

**UJI PENAMBATAN MOLEKULER METABOLIT SEKUNDER DAUN TEH HIJAU  
(*Camellia sinensis* L.) TERHADAP ENZIM TIROSINASE**

**MOLECULAR DOCKING TEST OF SECONDARY METABOLITES OF GREEN TEA LEAVES (*Camellia sinensis* L.) TOWARDS TYROSINAS ENZYME**

**Fani Magfira Tono**  
Poltekkes Kemenkes Makassar

**ABSTRACT**

Tyrosinase is an enzyme that facilitates the formation of pigment in the skin, which is known as the process of melanogenesis. Inhibition of tyrosinase to prevent excess melanin production. One of the native Indonesian plants that has been scientifically reported to be efficacious as an antioxidant is Green Tea Leaves (*Camellia sinensis* L.) However, until now, the molecular activity of each of these metabolites is not known. and one of the most accurate simulation methods commonly used is molecular dynamics simulation. This study aims to determine the molecular activity of secondary metabolites of Green Tea Leaves (*Camellia sinensis* L.) of the Assamica variety on the Tyrosinas Enzyme. The simulation begins with the preparation of the 3D structures of the ligand and receptor. The active metabolite ligands from the Green Tea Leaf plant were obtained from the KnapSack natural compound database, and the 3D structure of the tyrosinase receptor was obtained from the PDB site with code (5M8M) and 2.65 Å resolution. Next, molecular docking was carried out using Autodock4 software. After that, molecular affinity analysis was carried out, including RMSD (Root Mean Square Deviation) and RMSF (Root Mean Square Fluctuation). The analysis results showed that of the 10 compounds found in green tea leaves, the Epicatechin 3-O- p-hydroxybenzoate compound showed the best molecular docking activity with a value of -6.66 Kcal/mol. The value is close to the natural ligand value, namely -5.39 Kcal/mol. Furthermore, Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate showed stability very similar to the natural ligand, as observed from RMSD and RMSF analysis. In conclusion, the Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate compound found in green tea leaves has the potential to be the main compound to inhibit the tyrosinase enzyme.

**Keywords:** *Camellia sinensi* L., Inhibition of the Tyrosinase Enzyme

**ABSTRAK**

Tirosinase merupakan enzim yang memfasilitasi pembentukan pigmen pada kulit, yang dikenal sebagai proses melanogenesis. Penghambatan tirosinase untuk mencegah produksi melanin berlebih. Salah satu tanaman asli Indonesia yang telah dilaporkan secara ilmiah berkhasiat sebagai antioksidan yaitu Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Namun, hingga saat ini, aktivitas molekuler dari masing-masing metabolit tersebut belum diketahui. dan salah satu metode simulasi yang sangat akurat yang biasa digunakan adalah simulasi dinamika molekul. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas molekuler metabolit sekunder Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) varietas Assamica terhadap Enzim Tirosinas. Simulasi dimulai dengan persiapan struktur 3D ligan dan reseptor. Ligan metabolit aktif dari tanaman Daun Teh Hijau diperoleh dari database senyawa alam KnapSack, dan struktur 3D reseptor tirosinase diperoleh dari situs PDB dengan kode (5M8M) dan resolusi 2.65 Å. Selanjutnya, penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Autodock4. Setelah itu, analisis afinitas molekuler dilakukan, termasuk RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*). Hasil analisis menunjukkan bahwa dari 10 senyawa yang ditemukan pada tanaman daun teh hijau, senyawa Epicatechin 3-O-p- hydroxybenzoate menunjukkan aktivitas Penambatan molekuler yang paling baik dengan nilai -6,66 Kkal/mol. Nilainya mendekati nilai ligan alami yaitu -5,39 Kkal/mol. Lebih lanjut, Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate menunjukkan stabilitas yang sangat mirip dengan ligan alami, seperti yang diamati dari analisis RMSD dan RMSF. Kesimpulannya, senyawa Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate yang ditemukan dalam daun teh hijau memiliki potensi untuk menjadi senyawa utama untuk menghambat enzim tirosinase.

**Kata kunci:** *Camellia sinensi* L., Penghambatan Enzim Tirosinase

## PENDAHULUAN

Kosmetika saat ini sudah menjadi kebutuhan penting terhadap setiap manusia. Kosmetika tidak hanya berfungsi sebagai estetika, tetapi dapat berperan dalam penyembuhan dan perawatan terhadap setiap warna kulit, seperti yang kita ketahui salah satu penyebab perubahan warna kulit menjadi lebih gelap adalah akibat terlalu banyak terpapar sinar matahari (Lisnawati et al., 2016). Pigmen yang akan berperan untuk melindungi kulit dari sinar ultraviolet (UV) ialah Melanin. Melanin adalah pigmen yang memberikan warna pada kulit, mata, dan rambut manusia (Mustika et al., 2020). Namun, jika produksi melanin berlebihan terjadi, ini dapat mengakibatkan perubahan warna kulit menjadi lebih gelap. Salah satu cara yang paling banyak digunakan untuk mencegah terjadinya proses produksi melanin yang berlebihan dengan penghambatan Enzim Tirosinase (Meily et al., 2021) Tirosinase merupakan enzim yang memfasilitasi pembentukan pigmen kulit, yang dikenal sebagai proses melanogenesis. Dalam proses ini, tirosinase berfungsi sebagai katalis dalam dua reaksi berbeda, yaitu mengubah tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA) melalui proses hidroksilasi, dan mengoksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon (Sagala & Telaumbanua, 2020).

Senyawa-senyawa yang memiliki peran aktif dalam menghambat enzim tirosinase dapat digunakan sebagai bahan baku untuk produk pemutih alami. Salah satunya ialah senyawa flavonoid, Senyawa flavonoid merupakan golongan senyawa terbesar dari senyawa polifenol yang bermanfaat sebagai antioksidan (Novitasari, Ervina et al., n.d.). Berbicara tentang antioksidan Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) Mengandung lebih dari 700 senyawa kimia, salah satunya adalah katekin yang termasuk dalam golongan polifenolflavonoid. Katekin merupakan senyawa utama dalam teh yang bertanggung jawab atas sifat antioksidannya (Aryanti et al., 2021).

Daun Teh Hijau berasal dari tanaman (*Camellia sinensis* L.) dan dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis, termasuk teh hijau, teh hitam, dan teh putih, yang dibedakan berdasarkan metode pengolahannya. Daun Teh hijau (*Camellia sinensis* L.) adalah jenis teh 'non fermentasi' dan mengandung lebih banyak catecins (salah satu komponen flavonoid) dibandingkan Teh Hitam dan Teh Putih. Pada penelitian ini digunakan (*Camellia sinensis* L.) Varietas assamica. Di Indonesia, jenis teh yang umumnya ditanam adalah Camellia sinensis varietas assamica karena memiliki produktivitas yang tinggi. Varietas ini memiliki potensi besar dan peluang yang baik untuk dikembangkan lebih lanjut. varietas assamica mempunyai kelebihan dalam hal kandungan katekin yang lebih tinggi (Marcellino Rudyanto et al., 2022).

