

Potensi Isokuersitrin Sebagai Agen Antihiperpigmentasi Secara *In Silico* Dengan Metode *Molecular Docking*

Ni Luh Ari Krisma Anjani¹, Ni Putu Linda Laksmiani^{2*}

¹ Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
arikrismaanjan@gmail.com

² Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
laksmi@unud.ac.id

*Penulis Korespondensi

Abstrak– Prevalensi hiperpigmentasi di Asia cukup tinggi, salah satunya di Indonesia. Iklim tropis Indonesia dan paparan sinar matahari yang intens berdampak pada peningkatan kejadian hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi merupakan peningkatan produksi melanin yang berakibat pada penggelapan warna kulit. Hiperpigmentasi ini cenderung mengganggu penampilan dan mengurangi kepercayaan diri sehingga mencerahkan warna kulit sering diupayakan banyak orang. Pengobatan terhadap hiperpigmentasi dapat dilakukan dengan menghambat proses sintesis melanin (agen antihiperpigmentasi). Salah satu enzim yang mengatur produksi melanin adalah *D-dopachrome tautomerase*. Isokuersitrin merupakan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan kuat. Hiperpigmentasi dapat dicegah dengan antioksidan melalui mekanisme penghambatan ROS (*Reactive Oxygen Species*). Isokuersitrin umumnya ditemukan dalam tanaman obat, buah-buahan, dan sayuran. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi isokuersitrin secara *in silico* sebagai agen antihiperpigmentasi terhadap *D-dopachrome tautomerase* melalui metode *molecular docking*. Tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah preparasi dan optimasi isokuersitrin menggunakan Hyperchem 8, preparasi *D-dopachrome tautomerase* menggunakan Chimera 1.11.1, validasi metode dan *docking* menggunakan AutoDockTools 1.5.6. Metode *molecular docking* telah dinyatakan valid karena RMSD yang diperoleh sebesar 0,12 Å (tidak lebih dari 3 Å). Energi ikatan menggambarkan afinitas senyawa uji terhadap protein target. Berdasarkan hasil penelitian, energi ikatan isokuersitrin dengan *D-dopachrome tautomerase* sebesar -7,66 kkal/mol sedangkan *native ligand* energi ikatannya sebesar -6,48 kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan nilai energi ikatan senyawa isokuersitrin lebih rendah dibandingkan dengan *native ligand*, sehingga secara *in silico* isokuersitrin berpotensi dikembangkan sebagai antihiperpigmentasi.

Kata Kunci– antihiperpigmentasi, hiperpigmentasi, *in silico*, isokuersitrin, *molecular docking*

1. PENDAHULUAN

Kulit adalah garda pertahanan pertama terhadap lingkungan, dengan epidermis sebagai jaringan terluar yang menyediakan banyak fungsi *barrier*. Kulit menjadi target utama dari radiasi sinar ultraviolet yang dapat memengaruhi warna kulit. Jika paparan sinar matahari berlebih maka akan muncul bercak coklat kehitaman, warna kulit tidak merata, dan kulit menjadi kering [1]. Hiperpigmentasi merupakan peningkatan produksi melanin yang berakibat pada penggelapan warna kulit. Prevalensi hiperpigmentasi di Asia (21%) lebih tinggi dibandingkan dengan benua lain (Afrika 9%, Amerika 8%, dan Eropa 4%). Di Asia, orang Melayu dan India memiliki insidensi PIH (*Post Inflammatory Hyperpigmentation*) yang lebih tinggi dibandingkan dengan orang Cina yang berkulit lebih terang [2]. Angka kejadian hiperpigmentasi di Indonesia cukup tinggi

dikarenakan orang Indonesia memiliki tipe kulit IV dan V dalam *Fitzpatrick skin type* dimana jarang terbakar dan selalu menghitam. Selain itu, iklim tropis Indonesia dan paparan sinar matahari yang intens berdampak pada peningkatan kejadian hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi dianggap sebagai gangguan yang tidak berbahaya, tetapi dapat memengaruhi kualitas hidup yaitu kesehatan emosional dan psikologis seseorang [3].

Sintesis melanin yang meningkat dapat mengakibatkan noda hitam atau pigmentasi lokal pada kulit di bagian tertentu. Warna pada kulit, mata, dan rambut merupakan pigmen yang diberikan oleh melanin. Melanin dihasilkan dari proses melanogenesis oleh melanosit dengan katalis enzim melanogenesis [4]. Terdapat berbagai faktor penyebab hiperpigmentasi diantaranya perubahan hormonal, peradangan, cedera, jerawat, eksim, obat-obatan tertentu, dan paparan sinar UV [5]. Hiperpigmentasi yang menyebabkan penggelapan kulit menimbulkan beberapa masalah khususnya di Indonesia karena paradigma masyarakat tentang konsep cantik dan sehat yaitu salah satunya memiliki kulit yang cerah. Hiperpigmentasi ini cenderung mengganggu penampilan dan mengurangi kepercayaan diri sehingga mencerahkan warna kulit sering diupayakan banyak orang [6].

