ekstrinsik dan proses intrinsik. Golongan obat yang sampai saat ini digunakan untuk menangani penyakit dislipidemia meliputi niasin, *bile acid-binding resin* dan *Hydroxymethylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) Reductase Inhibitors (Statin)*.⁷

Indonesia kaya akan rempah-rempah dari

ujung Sabang sampai ke Marauke. Indonesia dengan penduduk hampir mencapai 300 juta jiwa memiliki 30.000 spesies tumbuhan dan 940 di antaranya tumbuhan berkhasiat jenis. Salah satu tanaman di Indonesia yang dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional adalah tanaman binahong. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia (tenore) steenis*) merupakan tanaman merambat berbatang kecil, memiliki rhizome yang kuat serta memiliki daun yang relatif tidak besar.⁸

Flavonoid yang terkandung di daun binahong kering dan segar 11,23mg/kg dan 7,81mg/kg. Jenis flavonoid yang diperoleh dari hasil isolasi dan indentifikasi serbuk segar dan serbuk kering ekstrak etanol daun binahong adalah vintexin, kaemferol dan asam ursolat, secara umum dari beberapa tanaman dilaporkan memiliki fungsi medis dalam bidang kesehatan. Pada (*anredera cordifolia (tenore) steenis*) memiliki aktifitas sebagai antioksidan.⁹

Dari latar belakang tersebut peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tentang pengaruh senyawa aktif dari daun binahong sebagai inhibitor HMG-CoA pada dislipidemia dengan metode *In silico*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dengan menggunakan metode *In silico*, yaitu untuk menguji senyawa aktif dari daun binahong yaitu asam ursolat terhadap dislipidemia menggunakan perangkat lunak AutoDock Vina.

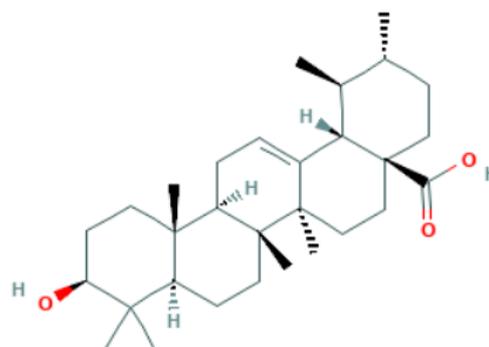
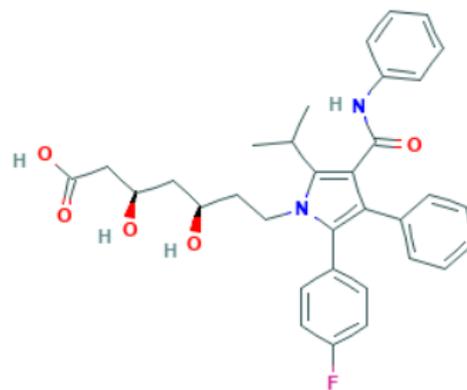
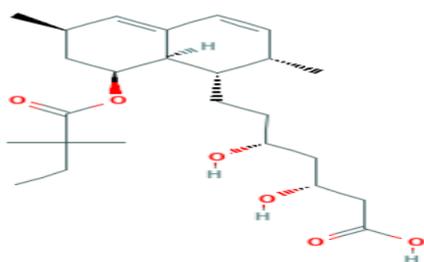
Penelitian ini dilakukan di Universitas Abulyatama dengan rentang waktu Februari – April 2021. Penelitian ini dilakukan menggunakan cara *in silico* yaitu alat yang digunakan adalah

komputer atau laptop. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini terbagi atas beberapa, yaitu perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras digunakan dalam penelitian ini memiliki spesifikasi *Random Access Memory* (RAM) 8GB, prosesor Intel Core I5 3,0 GHz, komputer memiliki perangkat yang dilengkapi dengan perangkat lunak Marvin Sketch 6,0, Autodock Vina, Pymol 1,3, LigPlot ++ 1.4.5, *Discovery Studio*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur molekul *asam ursolat* sebagai ligan dan menggunakan reseptor HMG-CoA reduktase sebagai zat pembandingnya adalah atorvastatin ligan pembanding.

