



Studi *In Silico* Theaflavin sebagai Agen Anti-Photoaging

In Silico Study of Theaflavin as an Anti-Photoaging Agent

Putu Dewi Febyani¹, I Gede Bayu Krisnayana¹,

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

Kata kunci

theaflavin, MMP-1, in silico, molecular docking, photoaging

Abstrak

Photoaging merupakan penuaan kulit akibat faktor ekstrinsik. Photoaging terjadi akibat degradasi kolagen yang berlebihan karena paparan radiasi UV yang berlebih. Paparan sinar UV berlebih memicu induksi aktivitas MMP-1, yang aktif mendegradasi kolagen pada kulit. Senyawa theaflavin diketahui memiliki aktivitas farmakologi terkait anti-photoaging. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui mekanisme penghambatan MMP-1 oleh theaflavin, senyawa polifenol dengan aktivitas antioksidan yang tinggi, dengan menggunakan molecular docking in silico. Molecular docking secara in silico dilakukan dengan beberapa tahapan seperti optimasi struktur senyawa theaflavin 3D, preparasi protein target, validasi metode, dan docking antara senyawa theaflavin teroptimasi dengan enzim MMP-1 (PDB ID: 966C) yang mengacu pada parameter energi ikatan dimana semakin rendah nilai energi ikatan maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terjadi antara senyawa theaflavin dengan enzim MMP-1. Diperoleh hasil docking berupa energi ikatan senyawa theaflavin dengan enzim MMP-1 yaitu -10,56 kkal/mol, sedangkan energi ikatan native ligand dengan enzim MMP-1 adalah -11,03 kkal/mol. Energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa senyawa theaflavin memiliki potensi sebagai agent anti-photoaging karena mampu menghambat enzim MMP-1.

Keywords

theaflavin, MMP-1, in silico, molecular docking, photoaging

Abstract

Photoaging is skin aging due to extrinsic factors. Photoaging occurs due to excessive degradation of collagen caused by excessive exposure to UV radiation. Excessive UV exposure triggers induction of MMP-1 activities that actively degrade collagen in skin. Theaflavin is known to have pharmacological activity related to anti-photoaging. This study aims to determine the mechanism of MMP-1 inhibition by theaflavin, a polyphenol compound with high antioxidant activity, using in silico molecular docking. Molecular docking in silico is carried out in several step such as optimization of the 3D structure of theaflavin compounds, preparation of target protein, method validation, and docking between optimized theaflavin compounds and the MMP-1 enzyme (PDB ID: 966C) which refers to the binding energy parameter where The lower the binding energy value, the stronger and more stable the bond between theaflavin compound and the MMP-1 enzyme will be. The results obtained in the form of an binding energy between theaflavin compound with the MMP-1 enzyme, which is -10,56 kcal/mol, while the binding energy native ligand with the MMP-1 enzyme is -11,03 kcal/mol. This energy indicates that theaflavin compounds have potential as anti-photoaging agents because they are able to inhibit the MMP-1 enzyme.

© 2022 Jurnal Jejaring Matematika dan Sains. This work is licensed under a [CC BY-NC 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

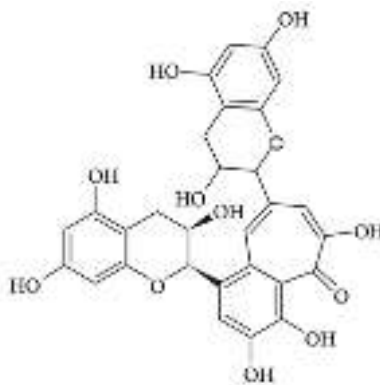
Corresponding Author:

