

## DOCKING MOLEKULER FITOKIMIA DAUN KATUK (*Sauropus androgynus*) SEBAGAI MODULATOR ENZIM CATHEPSIN

### Tinjauan Upaya Penghambatan Proses Autolisis pada Pembusukan Jenazah

Rizka Maulida<sup>1</sup>, Bambang Setiawan<sup>2</sup>, Nila Nirmalasari<sup>3</sup>, Iwan Aflanie<sup>4</sup>, Eko Suhartono<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Biokimia dan Biologi Molekuler, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Ilmu Kedokteran Kehakiman, RSUD Ulin, Banjarmasin, Indonesia

<sup>4</sup>Departemen Ilmu Kedokteran Kehakiman, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email korespondensi: [rizkamaulida575@gmail.com](mailto:rizkamaulida575@gmail.com)

**Abstract:** *Death occurs when an organism's overall functions permanently cease. Decomposition breaks down the structure of dead organisms. In autolysis, body enzymes aid decay. Cathepsin and calpain are cysteine proteases that catalyze protein breakdown through peptide bond hydrolysis. To reduce formalin exposure for forensic experts, anti-decay agents can be replaced. This study aims to analyze cathepsin enzyme interactions with active phytochemicals in katuk leaves (*Sauropus androgynus*) using in silico methods. Molecular docking analysis reveals afzelin, reserpine, trifolin, and kaempferol as potential cathepsin S inhibitors, with afzelin being the most promising due to its binding energy approaching that of odanacatib, the best current cathepsin K inhibitor.*

**Keywords:** *katuk leaves, cathepsin, molecular docking*

**Abstrak:** **Kematian terjadi ketika fungsi organisme secara keseluruhan berhenti secara permanen.** Dekomposisi memecah struktur organisme yang telah mati. Dalam autolisis, enzim tubuh membantu proses pembusukan. Cathepsin dan calpain adalah sistein protease yang mengkatalisis pemecahan protein melalui hidrolisis ikatan peptida. Untuk mengurangi paparan formalin pada ahli forensik, agen anti-pembusukan dapat diganti. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis interaksi enzim cathepsin dengan senyawa fitokimia aktif dalam daun katuk (*Sauropus androgynus*) menggunakan metode in silico. Analisis molekuler docking mengungkapkan afzelin, reserpine, trifolin, dan kaempferol sebagai inhibitor potensial cathepsin S, dengan afzelin yang paling menjanjikan karena energi ikatannya mendekati odanacatib, inhibitor cathepsin K terbaik saat ini.

**Kata-kata kunci:** daun katuk, cathepsin, docking molekuler

## PENDAHULUAN

Kematian adalah saat fungsi organisme secara keseluruhan berhenti secara permanen. Ini bukan hanya melibatkan fisik organisme secara utuh, tetapi juga interaksi kompleks subsistem organisme, seperti organ-organ.<sup>1,2</sup> Meskipun ada bagian tubuh atau organ yang hilang, selama interaksi kompleks ini masih terjadi, organisme dianggap hidup. Seseorang dianggap meninggal jika seorang dokter atau ahli menyatakan bahwa fungsi tubuh, seperti fungsi otak, pernapasan, dan peredaran darah, telah berhenti secara ireversibel.<sup>3</sup> Tanpa bukti medis, kematian dianggap terjadi saat fungsi otak berhenti secara permanen.<sup>1,3</sup>

Pembusukan atau dekomposisi adalah proses penguraian makhluk hidup yang telah mati. Proses ini melibatkan autolisis oleh enzim yang dilepaskan tubuh dan proses eksternal oleh bakteri dan jamur di usus serta lingkungan sekitar. Dekomposisi mengikuti tahapan yang berurutan: autolisis, putrefaksi, dan decay.<sup>2</sup> Pada autolisis, penghentian peredaran darah dan hilangnya ATP menyebabkan pembengkakan dinding sel dan kerusakan jaringan. Enzim dalam sitoplasma menjadi aktif dan merusak bahan seluler. Secara eksternal, kulit menjadi pucat dan terkelupas, serta muncul perubahan warna hijau akibat aktivitas bakteri di perut. Setelah autolisis, putrefaksi terjadi dengan bantuan bakteri, dan decay terjadi dengan paparan oksigen dan bakteri pembusuk.<sup>3,4</sup>

Enzim protease, seperti cathepsin dan calpain, membantu proses autolisis. Enzim-enzim ini mengkatalisis pemecahan protein melalui hidrolisis ikatan peptida. Cathepsin, yang berada di lisosom, memiliki peran dalam pencernaan dengan 11 anggotanya.<sup>4,5</sup>