Daun Teh Hijau (*Camelia sinensis* L.) secara ilmiah telah diketahui berkhasiat sebagai antioksidan namun mekanismenya belum dijelaskan secara detail. Salah satu kemungkinan mekanisme dari Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) memiliki efek antioksidan adalah melalui penghambatan Enzim Tirosinase, untuk melihat mekanisme ini maka dapat digunakan Metode Docking.

Menurut laporan dari penelitian sebelumnya dan produsen farmasi, diketahui bahwa proses penemuan dan pengembangan obat baru hingga dipasarkan memerlukan biaya yang sangat tinggi, diperkirakan mencapai \$880 juta US dolar dan memakan waktu hingga 14 tahun. Salah satu strategi untuk mengatasi tantangan ini adalah dengan memprediksi senyawa aktif baik efikasinya maupun efek samping secara in silico (Meily et al., 2021). Molecular docking atau penambatan molekuler secara in silico adalah metode komputasi yang digunakan untuk menghitung energi afinitas pengikatan antara suatu ligan dan reseptor, serta untuk menentukan posisi optimal pengikatan. Ligan dianggap sebagai mikromolekul yang berinteraksi dengan situs ikatan pada reseptor, yang merupakan makromolekul protein target, menggunakan

parameter yang disebut konfigurasi. Pose optimal pengikatan antara reseptor dan ligan ditentukan oleh energi afinitas yang lebih rendah (Meily et al., 2021). Molekuler docking ini penting untuk memperoleh petunjuk pengembangan obat karena dapat melihat interaksi antara ligan dan reseptor dengan energi afinitas yang dapat mempercepat waktu penelitian, mengurangi biaya, dan memperluas cangkupan studi (Syahputra et al., 2022).

## METODE

### Desain, Tempat dan Waktu

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas metabolit sekunder dari Daun Teh Hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap penghambatan enzim tirosinase melalui metode molekular docking. Penelitian ini telah dilakukan di jurusan farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar. Dengan waktu pelaksanaan yaitu pada April – Juni 2024.

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini merupakan struktur kristal PPO3, yang merupakan sebuah Tirosinase dari Crystal structure of human tyrosinase related protein 1 in complex with kojic acid terdapat di organisme homo sapiens dengan X-Ray difrakton yang berada dari resolusi pengukuran adalah 2.65 Å. Nilai R kerja 0.197, nilai R bebas 0.249, dan nilai R pengamatan 0.199 dimana tidak terjadi mutase Struktur kristal PPO3, yang Dimana sebuah Tirosinase dengan subunit seperti lektin dan diinhibisi oleh tropolone (pdb:5M8M), diperoleh dari situs web <http://rcsb.org/pdb/> sementara itu, struktur 3D beta-karoten, kuersetin, katekin, antosianin, asam klorogenat, dan kontrol asam kojat diperoleh dari <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> Ligan uji yang digunakan berasal dari varietas Assamica (*Camellia sinensis* L.) diunduh dari <http://www.knapsackfamily.com/>

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi sebuah komputer dengan spesifikasi ASUS TUF Dash F15 FX506HF yang dapat mendukung hingga 86 GB memori. Software yang digunakan termasuk Autodock 4.2.3 dari Script Research Institute, Biovia Discovery Studio (BDS), Pymol, serta situs web Swiss ADME dan pKCSM.

### Langkah – langkah Penelitian

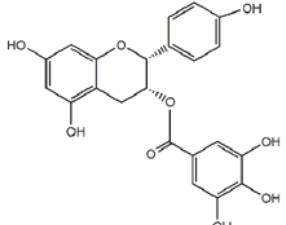
#### Subjek Penelitian

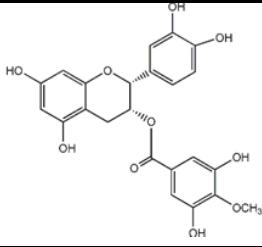
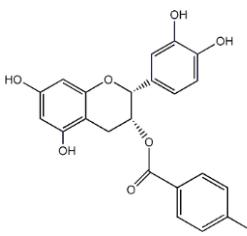
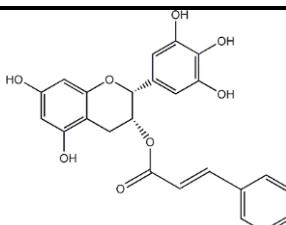
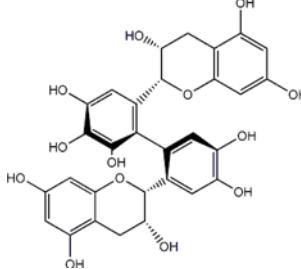
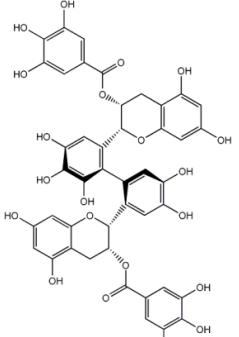
Protein target yang digunakan adalah Tirosinase dari manusia. Informasi mengenai reseptor atau protein ini dapat ditemukan di <http://www.pdb.org> dengan menggunakan kata kunci PDB 5M8M: Struktur kristal protein manusia tyrosinase terkait 1 dalam kompleks dengan asam kojat. Protein ini berasal dari organisme Homo sapiens dan dianalisis menggunakan teknik difraksi sinar-X dengan resolusi pengukuran sebesar.

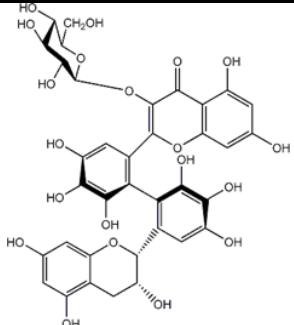
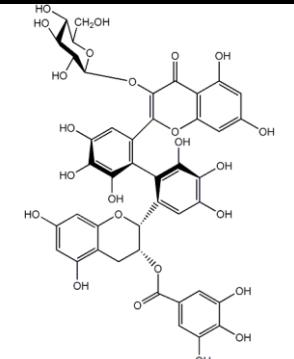
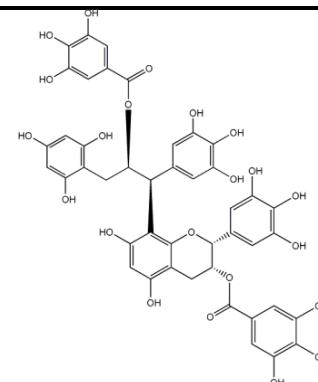
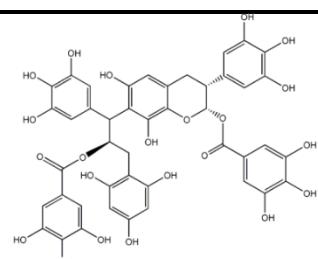
#### Pengunduhan Protein dan Ligan

Protein 5M8M diunduh melalui [www.pdb.org](http://www.pdb.org) dan setelah itu disimpan dalam bentuk .pdb. Untuk Ligan Uji yang digunakan di unduh melalui <http://www.knapsackfamily.com/> dalam bentuk 3D dan kemudian disimpan dalam file type.sdf lalu diubah file type nya menjadi .pdb. dengan program Discovery Studio, semua senyawa Ligan alami dan Ligan (*Camellia sinensis* L.) di simpan dalam satu format pdb, lalu Ligan dilakukan preparasi pada Autodock 4.2. Ligan Uji (*Camellia sinensis* L.) yang digunakan disajikan pada gambar table 3.1.