Perkembangan inovasi di bidang kosmetik semakin pesat, salah satunya produk pencerah wajah yang mengandung agen antihiperpigmentasi. Mekanisme kerja dari agen antihiperpigmentasi adalah dengan menghambat proses sintesis melanin (melanogenesis) dalam tubuh [7]. Salah satu enzim yang mengatur produksi melanin adalah *D-dopachrome tautomerase*. Enzim ini mampu mengubah senyawa dopakrom menjadi DHICA (*5,6 dihidroxyindole-2-carboxy acid*). DHICA selanjutnya diubah oleh enzim *tyrosinase related protein 1* menjadi *Indole-5,6-quinone carboxylic acid* yang akan membentuk eumelanin [8]. Penghambatan enzim *D-dopachrome tautomerase* dapat mengatasi permasalahan penggelapan kulit karena proses pembentukan melanin dihambat.

Salah satu produk pencerah wajah yang direkomendasikan dalam mengatasi hiperpigmentasi adalah hidrokuinon. Penggunaan hidrokuinon dilarang dalam kosmetik sesuai Peraturan BPOM No. 23 Tahun 2019. Hal ini dikarenakan efek samping yang muncul pada kulit meliputi iritasi, eritema, vitiligo, rasa terbakar hingga okronosis eksogen [7]. Hidrokuinon oral dikaitkan dengan kanker dalam studi *in vivo* pada tikus [9]. Selain itu, pemakaian hidrokuinon dengan konsentrasi 4% sebagai inhibitor tirosinase menghasilkan metabolit benzokuinon yang bersifat karsinogenik [10]. Di samping hidrokuinon, agen pencerah yang umum digunakan dalam produk kosmetik adalah asam kojat. Namun asam kojat memiliki efek samping seperti menimbulkan alergi, kemerahan, iritasi, gatal, ruam, dan kulit bengkak. Asam kojat aman digunakan dalam kosmetik dalam konsentrasi 1%, lebih dari itu dapat menyebabkan dermatitis [11]. Berdasarkan efek samping tersebut, agen antihiperpigmentasi dari bahan alam perlu dikembangkan karena menghasilkan efek samping yang lebih sedikit.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Senyawa flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang kuat [12]. Antioksidan dapat mencegah reaksi oksidasi, dengan cara memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas. Hiperpigmentasi dapat dicegah dengan antioksidan melalui mekanisme penghambatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) [10]. Isokuersitrin merupakan flavonoid yang umum

ditemukan pada tanaman obat, sayuran, dan buah-buahan. Beberapa tanaman yang mengandung isokuersitrin yaitu kenikir, murbei, bawang merah, dan suruhan [13]. Berdasarkan penelitian Silva *et al.* (2009) mengenai uji DPPH, nilai IC_{50} isokuersitrin sebesar 11,8 ppm sedangkan IC_{50} kuersetin sebesar 65,6 ppm. Hal tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan isokuersitrin lebih besar dibandingkan kuersetin. Nilai IC_{50} yang kurang dari 50 ppm menandakan senyawa memiliki aktivitas antioksidan yang kuat [14]. Aktivitas antioksidan isokuersitrin didukung juga oleh penelitian Xican *et al.* (2016) yang menyatakan bahwa aktivitas penghambatan ROS isokuersitrin lebih tinggi daripada kuersetin sehingga memungkinkan peningkatan perlindungan sel punca mesenkimal terhadap kerusakan oksidatif yang diinduksi ROS (Xican *et al.*, 2016). Gugus 6''-OH dalam isokuersitrin meningkatkan kemampuan khelat Fe^{2+} dan menurunkan kemampuan mendonorkan H melalui halangan sterik [15]. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai potensi isokuersitrin sebagai antihiperpigmentasi dengan mekanisme penghambatan enzim *D-dopachrome tautomerase*.

Berdasarkan studi pustaka yang telah dilakukan, potensi senyawa isokuersitrin sebagai antihiperpigmentasi dengan mekanisme penghambatan *D-dopachrome tautomerase* belum dilaporkan. Oleh karena itu, diperlukan suatu uji pendahuluan dengan metode *molecular docking* untuk mengetahui potensi isokuersitrin sebagai inhibitor *D-dopachrome tautomerase*. Metode *molecular docking* mampu memprediksi bagaimana protein (reseptor) berinteraksi dengan senyawa (ligan) [16]. Kelebihan dari metode *molecular docking* yaitu penggunaannya bebas bahan kimia, menghemat waktu dan biaya penelitian, serta aman [17]. Metode *molecular docking* juga dapat memprediksi lokasi, konformasi, orientasi dan interaksi suatu molekul pada *binding site* dari protein target. Hasil interaksi antara ligan dengan protein target melalui *molecular docking* dapat menghasilkan nilai afinitas dan model interaksi ligan terhadap protein target. Maka dari itu, sangat penting dilakukan simulasi komputasi ini untuk mengetahui potensi dari isokuersitrin sebagai agen antihiperpigmentasi secara *in silico*.