Tanaman katuk (*Sauropus androgynus*) ditemukan luas di Asia Tenggara dan biasa digunakan untuk meningkatkan produksi ASI.<sup>6</sup> Di Kalimantan Selatan, daun katuk digunakan dalam makanan khas tapai ketan hijau. Daun katuk memiliki sifat antibakteri dan

antivirus serta kandungan fitokimia tinggi.<sup>7,8</sup> Uji LCHRMS pada ekstrak etanol daun katuk menunjukkan 289 senyawa spesifik, termasuk flavonoid seperti afzelin, kaempferol, dan trifolin; alkaloid seperti trigolline dan reserpine; serta keton seperti isoquinoline.<sup>9</sup> Afzelin adalah senyawa anti-inflamasi dan anti-kanker, sementara kaempferol adalah antioksidan polifenol yang mengurangi risiko penyakit kronis, terutama kanker. Trifolin menginduksi apoptosis pada sel kanker paru-paru dengan menghambat jalur kelangsungan hidup dan menginduksi jalur apoptosis.<sup>8,9,10</sup>

Penggunaan formalin dalam pengawetan jenazah memiliki dampak negatif, termasuk edema paru, luka bakar, dan iritasi mata untuk paparan jangka pendek, serta gangguan neuropsikologi untuk paparan jangka panjang. Mengganti formalin dengan bahan anti pembusukan lain dapat mengurangi risiko paparan bagi ahli forensik dan pekerja lainnya.<sup>6</sup> Fitokimia memiliki toksisitas rendah, sehingga perlu penelitian lebih lanjut tentang potensinya sebagai modulator enzim protease dalam pembusukan jenazah.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini memanfaatkan data struktur tiga dimensi dari enzim Cathepsin K (PDB ID: 4N79) dan Cathepsin S (PDB ID: 1MS6) yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB). Struktur tiga dimensi senyawa aktif dari daun katuk (*Sauropus androgynus*), seperti Afzelin, Kaempferol, Trifolin, Trigonelline, Reserpine, dan Isoquinoline, diambil dari PubChem Open Chemistry Database.<sup>7</sup> Struktur 3D protein diunduh dalam format file \*.pdb dari RCSB PDB, sedangkan struktur 3D senyawa dikonversi dari \*.sdf ke \*.pdb menggunakan OpenBabel. Simulasi docking antara ligan dan protein target dilakukan menggunakan AutoDock Vina v1.2.3. Setelah reseptor dan ligan dipersiapkan, proses docking dijalankan melalui command prompt. Hasil analisis

docking kemudian divisualisasikan menggunakan Discovery Studio 4.1 untuk mengamati interaksi antara protein dan ligan, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan van der Waals.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Simulasi molecular docking antara senyawa fitokimia dan protein target, seperti Cathepsin K dan Cathepsin S, dilakukan menggunakan AutoDock Vina. AutoDock Vina terdiri dari dua program utama: AutoDock untuk proses docking ligan ke grids yang mewakili protein target, dan AutoGrid untuk menghitung grids tersebut. Pendekatan ini membantu merancang struktur kimia yang lebih optimal. Setelah bahan dipreparasi dengan parameter AutoGrid, hasilnya divalidasi menggunakan kontrol agonis dan antagonis.<sup>10,11</sup> Binding energy mengukur kecocokan kompleks antara ligan dan protein, dihitung sebagai selisih antara energi total kompleks dan energi masing-masing molekul.<sup>10</sup> Semakin negatif nilai binding energy, semakin baik dan stabil ikatan antara ligan dan protein.<sup>11,12</sup>

Pada data binding energy, senyawa fitokimia yang memiliki nilai paling negatif adalah afzelin, menunjukkan kualitas dan kestabilan pengikatan yang baik antara ligan dan protein.<sup>12</sup> Analisis variabel terikat juga melibatkan jenis interaksi dan residu asam amino. Keberadaan interaksi asam amino dapat menciptakan kontak antara ligan dan reseptor, yang menghasilkan aktivitas penghambatan.<sup>13</sup> Binding site, yaitu wilayah tempat protein berikatan dengan ligan, memengaruhi konformasi dan fungsi protein. Area ikatan ini menunjukkan residu asam amino yang memiliki peran krusial dalam membentuk interaksi antara makromolekul dan ligan, seperti ikatan ligand, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik.<sup>14</sup>