HASIL DAN PEMBAHASAN

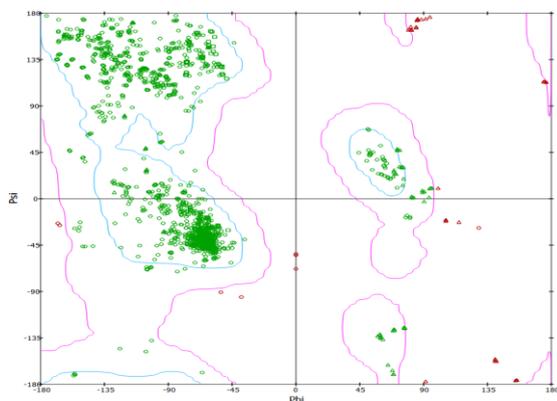
Pada penelitian ini digunakan asam ursolat sebagai ligan atau senyawa yang berfungsi untuk menghambat enzim HMG-CoA Reduktase. Struktur dan stabilitas ligan yang digunakan sangat berpengaruh pada efektifitas penghambatan yang dilakukan sehingga dapat digunakan sebagai kandidat obat herbal. Jika ligan yang digunakan merupakan senyawa yang baru dan belum ada data pada Pubchem.ncbi maka terlebih dahulu ligan uji harus dilakukan minimisasi energi untuk menepatkan posisi ligan pada keadaan yang paling stabil. Struktur 2D ligan yang digunakan ditunjukkan pada Gambar 1.



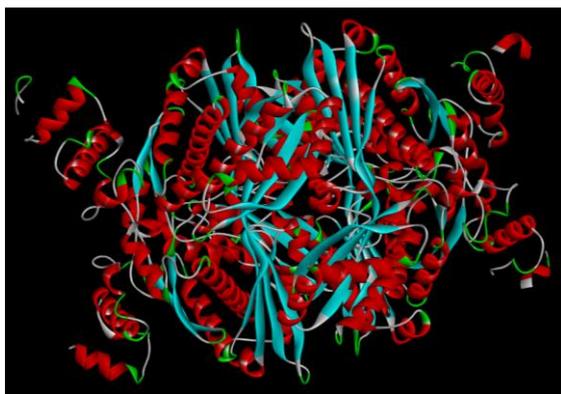
Gambar 1. Struktur 2D Ligan, A. Asam Simvastatin, B. Atorvastatin, C. Asam ursolat Struktur dan Stabilitas Reseptor

Pada penelitian ini, reseptor atau enzim yang digunakan yaitu enzim *Hidroksimethylglutaryl Coenzyme A Reductase* (HMG-CoA Reduktase/HMGR). Struktur 3D enzim tersebut diunduh dari halaman website uniprot.org dengan kode PDB ID: 1HW9. Enzim HMG-CoA reduktase memiliki empat subunit protein dengan panjang residu asam amino sebanyak 1868 residu. Enzim tersebut berikatan dengan ligan yaitu senyawa asam simvastatin yang merupakan inhibitor enzim HMG-CoA. Sisi katalitik HMGR terletak pada posisi residu 428 hingga 888.¹⁰ Struktur 3D enzim HMGR ini diperoleh dari hasil difraksi X-Ray dengan resolusi 2.33 Å. Stabilitas struktur 3D suatu reseptor dapat dilihat dari

diagram Ramachandran (Gambar 2). Berdasarkan hasil analisis diagram Ramachandran dapat dikatakan bahwa struktur 3D reseptor yang digunakan sangat baik yang ditinjau dari hanya beberapa residu asam amino yang berada diluar daerah terlarang selain glisin. Hasil analisis diagram Ramachandran diperoleh 94% residu asam amino berada pada daerah yang disukai (*favoured*), 5% residu asam amino berada pada daerah yang diinginkan (*Allowed*) dan 1% berada pada daerah yang dihindari (*outlier*).