2. METODE

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah enzim *D-dopachrome tautomerase* dengan kode PDB ID: 3KAN dan dapat diunduh pada <https://www.rcsb.org/structure/3KAN>. Struktur dari senyawa isokuersitrin dapat diunduh pada <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280804>.

2.2. Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah seperangkat komputer dengan spesifikasi *Window 7 64 bit* dengan program *AutoDockTools 1.5.6* untuk *molecular docking* yang dilengkapi *Autogrid4* dan *Autodock4*; *Chimera 1.11.1* digunakan untuk preparasi protein; *Open Babel* untuk preparasi senyawa uji; dan *HyperChem 8* berperan dalam mengoptimasi senyawa uji.

2.3. Metode Penelitian

2.3.1 Optimasi Struktur 3D Isokuersitrin

Struktur 3D isokuersitrin yang sudah preparasi dengan *Open Babel* selanjutnya dioptimasi dengan menggunakan *software HyperChem 8*. Dalam hal ini digunakan metode komputasi

semi-empiris AM1. Optimasi dilakukan menggunakan kalkulasi *single point* dan *geometry optimization*.

2.3.2 Preparasi Struktur Protein

Preparasi protein *D-dopachrome tautomerase* dilakukan menggunakan aplikasi *Chimera 1.11.1*. Preparasi ini bertujuan untuk memisahkan protein dengan senyawa *native ligand*.

2.3.3 Validasi Metode *Molecular Docking*

Metode *molecular docking* divalidasi menggunakan *AutoDockTools 1.5.6* yang dilengkapi dengan *Autogrid4* dan *Autodock4*. Validasi metode dilakukan dengan *redocking* (men-*docking*-kan kembali) *native ligand* pada protein target yang sebelumnya telah dihilangkan *native ligand*-nya. Parameter dari validasi metode *molecular docking* adalah nilai $RMSD \leq 3,0 \text{ \AA}$ yang menunjukkan protokol diterima dan *docking* senyawa uji pada protein target dapat dilakukan [18].

2.3.4 Docking Isokuersitrin pada Enzim *D-dopachrome tautomerase*

Docking senyawa isokuersitrin dilakukan dengan men-*docking*-kan senyawa isokuersitrin yang sudah dioptimasi pada protein target yang sudah dipreparasi menggunakan metode yang tervalidasi. Dalam hal ini digunakan *AutoDockTools 1.5.6* untuk *docking* isokuersitrin, di mana aplikasi telah memuat *Autogrid4* dan *Autodock4*. Nilai energi ikatan dan jenis ikatan hidrogen dihasilkan dari proses *docking* senyawa isokuersitrin pada protein target. Selanjutnya dilakukan analisa terhadap hasil yang telah diperoleh.

2.3.5 Analisis Data

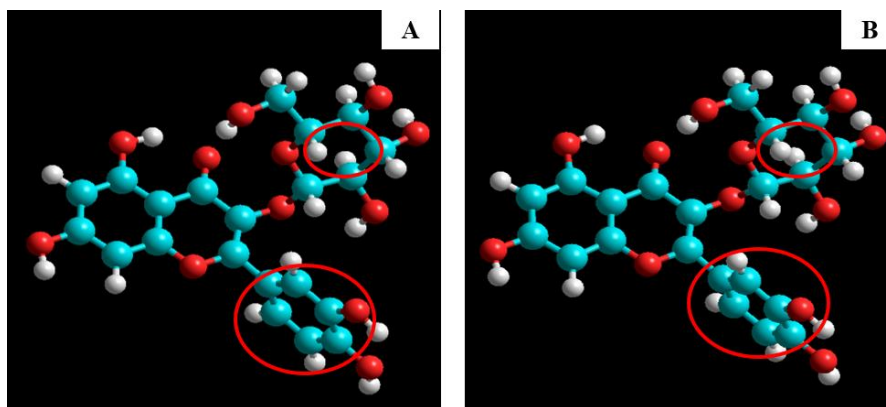
Metode deskriptif digunakan dalam analisis data. Nilai energi ikatan antara senyawa isokuersitrin dengan protein target merupakan hasil yang diperoleh dari *molecular docking*. Afinitas antara senyawa uji dan protein target ditunjukkan oleh energi ikatan. Semakin negatif nilai energi ikatan, maka afinitas antara isokuersitrin dengan enzim *D-dopachrome tautomerase* semakin kuat dan stabil. Energi ikatan isokuersitrin dengan enzim *D-dopachrome tautomerase* dibandingkan dengan energi ikatan yang dihasilkan antara *native ligand* dengan enzim *D-dopachrome tautomerase*. Model interaksi dapat diketahui dengan mengamati jenis ikatan yang terbentuk dan residu yang berikatan antara isokuersitrin dengan enzim *D-dopachrome tautomerase* sehingga potensi isokuersitrin dalam inhibisi enzim melanogenesis dapat diketahui.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Optimasi Struktur 3D Isokuersitrin