*Alamat e-mail: dewifebyani02@gmail.com

PENDAHULUAN

Penuaan kulit merupakan proses fisiologis yang ditandai dengan perubahan struktur lapisan kulit yang menyebabkan perubahan penampilan kulit yang tidak dapat dihindarkan [1]. Penuaan kulit secara umum dibagi menjadi dua kategori, yaitu penuaan intrinsik dan penuaan ekstrinsik. Penuaan kulit akibat faktor intrinsik atau disebut juga dengan penuaan kronologis, yaitu penuaan kulit yang berhubungan dengan bertambahnya usia yang ditandai dengan kulit yang lebih pucat, munculnya kerutan halus, dan kulit yang lebih kering [2]. Selain faktor usia, faktor intrinsik berhubungan dengan ras, variasi anatomi kulit dan perubahan hormonal [3]. Penuaan ekstrinsik adalah penuaan yang disebabkan oleh pengaruh eksternal seperti sinar matahari, polusi udara, dan merokok [4]. Faktor ekstrinsik merupakan penyebab utama dalam proses penuaan kulit akibat paparan sinar

matahari yang mengandung sinar ultraviolet (UV), sehingga faktor ekstrinsik sering disebut dengan istilah *photoaging* [5]. Paparan kronis radiasi UV pada kulit manusia menyebabkan elastosis matahari, degradasi matriks ekstraseluler (ECM), dan pembentukan kerutan. Matriks dermal mengandung protein ECM seperti kolagen, elastin, dan proteoglikan yang bertanggung jawab untuk memberikan kekuatan dan ketahanan pada kulit [6]. Paparan radiasi sinar UV dapat memicu terbentuknya Reactive Oxygen Species (ROS) yang kemudian akan diikuti dengan ekspresi gen dan protein yang memicu kerusakan kulit dan kanker kulit [7]. Reactive Oxygen Species (ROS) intraseluler berkontribusi besar terhadap penuaan kulit, dimana ROS intraseluler ini akan mengaktifkan jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK), yang akan membentuk faktor transkripsi activator protein-1 (AP-1). Faktor transkripsi AP-1 ini berperan penting dalam regulasi enzim transkripsi matrix metalloproteinases (MMPS), terutama MMP-1 (collagenase tipe-1) yang bekerja mendegradasi kolagen tipe I di kulit. Penghambatan enzim MMPS yang bekerja mendegradasi kolagen kulit dapat mengatasi permasalahan *photoaging* kulit [8]. Agen anti-*photoaging* yang umum digunakan adalah tretinoin dan tazarotene yang merupakan retinoid topikal untuk perawatan kulit *photoaging* [9]. Namun senyawa tersebut memiliki efek samping yang berbahaya bagi tubuh, seperti bersifat teratogenik, dapat menyebabkan perubahan aktivitas enzim alkaline phosphatase, anemia, tulang rapuh, dan degenerasi testis. Oleh karena itu, perlu dikembangkan senyawa anti-*photoaging* dengan efek samping yang lebih sedikit dan aman untuk penggunaan jangka panjang. Contoh senyawa yang dapat dikembangkan sebagai agen anti-*photoaging* adalah theaflavin. Theaflavin merupakan hasil fermentasi (oksidasi enzimatis) senyawa katekin yang bertanggung jawab untuk membentuk warna cerah (*bright color*) dan rasa segar (*brisk taste*) [10]. Theaflavin memiliki manfaat kesehatan terkait dengan jumlah gugus hidroksi (OH). Gugus hidroksi ini dapat berfungsi sebagai anti radikal bebas atau antioksidan, karena semakin banyak gugus hidroksi suatu senyawa maka semakin baik kemampuannya sebagai senyawa antioksidan. Potensi aktivitas anti-*photoaging* dapat diidentifikasi lebih lanjut untuk theaflavin dengan teknik *docking* molekuler *in silico*. Pendekatan *molecular docking in silico* dapat memprediksi interaksi suatu protein dengan ligan sehingga aktivitas senyawa bioaktif dan aksi sinergisnya dengan obat lain [11]. Oleh karena itu, melalui pendekatan *molecular docking in silico* diketahui aktivitas theaflavin sebagai inhibitor MMP-1 dalam mengatasi penuaan kulit dini akibat paparan radiasi ultraviolet.



Gambar 1. Struktur Theaflavin [12]

METODE PENELITIAN

Optimisasi Struktur 3D Theaflavin

Struktur 3D senyawa theaflavin yang telah diunduh sebelumnya dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dioptimasi menggunakan program HyperChem 8. Optimisasi struktur 3D senyawa theaflavin dengan atom hidrogennya dilakukan dengan metode komputasi semi-empiris AM1, serta dilakukan kalkulasi *single point* dan optimisasi geometri.