**Tabel 3. 1.** Struktur Senyawa (*Camellia sinensis* L.) Varietas Assamica

| NO | Nama Spesies                    | Senyawa                   | Rumus Kimia / C_ID   | Rumus struktur  |
|----|---------------------------------|---------------------------|----------------------|---|
| 1. | Camellia sinensis var. assamica | Epiafzelechin 3-O-gallate | C22H18O9 / C00008864 |  |

|    |                                 |                                      |                       |   |
|----|---------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|---|
| 2. | Camellia sinensis var. assamica | Epicatechin 3-O- (4-O-methylgallate) | C23H20O10 / C00008870 |    |
| 3. | Camellia sinensis var. assamica | Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate    | C22H18O8 / C00008896  |    |
| 4. | Camellia sinensis var. assamica | Epigallocatechin 3-O-cinnamate       | C24H20O8 / C00008904  |   |
| 5. | Camellia sinensis var. assamica | Desgalloyl theasinensin F            | C30H26O13 / C00008915 |  |
| 6. | Camellia sinensis var. assamica | Theasinensin F                       | C44H34O21/ C00008918  |  |

|    |                                       |                            |                          |   |
|----|---------------------------------------|----------------------------|--------------------------|---|
| 7. | Camellia<br>sinensis var.<br>assamica | Desgalloyl<br>theaflavonin | C36H32O20 /<br>C00008920 |    |
| 8. | Camellia<br>sinensis var.<br>assamica | Theaflavonin               | C43H36O24 /<br>C00008921 |    |
| 9. | Camellia<br>sinensis var.<br>assamica | Assamicain A               | C44H36O22 /<br>C00008930 |  |
| 10 | Camellia<br>sinensis var.<br>assamica | Assamicain C               | C44H36O22 /<br>C00008931 |  |

### **Proses Preparasi Ligan dan Protein**

Pada proses preparasi digunakan Software Discovery Studio untuk menghilangkan ikatan protein dari ligan alami yang terikat di dalamnya dan menghapus molekul air lalu disimpan dalam bentuk pdb. Berkas reseptor dipreparasi menggunakan program Autodock 4.2 untuk menambahkan ikatan hidrogen kemudian di gabungkan lalu diikat dengan ligan selanjutnya dipersiapkan grid box. Berkas ligan kemudian disimpan dalam bentuk.pdbqt. Protein dan ligan diubah menjadi format .pdb dengan program Discovery Studio.

### **Validasi Metode Docking**

Validasi docking molekuler ini dilakukan menggunakan teknik redocking, di mana ligan alami dari tirosinase digunakan kembali sebagai referensi. Pada proses ini, grid box dibuat untuk menentukan koordinat ligan alami, yang akan dipakai sebagai acuan untuk koordinat ligan uji. Validasi ini bertujuan untuk mendapatkan hasil yang konsisten dengan eksperimen, dengan nilai RMSD kurang dari 3 Å. RMSD merupakan nilai yang digunakan untuk memprediksi suatu ikatan apakah berhasil mencapai nilai dan penting pada posres docking. Semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin dekat posisi ligan hasil redocking dengan posisi ligan dalam struktur kristalografi.

### **Docking Molekuler Ligan Uji Terhadap Protein**

Pengaturan parameter grid box menggunakan Autodock-4. Koordinat X, Y, Z pada grid box akan ditentukan berdasarkan koordinat ligan alami yang terkristalisasi dengan reseptor dari file reseptor yang akan digunakan untuk validasi. Proses docking antara ligan uji dan reseptor dilakukan dengan menggunakan Autodock-4 setelah penentuan koordinat grid box.

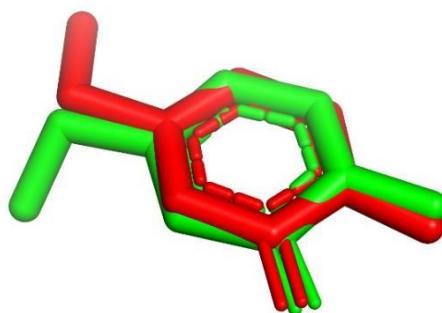
### **Analisis dan Visualisasi Hasil Docking Molekuler**

Konformasi ligan yang dihasilkan dari docking (pose terbaik) dipilih berdasarkan energi ikatan terendah. Pose terbaik dari hasil docking kemudian akan dianalisis menggunakan Biovia Discovery Studio. Analisis akan mencakup perhitungan besar energi pengikatan ( $\Delta G$ ), residu asam amino yang terlibat, serta jumlah interaksi ikatan yang terbentuk. Software Biovia Discovery Studio lalu digunakan untuk visualisasi hasil dari penambatan senyawa uji terhadap protein dengan melihat adanya ikatan yang terjadi antara ligan dan protein secara 2D dan 3D software Pymol untuk melihat surface area ligan uji dalam protein.

## **HASIL**

### **Simulasi Molekuler Docking**

**Gambar 4.1.:** Hasil tumpang tindih konformasi ligan alami sebelum docking (merah) dan setelah dilakukan simulasi docking (hijau) menggunakan perangkat lunak Discovery Studio, dengan nilai RMSD yang diperoleh sebesar 2.660 Å.



**Gambar 4.1 Simulasi Molekuler Docking**

### **Analisis Hasil Docking Molekuler**

**Gambar 4.2.:** Struktur kristal protein tirosinase yang telah disiapkan dengan menghilangkan molekul air, ko-faktor, dan ligan alaminya.



**Gambar 4.2. Analisis Hasil Docking Molekuler.**

**Tabel 4.1.** Hasil Energi ikatan ligan alami dan metabolit dari tanaman Daun TehHijau terhadap reseptor.

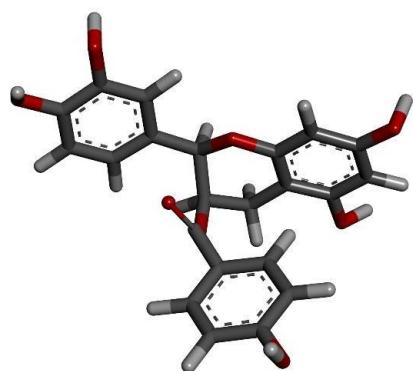
| NO | Senyawa                    | Energi Pengikat (Kkal/Mol) |
|----|----------------------------|----------------------------|
| 1. | Ligan Alami                | (-5.39)                    |
|    |                            |                            |
| 2. | Epiafzelechin 3-O- gallate | (-06.57)                   |
|    |                            |                            |

---

3.

Epicatechin 3-O- (4-O-methylgallate)

(-4.73)

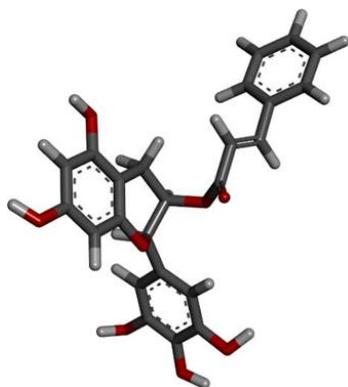


---

4.

Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate

(-6.66)

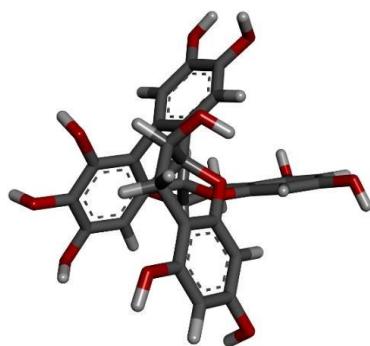


---

5.

Epigallocatechin 3-O-cinnamate

(-3.82)

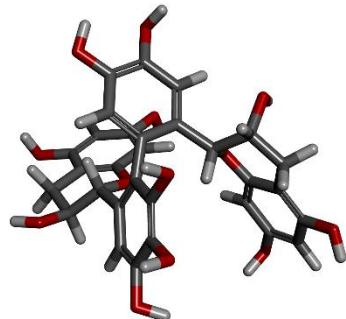


---

6.

Desgalloyl Theasinensin F

(-2.49)

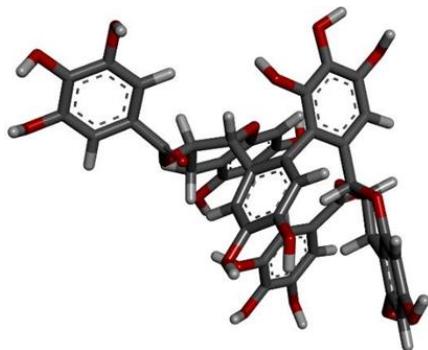


---

7.

Theasinensin F

(675.16)



---

8.

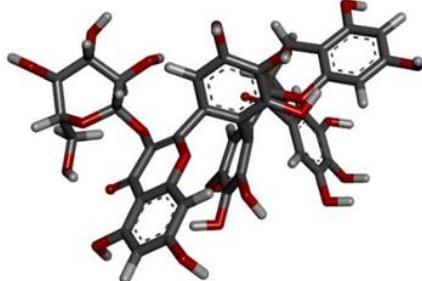
Desgalloyl theaflavonin

(26.78)



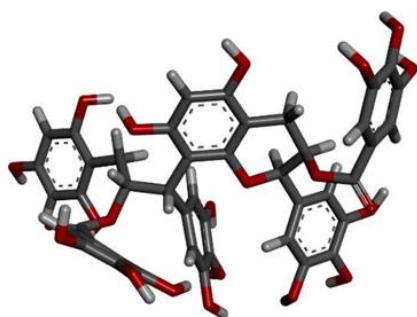
---

9. Theaflavonin (131.78)



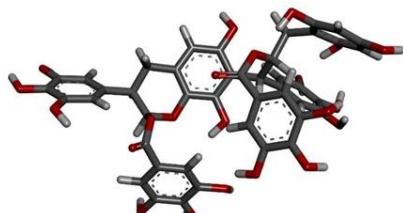
---

10. Assamicain A (155.28)



---

11. Assamicain C (758.56)



---

#### Evaluasi Interaksi Asam Amino

Tabel 4. 2. Interaksi residu asam amino dari ligan uji dengan protein Tirosinase.

| NO | Senyawa | Ikatan Hidrogen | Interaksi Hidrogen | Interaksii Unfavorable | Jumlah Interaksi Asam Amino Yang Saman Dengan Ligan Alami |
|----|---------|-----------------|--------------------|------------------------|---|
|    |         |                 |                    |                        |   |

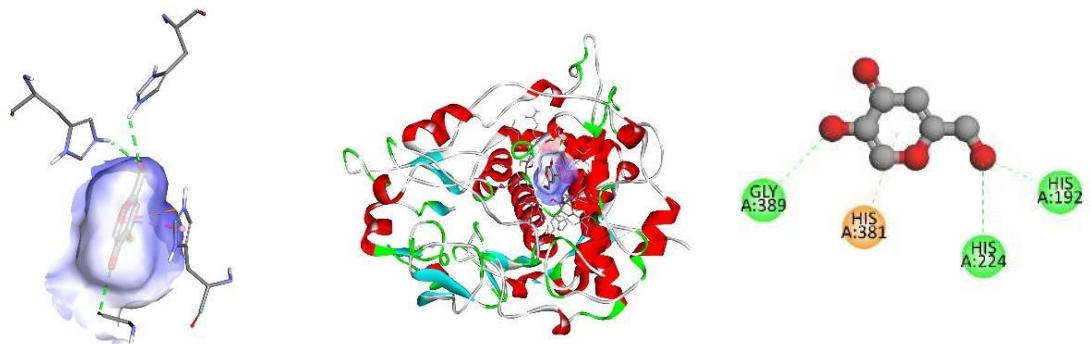
|    |                                    |   |   |   |     |
|----|------------------------------------|---|---|---|-----|
| 1. | Ligan Alami                        | GLY A:389,<br>HIS A:224,<br>HIS A:192   | GLY A:389,<br>HIS A:381,<br>HIS A:224,<br>HIS A:192   | (0)   | (0) |
| 2. | Epiafzelechin 3-O-gallate          | ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>THR A:391,<br>SER A:394,<br>HIS A:377,<br>GLU A:216 | TYR A:362,<br>ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>LUE A:386,<br><b>HIS A:381</b> ,<br>THR A:391,<br>SER A:394,<br>HIS A:377,<br>GLU A:216 | (0)   | (1) |
| 3. | Epicatechin 3-O-(4-O-methylgallat) | ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>THR A:391,<br>SER A:394,<br>HIS A:215,<br>GLU A:216 | TYR A:363,<br>ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>LUE A:384,<br>THR A:391,<br>SER A:394,<br>HIS A:215,<br><b>HIS A:381</b> ,<br>GLU A:216 | (0)   | (1) |
| 4. | Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate  | <b>GLY A:389</b> ,<br>ARG A:374,<br>GLU A:216                                   | <b>HIS A:381</b> ,<br>ARG A:321,<br>LUE A:382,<br>ARG A:374,<br>TYR A:362,<br>GLU A:216   | (0)   | (3) |
| 5. | Epigallocatechin 3-O-cinnamate     | THR A:391,<br>ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>ASP A:212,<br>GLY A:388               | ARG A:374,<br>ARG A:321,<br>ASP A:212,<br>GLN A:390,<br>GLY A:388,<br>HIS A:215,<br>GLU A:216,<br>THR A:391                       | (0)   | (0) |
| 6. | Desgalloyl theasinensin F          | ASP A:82  | PRO A:74,<br>ASP A:82,<br>HIS A:75,<br>SER A:76,<br>PRO A:77,<br>TYR A: 79,<br>PRO A:80,<br>ASN A:429                             | (0)   | (0) |
| 7. | Theasinensin F                     | ARG A:374,<br>HIS A:215   | ARG A:321,<br>GLN A:390,<br><b>HIS A:381</b> ,<br>HIS A:215,<br>ARG A:374,<br>TYR A:362   | GLY A:389<br>LUE A:382<br>GLY A:388<br>SER A:394<br>GLU A:216<br>TYR A:362<br>THR A:391 | (1) |
| 8. | Desgalloyl theaflavonin            | GLY A:388,<br>THR A:391,  | LUE A:382,<br>GLY A:388,  | GLU A:216<br>TYR A:362  | (0) |