Setiap jenis interaksi antara ligan dan reseptor memiliki tingkat kestabilan yang berbeda-beda. Interaksi antara afzelin dan cathepsin K terdiri atas van der waals pada

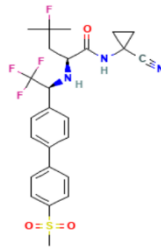
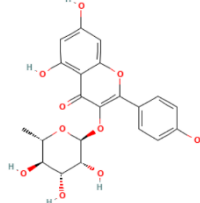
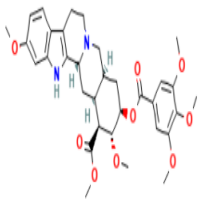
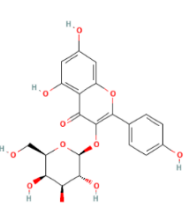
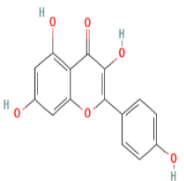
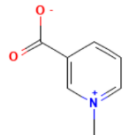
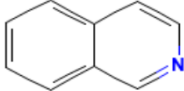
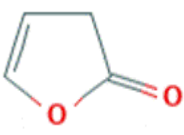
asam amino SER A:138, ALA A:137, CYS A:25, GLN A:19, ASN:161, GLY A:23, GLY A:20, ASN A:18, GLN A:21, *Carbon hydrogen bones* pada asam amino TRP A:188, *Pi donor hydrogen bond* pada asam amino GLN A:143, dan *Unfavorable donor-donor* pada asam amino HIS A:162, TRP A:184. Sedangkan interaksi antara afzelin dan cathepsin S terdiri atas van der waals dengan residu asam amino THR A:72, SER A:213, VAL A:138, MET A:71, PHE A:70, GLY A:137, VAL A:162, HIS A:164, GLY A:165, ASN A:163, TRP A:26, ikatan *Conventional hydrogen bond* dengan residu asam amino GLY A:69, CYS A:25, *Pi-Pi Stacked* pada asam amino PHE A:211.

Ikatan kimia adalah gaya yang menyatukan dua atom atau lebih untuk membentuk senyawa atau molekul kimia. Gaya ini memastikan atom-atom tetap bersatu dalam struktur senyawa yang dihasilkan.<sup>15</sup> Terdapat berbagai jenis ikatan kimia dengan tingkat kekuatan yang berbeda, seperti ikatan logam, ikatan ion, dan ikatan kovalen. Selain itu, ada juga ikatan yang lebih lemah, seperti ikatan hidrogen dan ikatan van der Waals.<sup>15,16,17</sup>

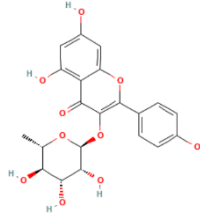
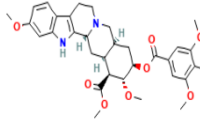
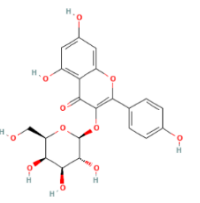
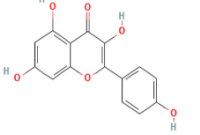
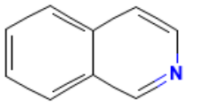
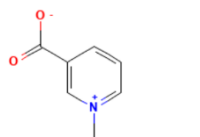
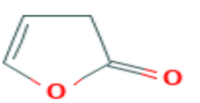
Struktur asam amino dan peptida memiliki ikatan kimia yang menjaga kestabilan protein dan membran. Dalam protein, terdapat berbagai jenis ikatan kimia, termasuk ikatan kovalen, ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, ikatan van der Waals, dan ikatan hidrofobik. Urutan kekuatan ikatan tersebut, dari yang terkuat hingga yang paling lemah, adalah: ikatan ion, ikatan kovalen, ikatan hidrofobik, dan ikatan van der Waals.<sup>16,17</sup>