Preparasi Protein

Protein MMP-1 sebelumnya diunduh dari <https://www.rcsb.org/>. Proses preparasi MMP-1 dilakukan dengan memisahkan protein (MMP-1) dengan ligan menggunakan software Chimera 1.10.1.

Validasi Metode *Docking Molecular*

Validasi metode dilakukan dengan melakukan *redocking* ligan asli RS2 ke protein MMP-1 menggunakan Autodock 4.2. Ukuran *grid box* diatur dan disesuaikan dengan nilai $x = 40$, $y = 40$, $z = 40$; *grid center* $x =$

9,166 , $y = -10,353$, $z = 38,398$. Parameter validasi dari *molecular docking* didasarkan pada nilai *Root Mean Square Distance* (RMSD) dengan $\leq 3.0 \text{ \AA}$ [13]

Docking Theaflavin terhadap MMP-1

Theaflavin yang telah dioptimasi kemudian di-*docking*-kan dengan protein MMP-1 yang telah dipreparasi menggunakan program Autodock 4.2 dengan *grid box* yang sama untuk validasi. Hasil *docking* menghasilkan theaflavin dengan konformasi energi paling rendah [14]. Semakin rendah energi ikatan maka semakin kuat interaksi yang terbentuk, yang menunjukkan potensi senyawa tersebut sebagai agen anti-*photoaging* [15].

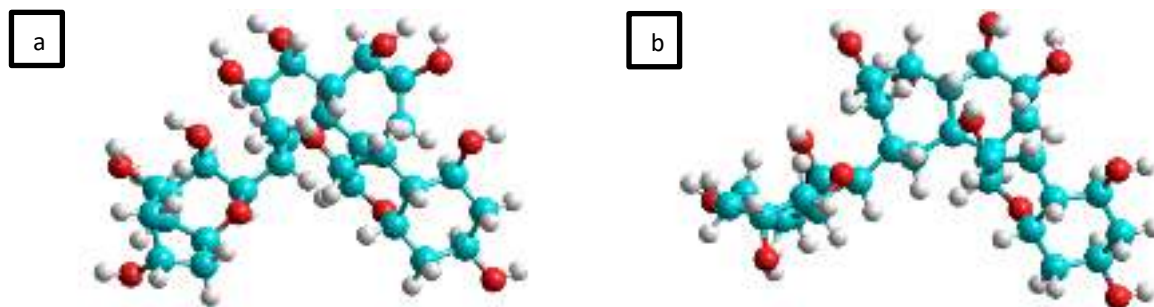
Analisis Data

Proses molekuler *docking* menghasilkan energi ikatan dan ikatan hidrogen antara protein theaflavin dan MMP-1. Semakin kuat ikatan yang terbentuk ditunjukkan dengan semakin rendahnya energi ikatan [16]. Kesamaan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi menunjukkan adanya kesamaan tempat berikatan antara ligan asli RS2 dan theaflavin terhadap protein MMP-1 [17] .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Struktur 3D Theaflavin

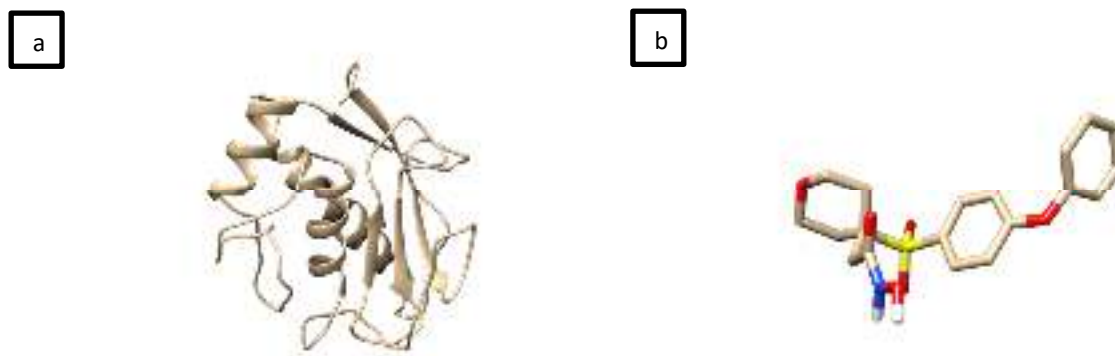
Proses optimasi dilakukan dengan kalkulasi *single point* dan optimasi geometri. Kalkulasi *single point* adalah perhitungan yang digunakan untuk menentukan total energi molekul theaflavin tanpa melalui proses optimasi. Sedangkan optimasi geometri bertujuan untuk meminimalkan energi agar diperoleh struktur yang paling stabil yang ditandai dengan penurunan nilai energi total theaflavin [18]. Energi total dari kalkulasi *single point* theaflavin adalah $-7695,09 \text{ kkal/mol}$ dan menurun menjadi $-8785,23 \text{ kkal/mol}$ setelah optimasi geometri menunjukkan bahwa optimasi berhasil memperoleh struktur yang stabil dengan energi yang lebih rendah.