|     |              |  |   |  |     |
|-----|--------------|--|---|--|-----|
|     |              | SER A:394,<br>ARG A:374                | THR A:391,<br>SER A:394,<br>ARG A:374,<br>ARG A:321   | HIS A:215<br>GLY A:389   |     |
| 9.  | Theaflavonin | GLY A: 388,<br>HIS A:215,<br>ARG A:374 | GLY A:388,<br><b>HIS A:381</b> ,<br>ASN A: 378,<br>HIS A:215,<br>ASP A:212,<br>HIS A:377,<br>LUE A:382, | VAL A:196<br>SER A:394<br>THR A: 391<br>TYR A: 362<br>GLU A:216<br>GLY A:389<br>GLU A:360<br>ARG A:321   | (1) |
| 10. | AssamicainA  | ARG A:321                              | ARG A:321,<br>ARG A:374,<br>HIS A:215,<br>GLN A:390,  | GLU A:216<br>UNK 0<br>TYR A:362<br>GLY A:389<br>THR A:391<br>ASN A:378<br>HIS A:381<br>LUE A:382   | (0) |
| 11. | Assamicain C | ASP A:397,<br>ARG A:374,<br>ASN A:378  | ASP A:397,<br>SER A:394,<br><b>HIS A:224</b> ,<br>ARG A:374,<br>ASN A:378                               | HIS A:215<br>THR A:391<br>SER A:394<br>LUE A:384<br>HIS A:381<br>GLY A:388<br>GLY A:389<br>HIS A:377<br>LUE A:382<br>PHE A:220<br>GLU A:360<br>TYR A:362 | (1) |

**Catatan :** Cetak tebal merupakan residu asam amino dari senyawa yang berinteraksi dengan residu asam amino ligan alami.

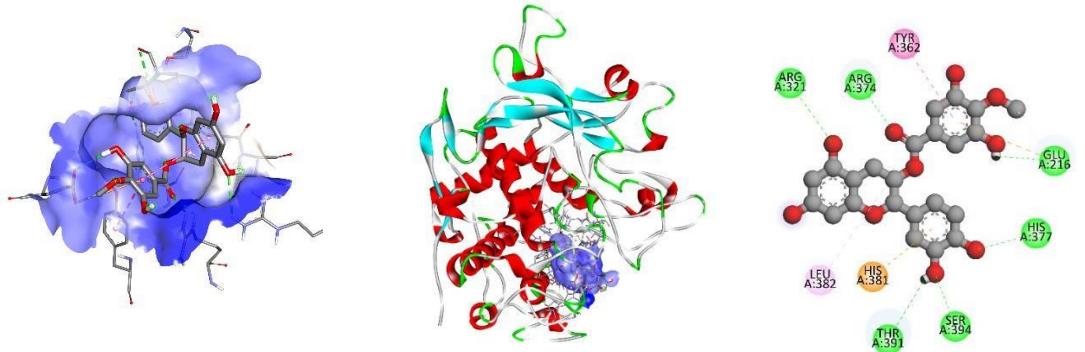
**Tabel 4. 3.** Gambar Senyawa ligan dan Protein dalam bentuk 2D.

1.



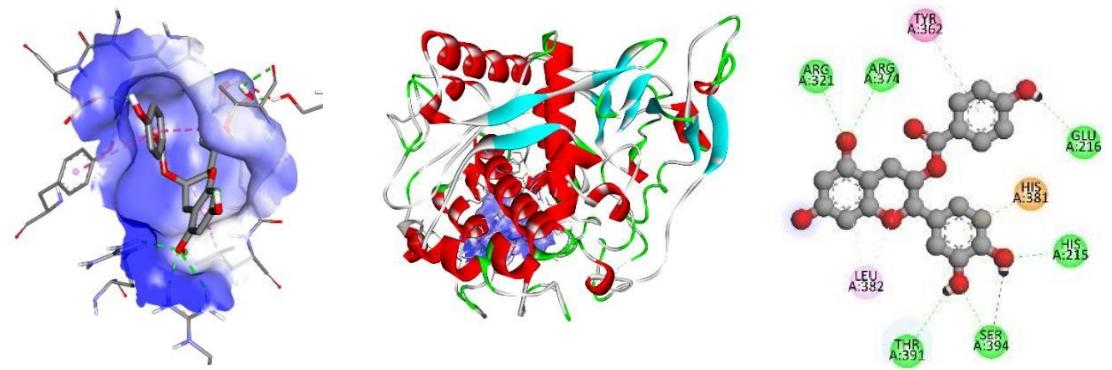
---

2.



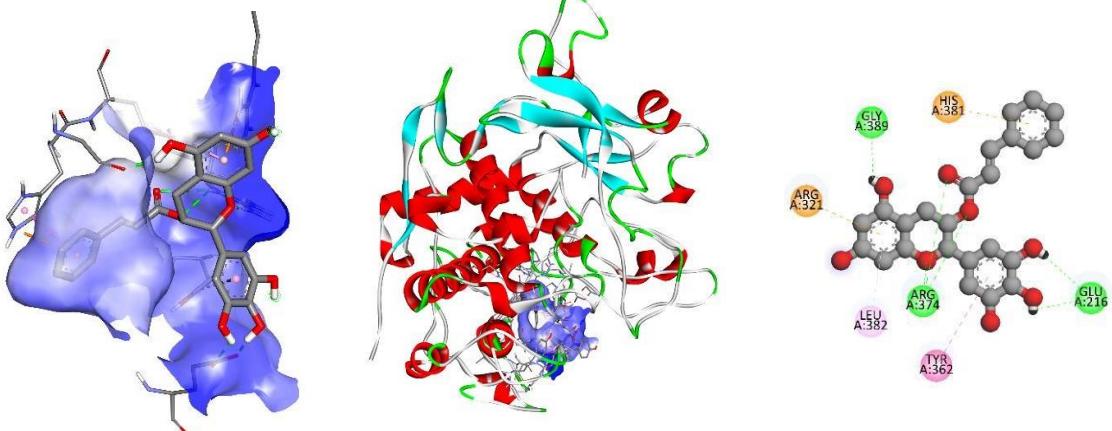
---

3.