Aplikasi *HyperChem 8* digunakan untuk mengoptimasi struktur 3 dimensi isokuersitrin. Optimasi ini bertujuan untuk mendapatkan struktur yang lebih stabil yang ditandai dengan penurunan nilai energi total dari struktur senyawa uji [19]. Optimasi struktur 3 dimensi isokuersitrin menggunakan metode perhitungan mekanika kuantum. Terdapat dua jenis metode perhitungan mekanika kuantum pada program *HyperChem 8*, yaitu metode *ab initio* dan metode semi-empiris. Akurasi metode semi-empiris saat menghitung nilai eksperimen lebih tinggi dan waktu pengoperasiannya lebih cepat dibandingkan metode *ab initio* [18]. Optimasi struktur 3D isokuersitrin dilakukan dengan metode semi-empiris AM1 (Austin model 1) dan kalkulasi *single point* serta *geometry optimization*. Keuntungan model AM1 yaitu memperhitungkan

parameter sifat elektronik, total energi, pembentukan panas, dan geometri optimasi sehingga lebih akurat [10]. Untuk menentukan energi total molekul dari struktur tanpa suatu proses optimasi struktur senyawa uji dapat digunakan kalkulasi *single point*. Sementara itu, *geometry optimization* digunakan untuk meminimalisasi energi agar struktur senyawa uji yang paling stabil dapat diperoleh [19]. Struktur hasil kalkulasi *single point* dan *geometry optimization* dapat dilihat pada gambar 1.



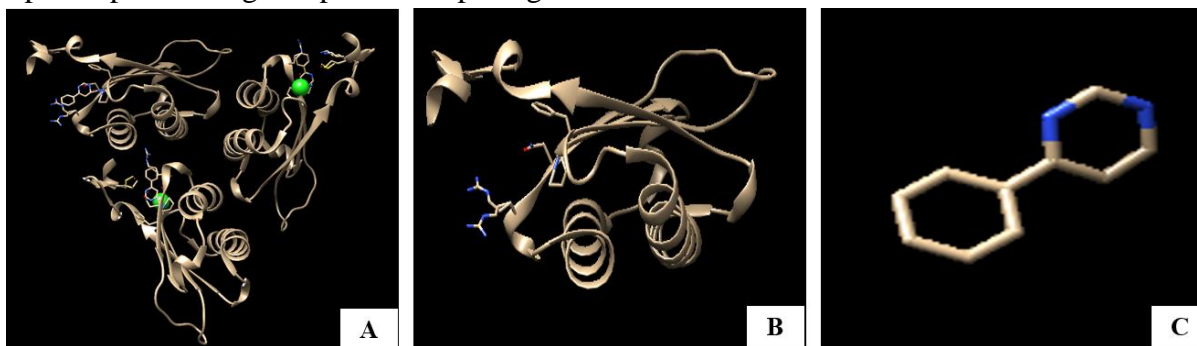
Gambar 1. Struktur Isokuersitrin Setelah Kalkulasi *Single Point* (A); Struktur Senyawa Isokuersitrin Setelah *Geometry Optimization* (B)

Energi total hasil kalkulasi *single point* dan *geometry optimization* isokuersitrin berturut-turut sebesar -5766,063 dan -5782,641 kkal/mol. Hasil *geometry optimization* menunjukkan energi total yang lebih rendah dibandingkan hasil kalkulasi *single point*, sehingga proses optimasi telah berhasil dilakukan. Semakin rendah energi total senyawa maka semakin maksimal kemampuan senyawa dalam mendonorkan elektron, sehingga senyawa lebih mudah untuk berikatan dengan protein target [10]. Struktur senyawa isokuersitrin dalam bentuk 3 dimensi yang telah teroptimasi kemudian disimpan dalam format .pdb. Format dari struktur diubah dengan tujuan agar struktur senyawa uji dapat terbaca dalam program AutoDockTools 1.5.6 yang digunakan dalam proses *docking*.

3.2 Preparasi Protein Target

D-dopachrome tautomerase dipreparasi menggunakan Chimera 1.11.1. Preparasi ini bertujuan untuk memisahkan struktur protein dengan *native ligand* sehingga diperoleh struktur protein target tanpa *native ligand* dan struktur *native ligand*, yang mana keduanya digunakan dalam proses validasi metode *molecular docking*. Enzim *D-dopachrome tautomerase* dengan kode PDB ID yaitu 3KAN diunduh pada [https:// www.rcsb.org/ structure/3KAN](https://www.rcsb.org/structure/3KAN) dalam format .pdb. *D-Dopachrome tautomerase* memiliki 3 rantai yaitu rantai A, B, dan C. Ketiga rantai tersebut memiliki *native ligand* yang sama yaitu 4-phenylpyrimidine (RW1) yang memiliki rumus molekul (RM) $C_{10}H_8N_2$. RW1 merupakan *native ligand* yang memiliki aktivitas menghambat aktivitas protein *D-Dopachrome tautomerase*. Preparasi protein target diawali dengan pemilihan satu rantai dari protein target yang mengandung *native ligand*, kemudian dilakukan pemisahan *native ligand* dari rantai protein target yang telah dipilih. Pemilihan rantai protein target *D-dopachrome tautomerase* ini didasarkan pada letak berikatannya *native ligand* (RW1). Pemilihan satu rantai