Gambar 2. (a) Struktur Theaflavin Hasil Kalkulasi *Single Point*; (b) Struktur Theaflavin Hasil Optimasi Geometri

Preparasi Protein MMP-1

Preparasi protein MMP-1 (PDB ID: 966C) dilakukan dengan memisahkan ligan asli RS2 menggunakan Chimera 1.10.1. Preparasi protein bertujuan untuk memisahkan ligan asli dari protein target, sehingga menyediakan *pocket* atau *binding site* yang akan digunakan selama proses *docking* [19].



Gambar 3. Struktur Rantai Enzim MMP-1 dan *Native Ligand*-nya (a) Struktur Rantai A Enzim MMP-1; (b) Struktur Native Ligand RS2

Validasi Metode Molecular Docking

Tahap validasi bertujuan untuk mengetahui kemiripan konformasi antara ligan asli RS2 dan protein MMP-1 secara kristalografi dibandingkan dengan hasil eksperimen. Proses validasi diawali dengan penambahan atom hidrogen pada protein target MMP-1. Penambahan atom hidrogen bertujuan untuk meningkatkan valensi molekuler sehingga ikatan hidrogen yang diperoleh optimum [20]. Proses redocking dilakukan dengan menggunakan metode semirigid untuk makromolekul [21]. Hasil proses validasi adalah sepuluh konformasi ligan asli RS2 ke situs aktif protein MMP-1 dengan nilai RMSD dan energi ikatan yang berbeda (Tabel 1). Konformasi yang dipilih adalah konformasi dengan nilai RMSD terendah dan memenuhi persyaratan validasi ($\text{RMSD} \leq 3,0$). Parameter RMSD menggambarkan perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah *docking* [22]. Semakin rendah nilai RMSD maka semakin dekat konformasi ligan asli yang di-*docking*-kan dengan posisi situs aktif protein target [13]. Konformasi 8 dengan nilai RMSD 0,99 menunjukkan bahwa metode dapat tervalidasi, dan energi ikat konformasi ini adalah -10,56 kkal/mol.

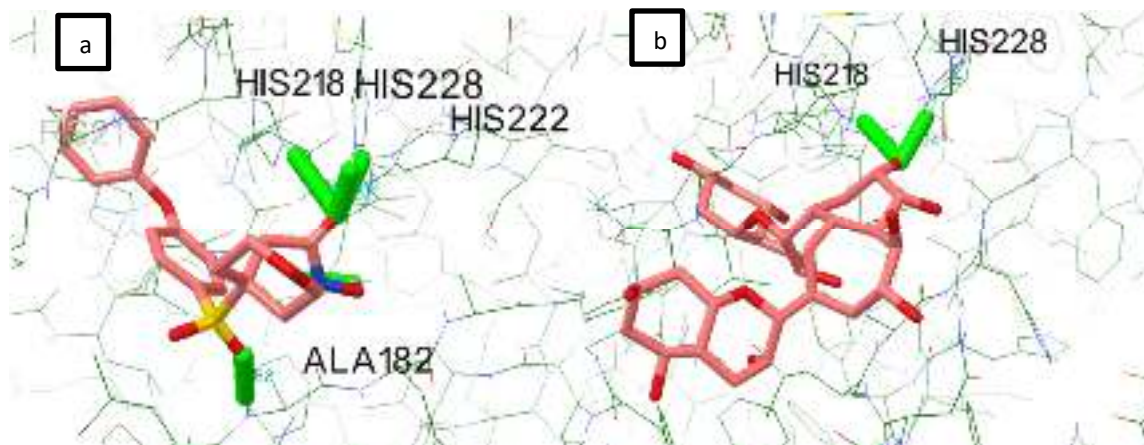
Tabel 1. Hasil Validasi Metode *Molecular Docking*