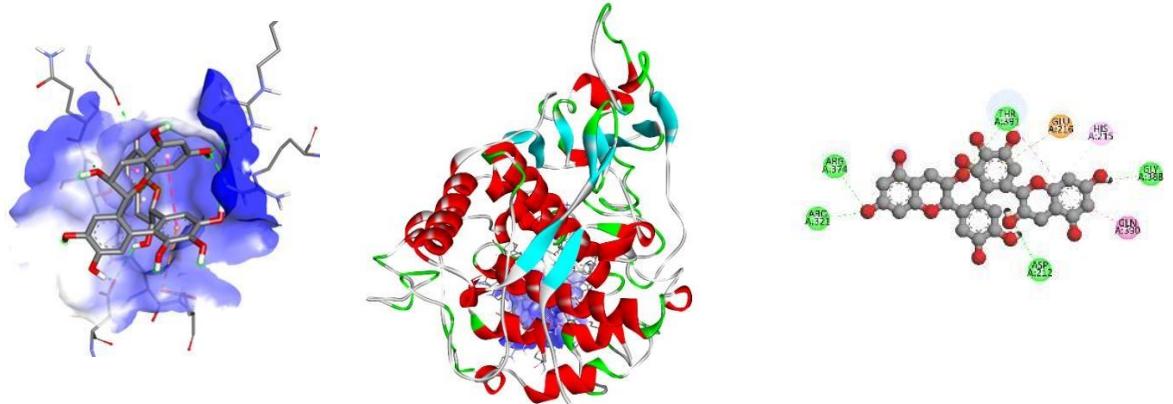


---

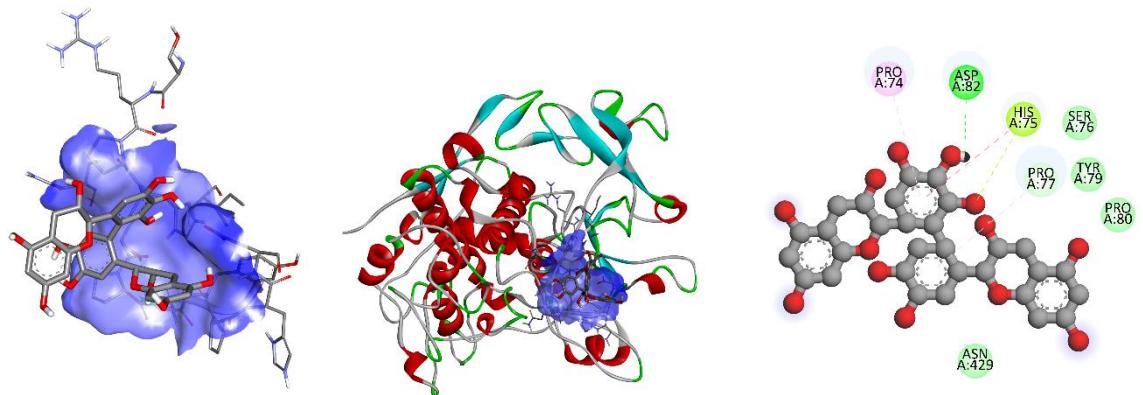
4.



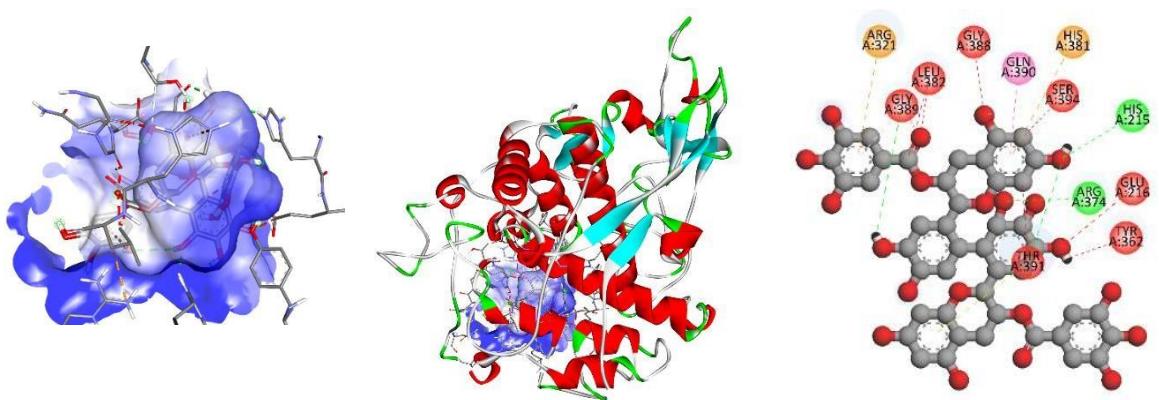
5.



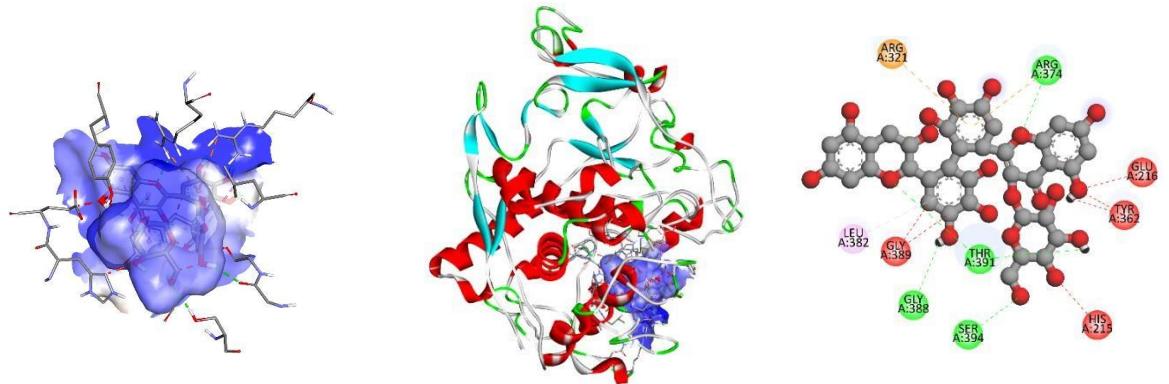
6.



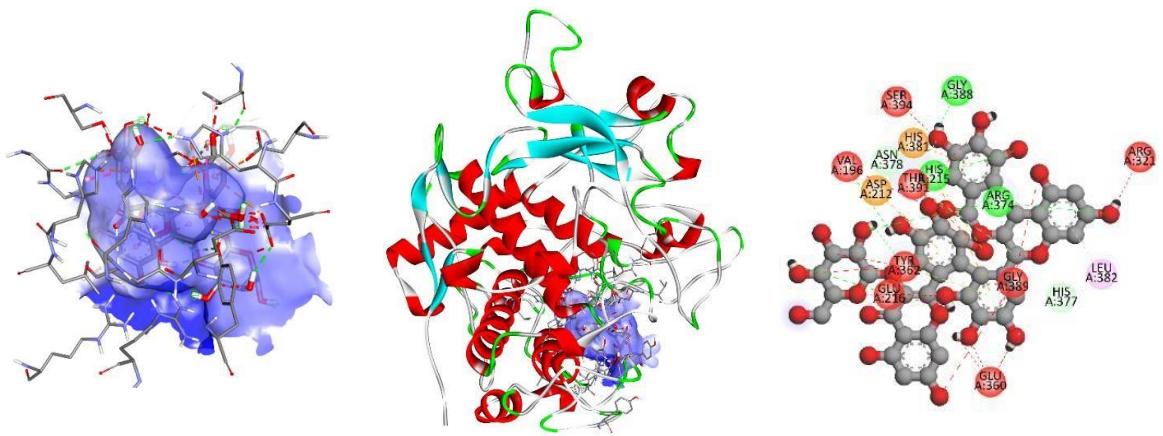
7.



8.

