

Studi In Silico : Potensi Anthelmintik Senyawa Aktif Bawang putih (*Allium sativum L.*) dalam Menghambat Protein Target *Acetylcholinesterase*, *Beta tubulin* dan Aktivasi *Voltage dependent L type Calcium Channel*

Sita Az Zahra Mubarika, Ariani Ratri Dewi, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang
Email : sitaazm@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Umbi Bawang putih mengandung berbagai macam senyawa organosulfur yang memiliki efek anthelmintik. Namun mekanisme senyawa tersebut belum diketahui. Oleh sebab itu, penelitian mengenai mekanismenya secara *in silico* perlu untuk dilakukan.

Metode: Penambatan senyawa aktif umbi bawang putih terhadap protein target *Acetylcholinesterase*, *Beta tubulin* dan *Voltage dependent L type Calcium Channel* dievaluasi secara *in silico* menggunakan *docking server* dengan kontrol Pirantel pamoat, Mebendazole dan Praziquantel

Hasil: Senyawa umbi bawang putih yang diidentifikasi memiliki afinitas yang rendah dengan nilai dibawah kontrol Pirantel pamoat, Mebendazole dan Praziquantel. Senyawa dengan nilai energi ikatan bebas terbaik yaitu *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* pada protein target *Acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *Calcium Channel* berturut turut sebesar -4,84 kcal/mol, -5,89 kcal/mol dan 6,50 kcal/mol.

Kesimpulan: Senyawa aktif umbi Bawang putih (*Allium sativum L.*) diprediksi memiliki potensi yang rendah sebagai antihelmintik pada protein target *Acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *Voltage dependent L type Calcium Channel*.

Kata Kunci : Anthelmintik, *Allium sativum L.*, *in silico*

In Silico Study: Anthelmintic Potential of Garlic's Active Compound (*Allium sativum L.*) by inhibiting *Acetylcholinesterase*, *Beta tubulin* and activate *Voltage dependent L type Calcium Channel*

Sita Az Zahra Mubarika, Ariani Ratri Dewi, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine University of Islam Malang
Email : sitaazm@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: The tuber of garlic contains of various compounds that has anthelmintic effect of unknown mechanism. Therefore, this research aimed to determine the active compounds and find their anthelmintic mechanism of action.

Method: The potency of garlic active compounds to inhibit *acetylcholinesterase*, *beta tubulin* and to activate *voltage dependent L type calcium channel* were evaluated by *molecular docking*, compared with pirantel pamoate, mebendazole and praziquantel.

Result: Garlic's active compound, *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* has the best affinity to target protein *acetylcholinesterase*, *beta tubulin* and *calcium channel* with free binding energy of -4.84 kcal / mol, -5.89 kcal / mol and 6.50 kcal / mol respectively under control values. Active compounds of bawang putih tuber have lower affinity values compared to controls of pyrantel pamoate, mebendazole and praziquantel.

Conclusion: Active compounds of bawang putih (*Allium sativum L.*) have low anthelmintic potential through target protein *acetylcholinesterase*, *beta tubulin* and *voltage dependent L type calcium channel*.

Keyword: Anthelmintik, *Allium sativum L.*, *in silico*

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address: Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145

Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Infeksi cacing merupakan permasalahan kesehatan di Indonesia. Dari 20 penyakit yang termasuk dalam *Neglected Tropical Disease* (NTD), 11 diantaranya adalah penyakit cacing dan masih diabaikan di Indonesia¹. Prevalensinya di Indonesia berkisar antara 40%-60% untuk semua umur sedangkan untuk anak-anak pada usia 1-6 tahun dan 7-12 tahun berada pada tingkat yang tinggi, yakni 30% hingga 90%². Menurut *World Health Organization* (WHO), *helminthiasis* atau kecacingan adalah infeksi satu atau lebih cacing parasit usus yang terdiri dari *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Necator americanus* dan *Anchylostoma duodenale*³.

Tatalaksana *helminthiasis* selama ini menggunakan anti helminth seperti pirantel pamoat dan derivat benzamidazol. Pirantel pamoat bekerja pada dinding membran cacing dengan menurunkan *surface tension* serta menghambat enzim asetilkolinesterase sehingga cacing mengalami paralisis otot yang berakhir dengan kematian cacing. Derivat benzamidazol menghambat pembentukan protein mikrotubuler yang berakibat rendahnya mikrotubulin sitoplasma dan kemampuan ambilan glukosa sehingga terjadi kekurangan glikogen didalam sel.⁴ Praziquantel digunakan pada terapi schistosomiasis dan banyak cestoda, bekerja dengan meningkatkan kalsium yang masuk ke intragumental sehingga terjadi kontraksi otot yang cepat, peningkatan kadar kalsium lebih lanjut dalam retikulum sarkoplasma akan mengakibatkan kelumpuhan otot cacing⁵.