Gambar 2. Diagram Ramachandran enzim HMG-CoA Reduktase

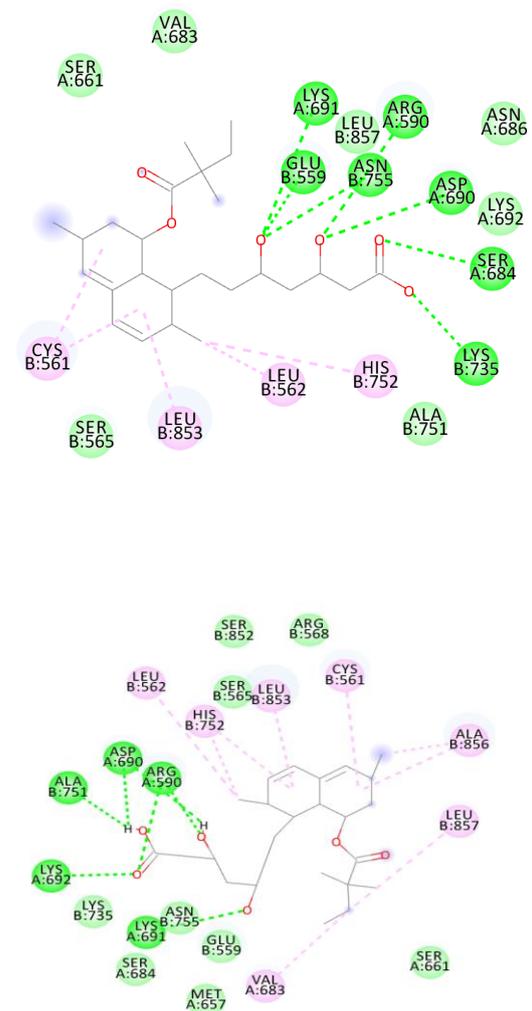


Gambar 3. Struktur tiga dimensi enzim HMG-CoA Reduktase (PDB ID:1HW9)

Validasi metode penambatan

Validasi metode penambatan dilakukan untuk memastikan posisi *grid box* yang digunakan tepat pada posisi sisi aktif enzim HMGR sebagai target

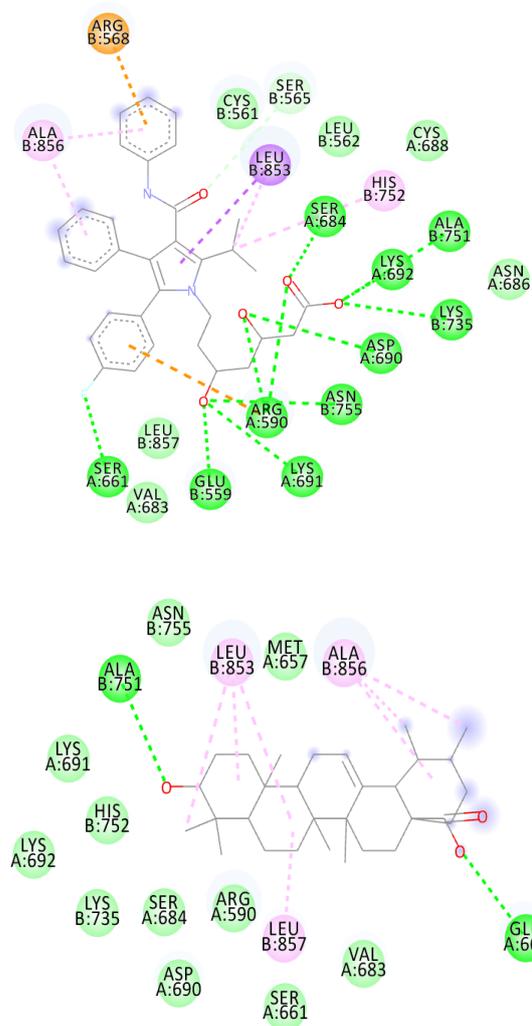
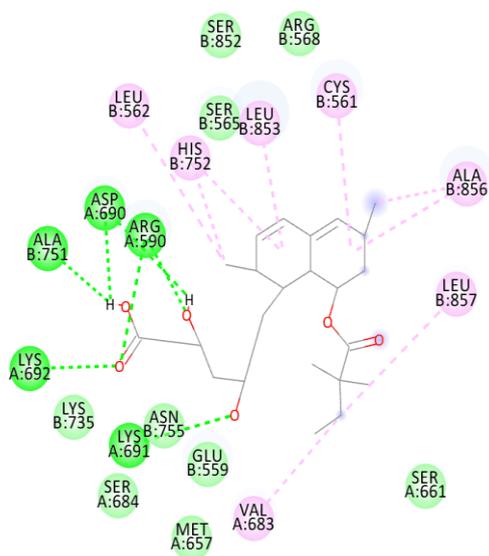
penambatan. Validasi metode dilakukan dengan menambatkan ulang (*redocking*) ligan bawaan enzim MHG (asam simvastatin). *Redocking* dilakukan dengan menggunakan posisi *grid box* pada dimensi x, y dan z (40, 40 dan 40) sedangkan pusat x= 5.889, pusat y= 6.472 dan pusat z= 13.222. Hasil *redocking* diperoleh nilai *root mean square deviation* (RMSD) sebesar 0.873. dan energi afinitas yang dihasilkan sebesar -7.4 kkal/mol.