pada proses preparasi protein bertujuan untuk memudahkan dalam penentuan koordinat *binding site* sebagai tempat senyawa uji berikatan saat di-*docking*-kan. Rantai *D-dopachrome tautomerase* yang dipilih adalah rantai C dengan native ligand RW1. Rantai lain selain rantai yang dipilih, dihilangkan dan native ligand pada masing-masing protein target dipisahkan. Tahapan selanjutnya dari proses preparasi protein target adalah penghilangan molekul air (H_2O) pada *D-dopachrome tautomerase* yang telah dihilangkan *native ligandnya*. Tujuan menghilangkan molekul air tersebut agar tidak mengganggu proses *docking*, sehingga dapat dipastikan hanya asam amino pada protein target yang berinteraksi dengan senyawa uji [20]. Proses preparasi *D-Dopachrome tautomerase* akan memperoleh hasil berupa struktur protein target tanpa *native ligand* dan struktur *native ligand* yang selanjutnya disimpan dalam format file .pbd. Adapun hasil preparasi protein target dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Protein *D-dopachrome tautomerase* (A); Rantai C *D-dopachrome tautomerase* tanpa *native ligand* (B); *Native ligand* RW1 (C)

3.3 Validasi Metode *Molecular Docking*

Validasi metode adalah suatu penilaian terhadap parameter tertentu yang bertujuan untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya sehingga hasil analisis dapat dipercaya [18]. Parameter validasi metode *molecular docking* adalah nilai RMSD. Nilai penyimpangan posisi atau konformasi *native ligand* pada protein sebelum dan setelah di-*docking*-kan kembali disebut RMSD. Penyimpangan yang minimal mampu meminimalisir kesalahan prediksi interaksi antara *native ligand* dengan protein target, sehingga hasil yang diperoleh valid [21]. Metode dianggap valid jika nilai $RMSD \leq 3 \text{ \AA}$ [22]. Perolehan nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan konformasi *native ligand* hasil docking semakin mendekati posisi yang sebenarnya untuk berikatan pada *binding site* sesuai dengan posisi sebelum dilakukannya pemisahan. Apabila nilai RMSD semakin besar berarti penyimpangan dan kesalahan prediksi interaksi ligan dengan protein semakin besar pula [20].

AutoDockTools 1.5.6 digunakan untuk validasi metode *molecular docking*. Validasi diawali dengan menginput struktur protein target yang telah dipreparasi ke dalam aplikasi AutoDockTools 1.5.6. Selanjutnya dilakukan penambahan atom hidrogen pada protein target yang bertujuan agar dapat terjadi interaksi ikatan hidrogen antara *D-dopachrome tautomerase* dengan *native ligandnya* dan untuk menyesuaikan pH agar sesuai dengan suasana pH tubuh [23]. Langkah berikutnya adalah menginput *native ligand* ke dalam aplikasi AutoDockTools 1.5.6. Struktur *D-dopachrome tautomerase* diatur dalam bentuk kaku, sedangkan *native ligand* diatur dalam keadaan

fleksibel. Tujuan dari pengaturan ini adalah agar *native ligand* dapat menyesuaikan konformasi untuk berikatan dengan *binding site* pada *D-dopachrome tautomerase*.

Pengaturan *grid box* dilakukan juga dalam validasi metode *molecular docking*. *Grid box* merupakan tempat dari *ligand* untuk berinteraksi dengan residu asam amino pada *binding site* protein target [10]. Ukuran *grid box* disesuaikan dengan ukuran *native ligand* dan senyawa uji, sehingga dapat dipastikan bahwa *native ligand* dan senyawa uji dapat masuk ke dalam *grid box*. Pada *grid box* pengaturan meliputi *grid size* dan *grid center*. Pengaturan *grid size* meliputi size x, y, dan z dapat digunakan untuk menentukan besar kecilnya *grid box*. Sementara itu, pengaturan *grid center* meliputi *center* x, y, z untuk mengatur letak *grid box* protein target. Nilai koordinat *grid size* dan *grid center* pada *grid box* yang digunakan dalam validasi ditunjukkan pada tabel 1.