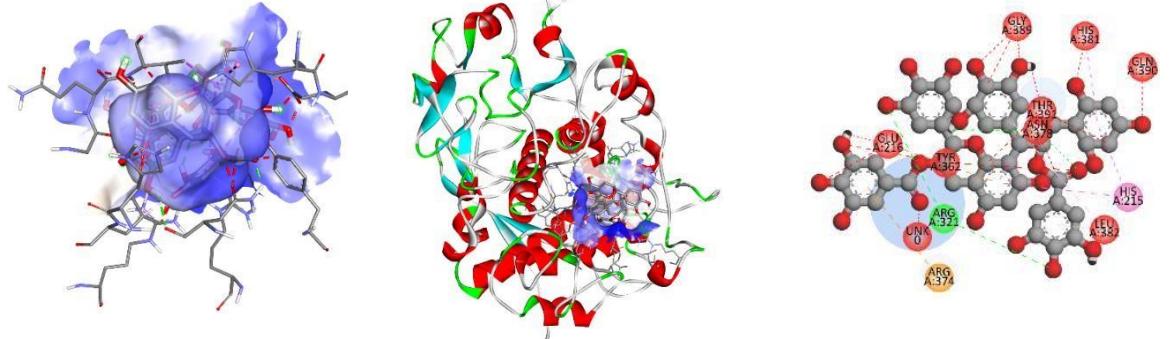


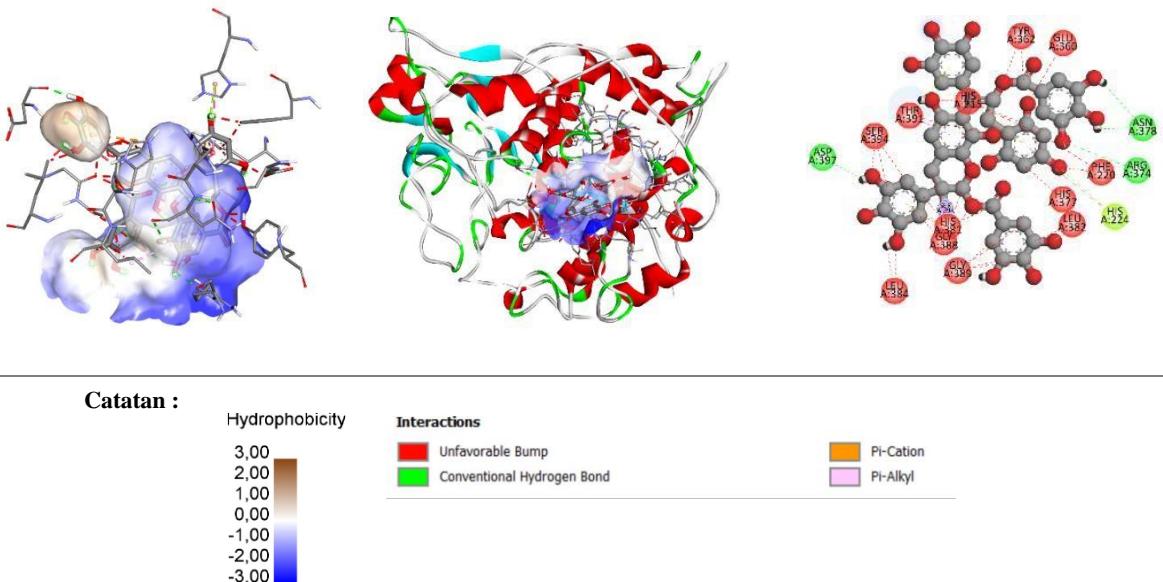
9.



---

10





## **PEMBAHASAN**

### **Simulasi Docking Molekuler**

Metode docking divalidasi menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 2017, dan parameter Root Mean Square Deviation (RMSD) diukur secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak Pymol (Yasin et al., 2020). Validasi metode docking bertujuan untuk memilih metode yang sesuai untuk tahap selanjutnya, yaitu simulasi docking dan simulasi dinamika molekuler senyawa metabolit pada tanaman *Camellia sinensis* L. Untuk memenuhi kriteria validasi, nilai RMSD harus kurang dari 3 Å yang menunjukkan konsistensi antara metode docking yang digunakan dengan posisi ligan alami (Syah et al., 2024). Selama proses validasi, dilakukan 100 kali pencarian konformasi dengan ukuran kotak grid yang mencakup seluruh area senyawa uji untuk mendapatkan hasil yang dapat diandalkan. Pada **Gambar 4.1**, hasil simulasi metode docking menunjukkan nilai RMSD sebesar 2.660 Å. Nilai ini menunjukkan bahwa posisi ligan hasil docking mendekati posisi ligan alaminya (Huey, Morris dan Forli, 2012). Oleh karena itu, metode validasi docking ini dapat digunakan untuk melakukan simulasi docking dan simulasi dinamika molekuler senyawa pada tanaman Daun teh hijau (*Camellia Sinensis* L.) terhadap reseptor Enzim Titosinase.

## **Analisis Hasil Docking Molekuler**

Dalam penelitian ini, molekul protein yang diambil adalah enzim tirosinase, yang digunakan sebagai reseptör, sedangkan asam kojat digunakan sebagai ligan alami atau ligan pembanding. Protein tirosinase diperoleh dari Protein Data Bank kode PDB (5M8M). Seperti yang terlihat pada Gambar 4.2, ditunjukkan struktur protein tirosinase setelah melalui proses preparasi yang menghilangkan molekul air, ko-faktor, dan ligan alaminya.

Enzim tirosinase berperan sebagai katalis dalam proses melanogenesis, di mana tirosin dioksidasi menjadi dopaquinone oleh enzim ini. Melanogenesis menghasilkan melanin, yang berfungsi untuk melindungi kulit dari paparan sinar ultraviolet. Namun, dalam keadaan tertentu, produksi melanin bisa meningkat secara berlebih yang dikenal sebagai hiperpigmentasi. Untuk mencegah hal ini, diperlukan senyawa yang mampu menghambat aktivitas enzim tirosinase serta sintesis melanin. Contohnya adalah asam kojat, yang dalam penelitian ini digunakan sebagai ligan pada protein atau reseptör dengan kode PDB (5M8M). Asam kojat juga sering digunakan dalam produk kosmetik untuk membantu memudarkan bintik-bintik penuaan dan mengatasi hiperpigmentasi kulit (Marcellino Rudyanto et al., 2022).

Pada validasi metode docking molekulir dilakukan dengan Autodock Tools (Autodock 4.2 dan Autogrid) untuk melakukan redocking dari ligan unik ke protein enzim tirosinase setelah menghilangkan ligan alami tersebut. Pada proses grid box ini bertujuan untuk menentukan

koordinat dari senyawa ligan alami yang kemudian digunakan untuk koordinat sebagai ligan uji (Syahputra et al., 2022)

Setelah proses validasi, ligan kemudian ditambahkan ke situs aktif reseptor menggunakan metode yang mirip dengan pendekatan validasi, dan konformasi masing-masing ligan dinilai. Energi pengikatan yang diperoleh telah disajikan pada Tabel 4.3. Interaksi yang stabil antara ligan dan reseptor cenderung memiliki nilai energi yang lebih rendah. Tabel 4.3 kolom 4 menunjukkan bahwa afinitas terbaik di antara semua metabolit adalah sen000yawa Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate, karena memiliki nilai energi bebas ikat terendah yaitu -6.66 Kkal/mol dibandingkan dengan metabolit lainnya. Energi ikatan ini lebih rendah dibanding energi ikatan ligan alami, dimana energi ikatan ligan alami adalah -5.39 Kkal/mol. Nilai yang lebih kecil dalam konteks ini menyiratkan bahwa senyawa tersebut memiliki konstanta penghambatan yang lebih rendah, dan semakin kecil konstanta penghambatan, semakin efektif aktivitas penghambatannya

### Evaluasi Interaksi Asam Amino

Evaluasi interaksi asam amino antara ligan alami dengan metabolit yang terdapat pada tanaman Daun teh hijau (*Camellia sinensis* L.) terhadap reseptor Enzim Tirosinase kemudian dilakukan seperti yang terlihat pada **Tabel 4.4**. Fokus utama dari evaluasi ini adalah membandingkan interaksi ikatan hidrogen antar ligan alami dan metabolit dari asam amino yang relevan dalam konteks sistem biologis.