Gambar 4. Interaksi ligan dan reseptor sebelum *docking* (A) dan interaksi ligan *redocking* (B)

Penambatan Molekuler

Hasil penambatan molekuler diketahui bahwa ligan bawaan (asam simvastatin) memiliki 5 ikatan hidrogen yang berinteraksi dengan residu asam amino Arg A:590, Asp A:690, Ala B:751, Lys A:692 dan Lys A:691. Selain ikatan hidrogen juga terdapat jenis ikatan lain yang terbentuk antara reseptor dan ligan bawaan yaitu ikatan Pi serta gaya van der Waals. Senyawa atorvastatin digunakan sebagai ligan pembanding. Atorvastatin memiliki ikatan hidrogen lebih banyak dibandingkan dengan asam simvastatin yaitu sebanyak 10 ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen tersebut terbentuk dengan residu asam amino Ser A:661, Glu B:559, Arg A:590, Lys A:691, Asn B:755, Asp A:690, Lys B:735, Lys A:692, Ser A:684 dan Ala B:751. Visualisasi interaksi reseptor dan ligan ditunjukkan pada Gambar 4



Gambar 5. Visualisasi interaksi ligan dan reseptor, A Asam Simvastatin, B. Atorvastatin, C. Asam Ursolat

Ligan uji pada penelitian ini menggunakan senyawa asam ursolat. Interaksi asam ursolat dengan reseptor terbentuk ikatan hidrogen sebanyak 2 ikatan yaitu pada residu asam amino Ala B:751 dan Glu A:665. Interaksi yang terbentuk menghasilkan energi bebas Gibbs (ΔG) sebesar -7,2 kkal/mol. Interaksi setiap ligan ditunjukkan pada Gambar 4. Dibandingkan dengan ligan kontrol dan ligan pembanding, ΔG tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Ligan kontrol memiliki ΔG sebesar -7.4 kkal/mol dan ligan pembanding memiliki ΔG sebesar -7.2 kkal/mol.

Tabel 1. Penambahan Molekuler Ligan

Ligan	Energi Bebas Gibbs (ΔG)	RMSD (\AA)	Residu Asam Amino Berikatan Hidrogen	Jarak Ikatan Hidrogen (\AA)	Konstanta Inhibisi
Asam Simvastatin	-7.4	0.873	Arg A:590, Asp A:690, Ala B:751, Lys A:684 Lys B:559 Asn B:755	2.97 dan 3.01 3.33 dan 3.14 3.25 2.88 3.34 3.14	
Atorvastatin	-7.2	1.505	Ser A:661, Glu B:559, Arg A:590, Lys A:691, Asn B:755, Asp A:690, Lys B:735, Lys A:692, Ser A:684, Ala B:751	2.89 2.78 2.90, 3.15, 3.13 dan 4.11 2.83 3.22 2.93 2.81 2.88 2.78 2.97	
Asam Ursolat	-7.2	0.998	Ala B:751 Glu A:665	3.27 3.08	

Analisis Aturan Lipinski

Aturan Lipinski dilakukan dengan secara online melalui website <http://www.scfbio-itt.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Ligan yang yang memenuhi aturan Lipinski menandakan bahwa ligan tersebut memenuhi syarat sebagai obat oral. Aturan Lipinski terdiri atas lima ketentuan yang harus dipenuhi untuk memenuhi syarat sebagai obat oral yaitu massa atom reaktif kurang dari \leq

500 Da, donor ikatan ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , $\log P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar berkisar 40-130. aturan lipinski berkaitan dengan keadaan absorpsi, distribusi, metabolisme serta ekskresi senyawa tersebut. Berdasarkan hasil analisis lipinski diketahui bahwa asam simvastatin memenuhi seluruh syarat obat oral, sedangkan atorvastatin dan asam ursolat melanggar aturan massa atom relatif, $\log p$, dan refraktivitas molar dari 5 aturan lipinski.