Tabel 1. Pengaturan *Grid Box* pada *D-Dopachrome tautomerase*

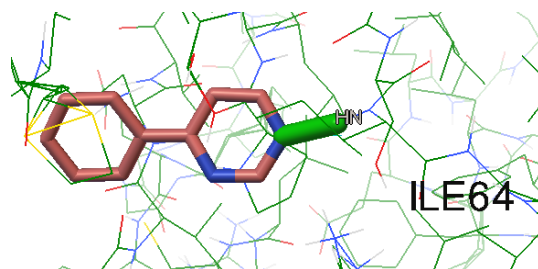
Protein Target	Grid Size	Grid Center
<i>D-Dopachrome tautomerase</i>	x = 78 y = 72 z = 36	x = -1,380 y = -3,672 z = 0,425

Hasil validasi metode yaitu 10 konformasi beserta data RMSD, energi ikatan, dan jenis ikatan dari interaksi *native ligand* dengan *D-dopachrome tautomerase* yang ditunjukkan pada tabel 2. Visualisasi interaksi antara *native ligand* dan *D-dopachrome tautomerase* dapat dilihat pada gambar 3. Konformasi yang dipilih adalah konformasi dengan nilai RMSD terendah dan memenuhi persyaratan validasi ($\text{RMSD} \leq 3 \text{ \AA}$). Dalam hal ini digunakan konformasi dengan nilai RMSD 0,12 Å. Metode yang digunakan telah valid dikarenakan nilai RMSD yang diperoleh memenuhi persyaratan validasi, yaitu $\leq 3 \text{ \AA}$.

Tabel 2. Hasil *Redocking* antara Protein *D-dopachrome tautomerase* dengan *Native Ligand*

Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Gugus dalam Ikatan Hidrogen
1	-6,24	0,94	PRO1 ILE64	HN1-N1 HN-N3
2	-6,48	0,15	ILE64	HN-N3
3	-6,32	1,07	PRO1 ILE64	HN1-N1 HN-N3
4	-6,23	0,98	PRO1 ILE64	HN1-N1 HN-N3
5	-6,48	0,12	ILE64	HN-N3
6	-6,43	0,54	ILE64	HN-N3
7	-6,40	0,98	ILE64	HN-N3
8	-6,43	0,48	ILE64	HN-N3
9	-6,39	0,95	ILE64	HN-N3
10	-6,41	0,96	ILE64	HN-N3

Keterangan: ILE = isoleusina; PRO = prolina; warna kuning merupakan konformasi yang dipilih



Gambar 3. Ikatan hidrogen antara *Native Ligand* RW1 dengan *D-Dopachrome Tautomerase* Konformasi 5

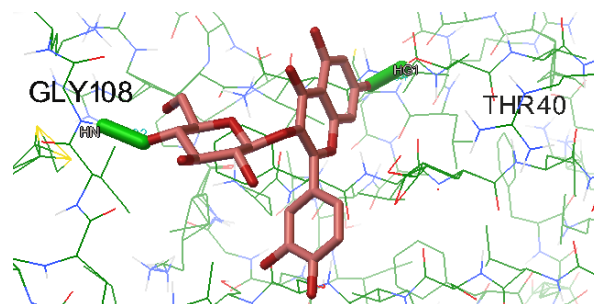
3.4 Docking Isokuersittrin pada Enzim *D-Dopachrome tautomerase*

Senyawa isokuersittrin yang telah teroptimasi *di-docking-kan* pada enzim *D-dopachrome tautomerase* tanpa *native ligand* menggunakan AutoDockTools 1.5.6. pada koordinat yang sama dan telah tervalidasi pada saat validasi metode. Tahapan *docking* senyawa isokuersittrin pada *D-dopachrome tautomerase* dilakukan sesuai dengan tahapan validasi metode namun yang *di-docking-kan* bukan *native ligand* tetapi senyawa uji (isokuersittrin). Hasil *docking* isokuersittrin yaitu 10 konformasi beserta energi ikatan dan jenis ikatan dapat dilihat pada tabel 3. Konformasi dengan energi ikatan terendah dipilih sebagai hasil docking isokuersittrin dengan *D-dopachrome tautomerase* karena menunjukkan konformasi paling stabil. Dalam hal ini dipilih konformasi 6. Ikatan hidrogen yang terjadi antara isokuersittrin dengan *D-dopachrome tautomerase* dapat dilihat pada gambar 4.

Tabel 3. Hasil *Docking* Isokuersittrin pada *D-dopachrome tautomerase*

Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	Residu Asam Amino	Gugus dalam Ikatan Hidrogen
1	-7,57	THR40 GLY108	HG1-O HN-O
2	-7,55	GLY108	HN-O
3	-7,57	GLY108	HN-O
4	-7,57	GLY108	HN-O
5	-7,57	GLY108	HN-O
6	-7,66	THR40 GLY108	HG1-O HN-O
7	-7,55	THR40 GLY108	HG1-O HN-O
8	-7,57	THR40 GLY108	HG1-O HN-O
9	-7,57	GLY108	HN-O
10	-7,56	THR40 GLY108	HG1-O HN-O

Keterangan: THR= treonina; GLY = glisin; warna kuning merupakan konformasi yang dipilih



Gambar 4. Ikatan hidrogen antara Isokuersitrin dengan *D-Dopachrome Tautomerase* Konformasi 6