Beberapa senyawa metabolit yang dianalisis menunjukkan pola interaksi yang berbeda-beda ada yang serupa dan beberapa juga yang tidak serupa dalam pembentukan ikatan hidrogen dibandingkan dengan ligan alami. Hal ini menunjukkan bahwa beberapa ligan tersebut memiliki kesamaan dan perbedaan dalam cara mereka berinteraksi dengan asam amino pada tingkat molekuler. Namun, di antara berbagai senyawa yang diteliti, senyawa Epicatechin 3-O-p hydroxybenzoate menunjukkan pola interaksi paling serupa dengan ligan alami, karena senyawa Epicatechin 3- O-p hydroxybenzoate juga tidak mempunyai interaksi Unfavorable. Interaksi terbagi menjadi 2 yaitu favorable (interaksi yang disukai) dan Unfavorable (interaksi yang tidak disukai), Unfavorable terjadi karena adanya tabrakan sterik. Efek sterik adalah dampak yang terjadi karena setiap atom dalam molekul menduduki ruang tertentu. Ketika atom-atom mendekati satu sama lain, ini dapat menyebabkan pelepasan energi terkait dengan tumpang tindih awan elektron (interaksi Pauli atau pertukaran, atau repulsi Born), yang pada gilirannya mempengaruhi bentuk (konformasi) dan reaktivitas molekul tersebut, contoh interaksi Unfavorable terlihat pada **Tabel 4.5 Kolom 7, 8, 9, 10 dan 11** yang ditandai dengan interaksi bulat berwarna merah. Pada senyawa Epicatechin 3-O-p hydroxybenzoate terlihat mempunyai kesamaan interaksi dengan ligan alami sebanyak 3 residu asam amino yaitu interaksi dengan asam amino **GLY A:389, HIS A:381, GLY A:389**, (ditandai dengan cetak tebal pada **Tabel 5**). Hasil ini menunjukkan bahwa semua metabolit memiliki kemampuan untuk membentuk suatu ikatan hidrogen dan berinteraksi dengan asam amino pada tingkat yang hampir sama. Namun, senyawa Epicatechin 3-O-p hydroxybenzoate menunjukkan keunggulan yang signifikan dengan ikatan hydrogen, hidrofobik dan van der waals yang bisa lebih spesifik di bandingkan dari ligan alami sebagai senyawa referensi.

### KESIMPULAN

Hasil penelitian ini mengarah pada prediksi stabilitas ligan pada reseptor Enzim Tirosinase. Hasil docking molekuler menunjukkan bahwa kompleks Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate terhadap tirosinase memberikan energi ikat yang lebih rendah dari pada senyawa bioaktif lainnya dan menunjukkan kemiripan yang erat dengan kompleks ligan alami-reseptor enzim tirosinase. Menariknya, stabilitas dari simulasi dinamika molekuler, menunjukkan ligan Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate memiliki stabilitas yang sama juga dengan ligan alami. Penelitian ini menunjukkan bahwa metabolit *Camellia sinensis* L., yaitu Epicatechin 3-O-p-hydroxybenzoate, memberikan potensi sebagai senyawa utama untuk dikembangkan sebagai inhibitor penghambat Enzim Tirosinase.

## SARAN

Peneliti selanjutnya diharapkan dapat melakukan analisis hasil docking dan evaluasi interaksi asam amino dengan menggunakan ligan dan preseptor yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aryanti, R., Perdana, F., & Syamsudin, R. A. M. R. (2021). Telaah Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan pada Teh Hijau (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). *Jurnal Surya Medika*, 7(1), 15–24. <https://doi.org/10.33084/jsm.v7i1.2024>
- Lisnawati, D., Wijayanti, A., & Puspitasari, A. (2016). Tingkat Pengetahuan Dan Persepsi Bahaya Kosmetika Yang Mengandung Bahan Pemutih Di SMK Negeri 4 Yogyakarta. *Media Farmasi: Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(1), 122. <https://doi.org/10.12928/mf.v13i1.5747>
- Marcellino Rudyanto, Rudyanto, M., & Agus Purwanto, D. (2022). Aktivitas Antioksidan Teh Hijau dan Teh Hitam. *Camellia*, 1(2), 48–55.
- Meily, A., Purwanto, A., Gubernur Sarkawi, J., Bakti, H., & Selatan, K. (2021). STUDI PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA FLAVONOID DAUN TABAT BARITO (*Ficus deltoidea* Jack) DALAM MENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE MOLECULAR DOCKING STUDY OF FLAVONOID COMPOUNDS IN TABAT BARITO LEAVES (*Ficus deltoidea* Jack) FOR INHIBITING TYROSINASE ENZYME. *Medical Sains*, 6(1), 25–34.
- Mustika, R., Hindun, S., & Auliasari, N. (2020). Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 2(4), 558–562. <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.233>
- Novitasari, Ervina, G. N. F. M. P., Rahmawati3, Y., & Ruswanto. (n.d.). *NIPIS ( CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE ) SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE DENGAN AUTODOCK-VINA* Mahasiswa Farmasi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya *Hydroquinone has been used in cosmetics because it has whitening activity . In previous studies , Hesper.*
- Sagala, Z., & Telaumbanua, K. (2020). FORMULASI, UJI STABILITAS DAN AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE SEDIAAN KRIM DARI EKSTRAK BUAH HARENDONG (*Melastoma affine* D. Don) FORMULATION, STABILITY TEST AND ENZYME ACTIVITY TEST TYROSINASE OF CREAM PEPARATIONS FROM HERENDONG FRUIT EXTRACT(*Melastom*. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(2), 149–173.
- Syah, D., Ramadhan, F., Luh, N., Indraswari, A., Hakim, S., Rusli, R., Nurisyah, N., Asikin, A., Fakih, T. M., Askar, M., Farmasi, J., Makassar, P. K., Gau, J. B., Makassar, K., & Selatan, S. (2024). Identifikasi Metabolit Bioaktif pada Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) menggunakan Komputasi Dinamika Molekuler untuk Penargetan HER-2 Kanker Payudara. 10(1), 268–279.
- Syahputra, R., Utami, D., Widyaningsih, W., Dahlan, A., Soepomo, J., Janturan, S., Farmakologi dan FarmasiKlinik, D., & Ahmad Dahlan, U. (2022). STUDI DOCKING MOLEKULER AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM TIROSINASE UBI JALAR (*Ipomoea batatas* L. Lam) MOLECULAR DOCKING STUDY OF TYROSINASE ENZYME INHIBITION ACTIVITY OF SWEET POTATOES (*Ipomoea batatas* L. Lam). In *Pharmacon: JurnalFarmasi Indonesia* (Vol. 19, Issue 1). <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