Tabel 2. Aturan Lipinski

Ligan	Massa atom relatif (Da)	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log P	Refraktivitas molar
Asam Simvastatin	396	0	6	-0.994	93.439
Atorvastatin	558	4	6	6.313	157.246
Asam Ursolat	456	2	3	7.089	132.611

Pembahasan

Struktur dan Stabilitas Ligan

Senyawa asam simvastatin juga dikenal dengan tenivastatin. Tenivastatin memiliki struktur dengan dua gugus benzene, asam karboksilat, ester dan gugus hidroksi. Tenivastatin merupakan salah satu obat komersil golongan statin yang digunakan sebagai terapi dislipidemia khususnya dengan cara menghambat kinerja enzim HMG-CoA reduktase.¹¹ Ditinjau dari aturan Lipinski, tenivastatin memenuhi seluruh aturan Lipinski sehingga tenivastatin dapat digunakan sebagai obat oral. Atorvastatin juga merupakan inhibitor HMGR golongan statin yang sering digunakan untuk terapi hiperlipidemia. Secara umum atorvastatin memiliki gugus asam karboksilat dan gugus amino. Namun ditinjau dari aturan Lipinski, atorvastatin melanggar dua ketentuan aturan Lipinski sebagai syarat obat oral.

Struktur dan Stabilitas Reseptor

Enzim HMG-CoA reduktase merupakan enzim yang memiliki peran utama dalam memproduksi kolesterol dihati. Mekanisme enzim HMG-CoA reduktase yaitu dengan cara mengkonversi HMG-CoA menjadi asam mevalonate. Asam mevalonate merupakan prekursor kolesterol.¹² Reseptor yang digunakan HMG CoA reduktase yang berasal dari manusia dengan kode PDB ID: 1HW9. Enzim tersebut memiliki 4 subunit yang identik dengan inhibitor bawaan yaitu asam simvastatin atau disebut juga tenivastatin.

Struktur 3D reseptor diperoleh dari situs *uniprot.org*. Struktur 3D dibuat dengan menggunakan X-Ray dan resolusi 2.33 Å.

Berdasarkan data resolusi menyatakan bahwa reseptor yang digunakan dalam keadaan stabil dengan katagori resolusi sedang dan dapat digunakan sebagai bahan penelitian. Resolusi difraksi dibagi menjadi empat kategori yaitu kategori rendah (>3.0 Å), kategori sedang (2.7-2.0 Å), kategori tinggi (2.0-1.2 Å) dan kategori atomik (1.2-0.65 Å).²⁴ Stabilitas geometri reseptor dapat ditinjau dari diagram Ramachandran. Berdasarkan hasil analisis diagram Ramachandran diperoleh bahwa terdapat 94% residu asam amino berada pada daerah yang disukai (*favoured*), 5% residu asam amino berada pada daerah yang diinginkan

(*Allowed*) dan 1% berada pada daerah yang dihindari (*outlier*). Hal tersebut dapat menyatakan bahwa struktur geometri reseptor berada pada keadaan stabil.

Validasi Penamatan Molekuler

Validasi metode penambatan dilakukan untuk mengetahui posisi *grid box* yang gunakan tepat pada sisi aktif reseptor. Sebuah metode validasi dapat dikatakan valid jika nilai rmsd yang dihasilkan tidak lebih dari 2.0 Å.¹³ validasi metode dilakukan dengan cara menambatkan kembali ligan bawaan (asam simvastatin) yang melekat pada reseptor. Asam simvastatin merupakan salah satu inhibitor komersial yang sering digunakan untuk terapi hiperkolesterolemia. Ada beberapa senyawa golongan statin yang dapat digunakan sebagai inhibitor HMG-CoA Reduktase yaitu simvastatin, atorvastatin, Fluvastatin dan lainnya. Berdasarkan hasil validasi metode penambatan diperoleh bahwa nilai rmsd sebesar 0.873 Å, sehingga dapat dikatakan *grid box* yang digunakan valid. Asam simvastatin sebelum diberikan perlakuan diketahui

berikatan dengan residu asam amino Lys A:691, Arg A:590, Asp A:690, Ser A:684, Lys B:735, Ser A:661, Val A:683, Asn A:686, Lys A:692, Ala B:751, Ser B:565, Cys B:561, Leu B:853, Leu B:562, dan His B:752. Setelah dilakukan penambatan ulang diperoleh 93% kesamaan dengan interaksi ligan sebelum dilakukan penambatan dan posisi ligan berada pada posisi yang sama. Dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa sisi aktif enzim HMG-CoA reduktase yaitu pada residu asam amino Ser684, Asp690, Lys691, Asp 767, Glu559, Asn755, Leu853, dan His 866.¹⁴