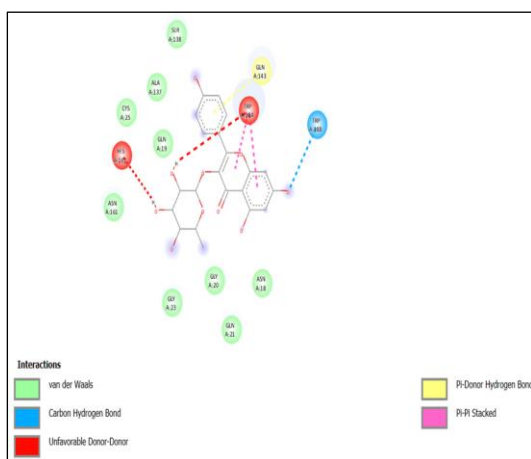
Ikatan *Unfavorable donor-donor* dapat memengaruhi stabilitas aktivitas obat. Pembentukan berbagai ikatan yang tidak menguntungkan dalam kompleks protein-ligand dapat mengurangi stabilitas kompleks tersebut karena adanya gaya tolak-menolak. Namun, keberadaan ikatan yang tidak menguntungkan dalam docking molekuler tidak selalu berarti bahwa senyawa tersebut bukan inhibitor yang baik.<sup>18</sup>

Tabel 1 Binding Energy Hasil Molecular Docking Fitokimia dan Inhibitor Cathepsin K

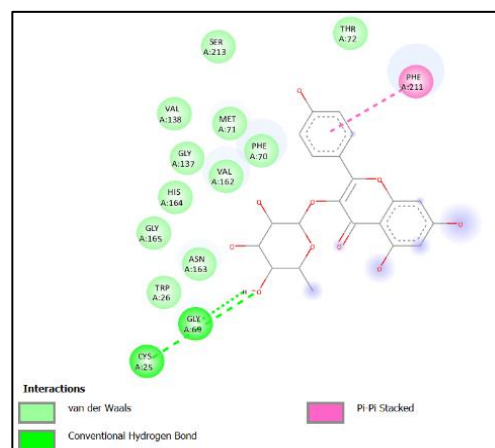
Senyawa	PubChem CID	2D Ligan	Binding Energy
Odanacatib	10152654		-7.8
Afzelin	5316673		-7.6
Reserpine	5770		-7.6
Trifolin	5282149		-7.5
Kaempferol	528086		-6.9
Trigonelline	5570		-4.7
Isoquinoline	8405		-5.4
Furanones	140765		-4.4

Tabel 2 Binding Energy Hasil Molecular Docking Fitokimia dan Inhibitor Cathepsin S

Senyawa	PubChem CID	2D Ligan	Binding Energy
Afzelin	5316673		-8.1
Reserpine	5770		-7.7
Trifolin	5282149		-7.1
Kaempferol	528086		-7.5
Isoquinoline	8405		-5.8
Trigonelline	5570		-5.4
Furanones	140765		-4.4



Gambar 1 Jenis interaksi dan residu asam amino afzelin dengan cathepsin K



Gambar 2 Jenis interaksi dan residu asam amino afzelin dengan cathepsin S

Cathepsin K adalah protease sistein yang dominan dalam osteoklas dan bertanggung jawab untuk mendegradasi kolagen dalam tulang. Saat ini, odanacatib merupakan inhibitor situs aktif yang telah berhasil melewati fase III uji coba osteoporosis dalam skala besar. Struktur 3D Cathepsin K relatif sederhana, terdiri dari domain R dan L, dengan celah di tengah yang berfungsi sebagai situs aktif. Secara struktural, Cathepsin K terbagi menjadi domain kiri dan kanan yang ditautkan di pusatnya melalui interdomain, menciptakan celah berbentuk V yang membawa residu aktif situs sistein (C25) dan histidin (H159). Residu alanin pada posisi 21 dan 92 efektif dalam memodifikasi struktur kolagen triple helix.<sup>17</sup> Cathepsin S bertindak secara katalitik melalui penambahan nukleofilik anion tiolat Cystein 25 (terbentuk sebagai pasangan ion dengan histidin-164) ke karbonil dari ikatan peptida diikuti dengan hidrolisis untuk menghasilkan produk peptida.<sup>19</sup>

Berdasarkan teori ini, interaksi antara afzelin dengan cathepsin K terjadi pada ikatan van der Waals di asam amino GLN A:21 dan CYS A:25. Sementara itu, interaksi antara afzelin dengan cathepsin S terjadi pada ikatan van der Waals di asam amino HIS A:164 dan ikatan hidrogen konvensional di asam amino CYS A:25. Hal ini menunjukkan bahwa fitokimia afzelin sesuai dengan teori tersebut.

## PENUTUP

Berdasarkan hasil afzelin paling berpotensi menjadi inhibitor karena *binding energy* mendekati odanacatib yang merupakan inhibitor cathepsin K terbaik saat ini, dan afzelin, memiliki *binding energy* yang lebih negatif ketika berikatan dengan Cathepsin S.