Energi ikatan menggambarkan afinitas senyawa uji terhadap protein target. Semakin negatif nilai energi ikatan, maka afinitas antara isokuersitrin dengan enzim *D-dopachrome tautomerase* semakin kuat dan stabil. Energi ikatan isokuersitrin dengan enzim *D-dopachrome tautomerase* dibandingkan dengan energi ikatan yang dihasilkan antara *native ligand* dengan enzim *D-dopachrome tautomerase*. Apabila senyawa uji memiliki energi ikatan yang lebih negatif dibandingkan dengan *native ligand* dalam berikatan dengan protein target, maka senyawa uji memiliki afinitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan *native ligand* protein tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, energi ikatan isokuersitrin dengan *D-dopachrome tautomerase* sebesar -7,66 kkal/mol sedangkan energi ikatan *native ligand* sebesar -6,48 kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan senyawa isokuersitrin memiliki nilai energi ikatan yang lebih kecil dibandingkan dengan *native ligand*, sehingga isokuersitrin secara *in silico* berpotensi dikembangkan sebagai agen antihiperpigmentasi.

4. KESIMPULAN

Senyawa isokuersitrin memiliki afinitas terhadap *D-dopachrome tautomerase* yang dilihat dari energi ikatan yang bernilai negatif. Isokuersitrin memiliki afinitas lebih kuat dibandingkan dengan *native ligand*, di mana energi ikatan isokuersitrin sebesar -7,66 kkal/mol sedangkan energi ikatan *native ligand* sebesar -6,48 kkal/mol. Maka dari itu, isokuersitrin memiliki potensi sebagai agen antihiperpigmentasi secara *in silico*. Uji secara *in silico* merupakan suatu uji pendahuluan untuk memprediksi interaksi antara protein target dan ligan sehingga perlu konfirmasi aktivitas melalui uji *in vitro* dan *in vivo* untuk memastikan aktivitasnya.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan dukungan moril maupun materil sehingga *research article* ini dapat selesai. Ucapan terima kasih ini penulis tujukan kepada Tuhan yang Maha Esa, dosen-dosen, keluarga penulis, teman-teman dan semua pihak yang telah memberikan dukungan selama pembuatan *research article* ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] E. A. Brettmann, and C. de Guzman Strong, "Recent Evolution of The Human Skin Barrier. *Experimental Dermatology*, vol. 27, no. (8), pp. 859-866, May 2018, doi: 10.1111/exd.13689.
- [2] A. El Howati, and A. Tappuni, "Systematic Review Of The Changing Pattern Of The Oral

- Manifestations of HIV,” *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, e12351, March 2018, doi:10.1111/jicd.12351.
- [3] A. Pulungan, F. Soesanti, B. Tridjaja, and J. Batubara, “Vitamin D Insufficiency And Its Contributing Factors In Primary School-Aged Children In Indonesia, A Sun-Rich Country,” *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, vol. 26, no. 2, pp. 92-98, June 2022, doi : 10.6065/apem.2040132.066.
 - [4] A. Skoczyńska, E. Budzisz, E. Trznadel-Grodzka, and H. Rotsztejn, “Melanin and Lipofuscin As Hallmarks Of Skin Aging,” *Advances in Dermatology and Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii*, vol. 34, no. 2, pp. 97-103, April 2017, doi : <https://doi.org/10.5114/ada.2017.67070>.
 - [5] A. Nautiyal, and S. Wairkar, "Management of Hyperpigmentation: Current Treatments and Emerging Therapies," *Pigment Cell & Melanoma Research*, vol.34, no.6, pp. 1-15, May 2021, doi: 10.1111/pcmr.12986.
 - [6] Suryani, A, “Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pigmentasi Manusia,” *Cermin Dunia Kedokteran*, vol. 47, no.11, pp. 682-685, Januari 2020, doi : <http://dx.doi.org/10.55175/cdk.v47i11.1195>.
 - [7] K. N. Allgisna, S. Hindun, dan N. Rantika, “Perbandingan Beberapa Ekstrak Kulit Buah sebagai Anti-hiperpigmentasi: Review: Comparison of Fruit Skin Extract as Anti-hyperpigmentation,” *Jurnal Sains dan Kesehatan*, vol. 3, no. 2, pp. 335-342, April 2022, doi : <https://doi.org/10.25026/jsk.v3i2.403>.
 - [8] Laksmiani, N. P. L., and Nugraha, I. P. W, “Depigmentation Activity of Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Extract Through Tyrosinase, Tyrosinase Related Protein-1 and Dopachrome Tautomerase Inhibition,” *Biomedical and Pharmacology Journal*, vol. 12, no. 2, pp. 799-808, May 2019, doi : <https://dx.doi.org/10.13005/bpj/1703>.
 - [9] T. Searle, F. Al-Niaimi, and F. R. Ali, “Hydroquinone: Myths and Reality,” *Clinical and Experimental Dermatology*, vol. 46, no. 4, pp. 636-640, September 2020, doi:10.1111/ced.14480.
 - [10] M. D. Widyastuti, N. K. M. Noviyanti, I. K. N. S. Sanjaya, dan N. M. P. Susanti, “Aktivitas Antihiperpigmentasi Likopen Secara in Silico,” *Jurnal Kimia*, vol. 14, no. 2, pp. 107-112, July 2020, doi : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2020.v14.i02.p01>.
 - [11] F. Ripaldo, “Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Harendong (*Melastoma malabathricum* L.) Secara in Vitro,” *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, vol. 5, no. 1, pp. 114-129, October 2020, doi : <https://doi.org/10.52447/inspj.v5i1.1800>.
 - [12] B. Arifin, dan S. Ibrahim, “Struktur, Bioaktivitas dan Antioksidan Flavonoid,” *Jurnal Zarah*, vol. 6, no. 1, pp. 21-29, April 2018, doi : <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>.
 - [13] Kemenkes RI, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi II. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2017.
 - [14] C. G. Silva, R. J. Raulino, D. M. Cerqueira, S. C. Mannarino, M. D. Pereira, A. D. Panek, and E. C. A. Eleutherio, “In Vitro And In Vivo Determination of Antioxidant Activity and