Protein	Ligan	Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	RMSD (Å)	Residu Asam Amino	Gugus Ikatan Hidrogen
MMP-1	RS2	1	-9,06	2,59	LEU181 HIS218 HIS228	HN-O25 HE2-O38 HE2-O38
		2	-9,03	1,81	ALA182 HIS218	HN-O33 HE2-O25
		3	-9,31	2,09	LEU181 ALA182	HN-O33 HN-O31
		4	-10,58	1,09	LEU181 HIS218 HIS228 ALA182	HN-O26 HE2-O31 HE2-O31 HN-O25
		5	-10,86	1,01	ALA182 HIS218 HIS228	HN-O25 HE2-O31 HE2-O31
		6	-8,91	2,72		HN-O26

				LEU181 ASN180 TYR240	HD21-O33 HN-O38
7	-10,30	1,07	HIS222 ALA182 HIS218 HIS228	HE2-O31 HN-O25 HE2-O31 HE2-O31	
8*	-10,56	0,99	HIS222 ALA182 HIS218 HIS228	HE2-O31 HN-O25 HE2-O31 HE2-O31	
9	-9,17	2,70	LEU181 TYR240	HN-O26 HN-O38	
10	-10,31	1,17	HIS222 ALA182 HIS218 HIS228	HE2-O31 HN-O25 HE2-O31 HE2-O31	

Docking Theaflavin terhadap Protein MMP-1

Struktur theaflavin yang telah dioptimasi kemudian di-*docking*-kan ke protein target MMP-1 menggunakan ukuran *grid box* yang sama selama validasi untuk memastikan senyawa tersebut ditambahkan di situs aktif. Tabel 2 menunjukkan konformasi 1 memiliki energi ikatan terendah (-11,03 kkal/mol) dengan RMSD terendah. Theaflavin berinteraksi dengan protein MMP-1 melalui ikatan hidrogen melalui residu HIS218 dan HIS228 mirip dengan ikatan hidrogen yang dibentuk oleh ligan asli RS2 dan protein MMP-1 (Gambar 4).



Gambar 4. Visualisasi Interaksi (a) visualisasi interaksi ligan asli RS2 dengan MMP-1; (b) visualisasi interaksi theaflavin dengan MMP-1.

KESIMPULAN

Theaflavin memiliki afinitas terhadap enzim MMP-1 dengan energi ikatan -11,03 kkal/mol. Theaflavin memiliki mekanisme molekular dalam menghambat MMP-1 yang ditunjukkan melalui pembentukan ikatan hidrogen antara theaflavin dengan enzim MMP-1.