Penambatan Molekuler

Hasil penambatan molekuler diperoleh bahwa tingkat kesamaan interaksi ikatan ligan kontrol dan pembanding sebesar 100%. Dibandingkan dengan asam ursolat, asam ursolat memiliki kesamaan 74% dengan ligan kontrol. Namun bila dibandingkan dengan ligan pembanding, asam ursolat memiliki kesamaan 86%. Ligan pembanding merupakan ligan komersil yang sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari untuk terapi hiperkolesterolemia yang bertujuan menghambat kinerja enzim HMG-CoA reduktase. Atorvastatin digunakan secara oral dengan dosis 20-40 mg perhari.²⁷

Seluruh residu asam amino pada ligan kontrol dimiliki oleh ligan pembanding, namun ada residu asam amino pada ligan pembanding yang tidak berintegrasi dengan reseptor pada ligan kontrol yaitu Asn A:688. Kesamaan interaksi dari setiap ligan kontrol, ligan pembanding dan ligan uji terhadap reseptor. Namun, terdapat perbedaan ikatan yang terjadi antara reseptor dan ligan. Ikatan

hidrogen merupakan ikatan yang baik dalam tahap pengembangan obat herbal. Ikatan hidrogen. Sebuah ikatan hidrogen dapat dikatakan stabil apabila Panjang ikatan $< 2.7 \text{ \AA}$. Namun, jika Panjang ikatan hidrogen lebih dari 2.7 \AA maka ikatan tersebut dikatakan lemah.¹⁵ Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh bahwa Panjang ikatan hidrogen dari setiap ligan lebih dari 2.7 \AA sehingga dapat disimpulkan bahwa ikatan hidrogen pada ligan merupakan ikatan yang lemah.

Ketepatan posisi interaksi antara ligan dan reseptor menyatakan bahwa ligan atau senyawa yang digunakan merupakan inhibitor untuk menghambat kinerja enzim HMG-CoA reduktase. Interaksi ligan dan reseptor yang diperoleh diketahui merupakan sisi aktif yaitu residu asam amino Ser684, Asp690, Lys691, Asp 767, Glu559, Asn755, Leu853, dan His 866.¹⁴ Hasil penambatan yang efektif juga ditinjau dari nilai RMSD. Nilai RMSD dapat dinyatakan efektif apabila $< 2.0 \text{ \AA}$.¹³ berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa nilai RMSD dari setiap ligan tidak lebih dari 2.00 \AA yang dapat disimpulkan bahwa ligan-ligan tersebut efektif untuk menghambat enzim HMG-CoA reduktase.

Selain dari nilai RMSD dan ikatan yang terbentuk, energi bebas Gibbs (ΔG) menjadi hal terpenting pada penambatan molekul. Energi bebas Gibbs (ΔG) merupakan potensial termodinamika yang diminimalkan saat sistem mencapai keseimbangan pada tekanan dan suhu yang konstan. ΔG memberikan informasi spontanitas reaksi. Reaksi akan berjalan spontan jika nilai ΔG bernilai < 0 .¹⁶ Maka semakin negatif nilai ΔG maka interaksi dan ligan akan semakin spontan. Data

hasil penelitian diperoleh nilai ΔG asam simvastatin, atorvastatin dan asam ursolat secara berturut-turut yaitu sebesar -7.4 kkal/mol, -7.2 kkal/mol dan -7.2 kkal/mol. Hal ini menandakan bahwa reaksi yang berlangsung antara reseptor dan ligan dapat berjalan spontan. Jika dibandingkan dengan obat/senyawa komersial yang sering digunakan, asam ursolat yang terkandung dalam daun binahong memiliki nilai ΔG yang tidak berbeda jauh dengan asam simvastatin dan atorvastatin.