Saran untuk penelitian selanjutnya, sebaiknya melanjutkan penelitian dengan melakukan *molecular docking* pada senyawa fitokimia lain yang terdapat dalam daun katuk, guna mengeksplorasi potensi lebih luas dari senyawa tersebut

dalam menghambat enzim pembusukan jenazah. Selain itu, perlu dilakukan *molecular docking* dengan berbagai enzim pembusukan yang berbeda untuk mengidentifikasi potensi senyawa dalam menghambat lebih banyak jenis enzim pembusukan.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Lazaridis C. Defining death: reasonableness and legitimacy. *The Journal of Clinical Ethics*. 2021 Jun 1;32(2):109-13.
2. Mataya L, Ross LF, Ghavam A, Paquette ET. Pediatric intensivist and pediatric neurologist perspectives and practices on death by neurologic criteria. *The Journal of clinical ethics*. 2021 Sep 1;32(3):195-205.
3. Maitre G, Shemie SD. Research Questions to Inform the Determination of Death by Neurologic Criteria. *InDeath Determination by Neurologic Criteria: Areas of Consensus and Controversy 2023 Jan 1* (pp. 247-264). Cham: Springer International Publishing.
4. Gelderman HT, Boer L, Naujocks T, IJzermans AC, Duijst WL. The development of a post-mortem interval estimation for human remains found on land in the Netherlands. *International journal of legal medicine*. 2018 May;132:863-73.
5. Grzonka Z, Kasprzykowski F, Wiczek W. Cysteine proteases. *Industrial enzymes: structure, function and applications*. 2007:181-95.
6. Zuhri S, Dewi KM, Hidayati N. Uji Sifat Fisik dan Antibakteri Salep Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L) Merr.). *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 2018 Mar 1;11(1).
7. Winarsih S, Purwantiningrum DA, Wardhani AS. Efek Antibakteri Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynus*) terhadap Pertumbuhan *Salmonella Typhi* secara *In Vitro*. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*. 2015;15(2):96-103.

8. Radziejewska I, Supruniuk K, Czarnomysy R, Buzun K, Bielawska A. Anti-cancer potential of afzelin towards ags gastric cancer cells. *Pharmaceuticals*. 2021 Sep 25;14(10):973.
9. Chen AY, Chen YC. A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food chemistry*. 2013 Jun 15;138(4):2099-107.
10. Kim MJ, Kwon SB, Kim MS, Jin SW, Ryu HW, Oh SR, Yoon DY. Trifolin induces apoptosis via extrinsic and intrinsic pathways in the NCI-H460 human non-small cell lung-cancer cell line. *Phytomedicine*. 2016 Sep 15;23(10):998-1004.
11. Vass AA. Beyond the grave-understanding human decomposition. *Microbiology today*. 2001 Nov;28:190-3.
12. Sari IW, Junaidin, Pratiwi D.. Studi molekuler docking senyawa flavonoid herba kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) pada reseptor  $\alpha$  glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 2020;7(2):54-60
13. Asthana S. Re: Are there any differences between binding energy and binding affinity?. *ResearchGate* [Internet]. 2014 [Cited 2023 Oct 15]. Available from: <https://www.researchgate.net/post/Are-there-any-differences-between-binding-energy-and-binding-affinity>.
14. Frimayanti N, Lukman A, Nathania L. Studi molekuler docking senyawa 1,5-benzothiazepine sebagai inhibitor dengue DEN-2 NS2B/NS3 serine protease. *Chempublish Journal*. 2021;6(1):54-62
15. Widiastuti NLGK. Pendidikan sains terintegrasi keterkaitan konsep ikatan kimia dengan berbagai bidang ilmu. *Jurnal Kajian Pendidikan Widya Accarya FKIP Universitas Dwijendra*. 2019;10(2):1-16
16. Aguda AH, Panwar P, Du X, Nguyen NT, Brayer GD, Brömme D. Structural basis of collagen fiber degradation by cathepsin K. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014 Dec 9;111(49):17474-9.
17. Ward YD, Thomson DS, Frye LL, Cywin CL, Morwick T, Emmanuel MJ, Zindell R, McNeil D, Bekkali Y, Girardot M, Hrapchak M. Design and synthesis of dipeptide nitriles as reversible and potent cathepsin S inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*. 2002 Dec 5;45(25):5471-82.
18. Lee-Dutra A, Wiener DK, Sun S. Cathepsin S inhibitors: 2004–2010. *Expert opinion on therapeutic patents*. 2011 Mar 1;21(3):311-37.