REFERENSI

- [1] G. Baki and K.S. Alexander, *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*, New Jersey: John Willey & Sons, 2015.
- [2] M. Landau, "Exogenous factors in skin aging," *Current Problems in Dermatology*, vol. 35, pp. 1–13, 2007.
- [3] B. Poljsak, R.G. Dahmane, A. Godic, "Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress," *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat*, vol. 21, no. 2, pp. 33-6, 2012.
- [4] A. Vierkötter, T. Schikowski, U. Ranft, D. Sugiri, M. Matsui, U. Krämer, J. Krutmann, "Airborne particle exposure and extrinsic skin aging," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 130, no. 12, pp. 2719–2726, 2010.
- [5] D.J. Tobin, "Introduction to skin aging," *Journal of Tissue Viability*, vol. 26, no. 1, pp. 37–46, 2017.
- [6] H. Murakami, K. Shimbo, Y. Inoue, Y. Takino, H. Kobayashi, "Importance of amino acid composition to improve skin collagen protein synthesis rates in UV-irradiated mice," *Amino Acids*, vol. 42, no. 6, pp. 2481–2489, 2012.
- [7] P.H. Hart, M. Norval, "Ultraviolet radiation-induced immunosuppression and its relevance for skin carcinogenesis," *Photochemical and Photobiological Sciences*, vol. 17, no. 12, pp. 1872-1884, 2018.
- [8] P. Pittayapruerk, J. Meehansan, O. Prapapan, M. Komine, M. Ohtsuki, "Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. , pp. 868-888, 2016.
- [9] A. Han, A.L. Chien, S. Kang, "Photoaging," *Dermatologis Clinics*, vol. 32, no. , pp. 291-299, 2014.
- [10] Shabri, M. Hilman, "Sintesis dan isolasi theaflavin dari daun thea segar sebagai bahan bioaktif suplemen antioksidan," *Jurnal Penelitian Teh dan Kina*, vol. 20, no. , pp. 1-12, 2017.
- [11] T. Adelin, Frengki, D. Aliza, "Penambatan molekuler kurkumin dan analognya pada enzim siklooksigenase-2," *Jurnal Medika Veterinaria*, vol. 7, no. , pp. 30-34, 2013.
- [12] M. Jang, Y.I. Park, Y.E. Cha, R. Park, S. Namkoong, J.I. Lee, J. Park, "tea polyphenols egcg and theaflavin inhibit the activity of sars-cov-2 3cl-protease in vitro," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2020, pp. 1-7, 2020.
- [13] A.N. Jain, A. Nicholls, "Recommendations for evaluation of computational method," *Journal Computer Aided Molecular Design*, vol. 22, no. , pp. 133-139, 2008.
- [14] D.B. Kitchen, H. Decornez, J.R. Furr, J. Bajorath, "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications," *Nat Rev Drug Discov*, vol. 3, no. , pp. 935-949, 2004.
- [15] X. Du, Y. Li, Y.L. Xia, S.M. Ai, J. Liang, P. Sang, X.L. Ji, S.Q. Liu, "Insights into protein-ligand interactions: mechanisms, models, and methods," *Int J Mol Sci*, vol. 17, no. 2, pp. 1-34, 2016.
- [16] F. Suhud, S. Siswandono, T. Budiati, "Sintesis dan uji aktivitas senyawa 1-benzil-3-benzoilurea tersubstitusi bromo, kloro, fluoro dan triflorometil pada posisi para sebagai agen antiproliferatif," *Media Pharmaceutica Indonesiana*, vol. 1, no. , pp. 154-163, 2017.
- [17] H. Fikrika, L. Ambarsari, T. Sumaryada, "Molecular docking studies of catechin and its derivatives as anti-bacterial inhibitor for glucosamine-6-phosphate synthase," *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, vol. 31, no. , pp. 1-6, 2016.
- [18] K.D. Adnyani, L.W.E. Lestari, H. Prabowo, P.A. I.A. Siaka, N.P.L. Laksmiani, "Aktivitas dari

-
- kuersetin sebagai agen pencerah kulit secara in silico,” *Journal Of Chemistry*, vol. 13, no. 2, pp. 207-212, 2019.
- [19] N.P.L. Laksmiani, L.P.F. Larasanty, A.A.G.J. Santika, P.A.A. Prayoga, A.A.I.K. Dewi, N.P.A.K. Dewi, “Active compounds activity from the medicinal plants against sars-cov-2 using in silico assay,” *Biomed Pharmacol J*, vol. 13, no. 2, pp. , 2020.
- [20] G.M. Morris, D.S. Goodsell, M.E. Pique, W.L. Lindstrom, R. Huey, S. Forli, W.E. Hart, S. Halliday, R. Belew, A.J. Olson, *Autodock Version 4.2: Automated Docking of Flexible Ligands to Rigid Receptors*, USA: The Scripps Research Institute, 2012.
- [21] S. Leis, M. Zacharias, “Reflexin: a flexible receptor protein-ligand docking scheme evaluated on hiv-1 protease,” *PLoS One*, vol. 7, no. 10, pp. 1-13, 2012.
- [22] N. Philips, T. Keller, C. Hendrix, S. Hamilton, R. Arena, M. Tuason, S. Gonzalez, “Regulation of the extracellular matrix remodeling by lutein in dermal fibroblasts, melanoma cells, and ultraviolet radiation exposed fibroblasts,” *Arch Dermatol Res*, vol. 299, no. 8, pp. 373-379, 2007.