- Mode of Action of Isoquercitrin and *Hyptis fasciculata*,” *Phytomedicine*, vol. 16, no. 8, pp. 761-767, August 2009, doi: 10.1016/j.phymed.2008.12.019.
- [15] X. Li, Q. Jiang, T. Wang, J. Liu, and D. Chen, “Comparison Of The Antioxidant Effects of Quercitrin And Isoquercitrin: Understanding The Role of The 6 "-OH Group,” *Molecules*, vol. 21, no. 9, pp. 1-11, September 2016, doi: 10.3390/molecules21091246.
- [16] T. E. Tallei, S. G. Tumilaar, N. J. Niode, Fatimawali, B. J. Kepel, R. Idroes, Y. Effendi, S. A. Sakib, dan T. Bin. Emran, “Potential of Plant Bioactive Compounds as SARS-CoV2 Main Protease (Mpro) and Spike (S) Glycoprotein Inhibitors: A Molecular Docking Study,” *Scientifica*, pp. 1-16, May 2020, doi: <https://doi.org/10.1155/2020/6307457>.
- [17] U. Makhswari, dan D. Sudarsanam, “A Review on Bio Informatics for Diabetic Mellitus,” *International Journal of Pharma Sciences and Research*, vol. 3, no. 6, pp. 1-6, June 2012, doi : <https://doi.org/10.1155/2020/8878037>.
- [18] N. M. G. Pratiwi, N. M. A. Saraswati, N. M. I. F. P. Dewi, dan L. P. P. Tirta, “Potensi Sinamaldehyd sebagai Anti Hiperpigmentasi secara In Silico,” *Jurnal Ilmiah Medicamento*, vol. 7, no. 2, pp. 95-101, September 2021, doi: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.1507>.
- [19] K. D. Adnyani, L. W. E. Lestari, H. Prabowo, P. A. I. A. Siaka, dan N. P. L. Laksmiani, “Aktivitas dari Kuersetin Sebagai Agen Pencerah Kulit Secara In Silico,” *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, vol. 13, no. 2, pp. 207-212, Juli 2019, doi : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2019.v13.i02.p14>.
- [20] N. M. P. Susanti, N. P. L. Laksmiani., N. K. M. Noviyanti, K. M. Arianti, dan I. K. Duantara, “Molecular Docking Terpinen-4-Ol Pada Protein IKK Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara In Silico,” *Jurnal Farmasi Udayana*, vol. 1, no. 8, pp. 44-49, Juli 2019, doi : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2019.v13.i02.p16>.
- [21] M. B. O. Rastini, N. K. M. Giantari, K. D. Adnyani, dan N. P. L. Laksmiani, “Molecular Docking Aktivitas Antikanker dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara In Silico,” *Jurnal Kimia*, vol. 13, no. 2, pp. 180-184, Juli 2019, doi : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2019.v13.i02.p09>.
- [22] Kumari, A, “In Silico Prediction of Glabridin Potency Against Human Tyrosinase in Hyperpigmentation Condition,” *IJRAR-International Journal of Research and Analytical Reviews (IJRAR)*, vol 6, no. 2, pp. 332-341, June 2019, doi : 10.1729/Journal.22647.
- [23] G. M. Morris, R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, and A. J. Olson, “AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking With Selective Receptor Flexibility,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 30, no. 16, pp. 2785-2791, December 2009, doi : 10.1002/jcc.21256.
- [24] N. P. L. Laksmiani, I. G. P. Putra, I. P. W. Nugraha, I. W. Suwartawan, dan N. K. S. Ani , “Studi Potensi Sianidin Dan Peonidin Dari Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Sebagai Agen Depigmentasi Secara In Silico,” *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*, vol. 13, no. 1, pp. 34-39, Januari 2019, doi : <https://doi.org/10.24843/JCHEM.2019.v13.i01.p06>.