Berdasarkan data-data hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa asam ursolat dapat digunakan sebagai inhibitor HMG-CoA reduktase. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa asam ursolat dapat menekan biosintesis kolesterol serta memberikan efek anti kanker pada sel karsinoma hepatoseluler.¹⁷

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa asam ursolat yang terdapat dalam daun binahong berpotensi sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase sebagai terapi herbal hiperkolestolemia. Hal tersebut diketahui dari hasil penambatan molekuler asam ursolat yang berinteraksi dengan sisi aktif enzim HMG-CoA reduktase pada residu asam amino Lys A:691, Arg A:590, Asp A:690, Ser A:684, Lys B:735, Ser A:661, Val A:683, Ala B:751, Leu B:853, Leu dan His B:752. Hal tersebut juga diperkuat dengan nilai energi bebas Gibbs sebesar -7.2 kkal/mol yang menandakan reaksi dapat berjalan spontan. Ditinjau dari aturan

Lipinski asam ursolat tidak dapat digunakan secara oral.

Saran

Penelitian ini memerlukan penelitian lanjutan untuk menjadikan asam ursolat sebagai senyawa fitofarmaka yang berfungsi sebagai inhibitor enzim HMG-CoA reduktase. Penelitian secara invitro dan invivo diperlukan untuk memperkuat penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anneke R. Review: Terapi Herbal Sebagai Alternatif Pengobatan Dislipidemia. *Farmaka*. 2018;16(1):316–323. doi:10.24198/JF.V16I1.17495
- Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia (PERKI). *Pedoman Tatalaksana Dislipidemia*. Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskular Indonesia; 2013.
- Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. *Panduan Pengelolaan Dislipidemia di Indonesia*. Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia; 2015.
- Sherwood L. *Fisiologi Manusia: dari sel ke sistem*. 6 ed. EGC; 2011.
- Nix S. *William's Basic Nutrition & Diet Therapy*. Elsevier Mosby; 2012.
- Oliveira EF, Santos-Martins D, Ribeiro AM, dkk. HMG-CoA Reductase inhibitors: an updated review of patents of novel compounds and formulations (2011-2015). *Expert Opin Ther Pat*. 2016;26(11):1257–1272. doi:10.1080/13543776.2016.1216977

- Santoso A, Putranto JNE, Tedjasukmana P, Rifqi S, Kasiman S. Pedoman Tatalaksana Dislipidemia PERKI 2013. *J Kardiologi Indones*. 2013;34(4).
- Zamroni S, Ernawati M. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia; 2017.
- Selawa W, Runtuwene MRJ, Citraningtyas G. Kandungan flavonoid dan kapasitas antioksidan total ekstrak etanol daun binahong [Anredera cordifolia(Ten.)Steenis.]. *Pharmakon J Ilm Farm*. 2013;2(01):18–23.
- Istvan ES, Palnitkar M, Buchanan SK, Deisenhofer J. Crystal structure of the catalytic portion of human HMG-CoA reductase: Insights into regulation of activity and catalysis. *EMBO J*. 2000;19(5):819–830. doi:10.1093/emboj/19.5.819
- Backman JT, Kyrklund C, Kivistö KT, Wang J, Neuvonen PJ. Plasma concentrations of active simvastatin acid are increased by gemfibrozil. *Clin Pharmacol Ther*. 2000;68(2):122–129. doi:10.1067/mcp.2000.108507
- Haslinger-Löffler B. Multiple effects of HMG-CoA reductase inhibitors (statins) besides their lipid-lowering function. *Kidney Int*. 2008;74(5):553–555. doi:10.1038/ki.2008.323
- Xiao W, Wang D, Shen Z, Li S, Li H. Multi-body interactions in molecular docking program devised with key water molecules in protein binding sites. *Molecules*. 2018;23(9):1–24.
- Gesto DS, Pereira CMS, Cerqueira NMFS, Sousa SF. An atomic-level perspective of HMG-CoA-reductase: The target enzyme to treat hypercholesterolemia. *Molecules*. 2020;25(17):3891. doi:10.3390/molecules25173891
- Itoh Y, Nakashima Y, Tsukamoto S, dkk. N⁺-C-H...O Hydrogen bonds in protein-ligand complexes. *Sci Rep*. 2019;9(1):1–5.
- Suhadi A, Rizarullah R, Feriyani F. Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel J Penelit Kesehatan*. 2019;6(2):55–65. doi:10.22435/SEL.V6I2.1651
- Kim GH, Kan SY, Kang H, dkk. Ursolic acid suppresses cholesterol biosynthesis and exerts anti-cancer effects in hepatocellular carcinoma cells. *Int J Mol Sci*. 2019;20(19). doi:10.3390/ijms20194767