Anthelmintik yang beredar di masyarakat memiliki efek samping, misalnya mebendazol dapat menyebabkan efek samping seperti keluarnya cacing melewati mulut, disertai efek mual, muntah dan diare serta timbulnya reaksi alergi.³³ Penggunaan obat ini juga terbatas karena penderita infeksi cacing dengan kehamilan, kelainan hati atau ginjal tidak dapat mengkonsumsinya⁶. Penggunaan anthelmintik yang terlalu sering dan tidak memperhatikan dosis memiliki resiko timbulnya kasus resistensi³⁴. Hal tersebut mendorong upaya pencarian anthelmintik tradisional agar pengobatan dapat optimal.

Salah satu tumbuhan obat yang pernah dan masih digunakan secara tradisional sebagai obat anti cacing adalah bawang putih (*Allium sativum L*) yang sudah banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati cacingan. Bawang putih dapat digunakan sebagai obat karena berbagai kandungan kimianya

yang berkhasiat anthelmintik⁸. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak etanol bawang putih mampu membunuh cacing *Ascaridia galli* dalam rentang waktu kurang dari 18 jam tergantung konsentrasi ekstrak⁹. Umbi bawang putih mengandung senyawa organosulfur yang diprediksi mempunyai aktivitas anthelmintik namun mekanismenya secara molekular belum diketahui sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut. Protein target *asetilcholinesterase* dan *beta tubulin* dipilih karena merupakan *active site* dari terapi first line *ascariasis* yaitu *pirantel pamoat* dan *mebendazole*, sedangkan protein target *voltage dependent L type calcium channel* merupakan *active site* dari obat cacing *praziquantel*.

Mekanisme kerja senyawa herbal dapat diprediksi dengan studi *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Metode ini menggunakan parameter energi ikatan bebas, interaksi permukaan, konstanta inhibisi dan residu asam amino dari ikatan antara senyawa herbal dan reseptor target. Selama ini studi *in silico* senyawa umbi bawang putih terhadap protein target *acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *voltage dependent L type calcium channel* sebagai protein target anthelmintik obat *pirantel pamoat*, *mebendazole* dan *praziquantel* belum pernah dilakukan.

Penjelasan diatas mendorong peneliti untuk melakukan studi *in silico* senyawa umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) terhadap protein *acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *voltage dependent L type calcium channel*. Penelitian ini diharapkan dapat menemukan mekanisme potensi anthelmintik senyawa umbi bawang putih.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *in silico* dengan melakukan penambatan senyawa umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) yang terdiri dari *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*), *Diallyl Thiosulfonate* (*allicin*), *Diallyl Disulfide* (*DADS*), *Diallyl Trisulfide* (*DATS*), *Diallyl Sulfide* (*DAS*), *Allyl Propyl Disulfida*, *S Allyl cysteine* dan *Vinyldithiine* terhadap protein target *Acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *Voltage dependent L type Calcium Channel*.

Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April sampai dengan Mei 2020

Alat dan Bahan

Struktur senyawa aktif umbi bawang putih yang terdiri dari *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*), *Diallyl Thiosulfonate* (*allicin*), *Diallyl Disulfide* (*DADS*), *Diallyl Trisulfide* (*DATS*), *Diallyl Sulfide* (*DAS*), *Allyl Propil Disulfida*, *S Allyl cysteine* dan *Vinyldithiine* didapatkan dari PubChem. Struktur protein target *Acetylcholinesterase*, *beta tubulin* dan *Voltage dependent L type Calcium Channel* yang digunakan adalah protein dari cacing *Ascaris lumbricoides*. Perangkat keras komputer dengan spesifikasi RAM 4096 MB, Intel® core™ I7, CPU @2.60 GHz, Sistem operasi Microsoft Windows 10 Pro 64-bit, koneksi internet dan software berbasis web autodock 4.0 pada docking server (<http://www.dockingserver.com>).

Uji in silico Senyawa Aktif Umbi Bawang putih terhadap Acetylcholinesterase, beta tubulin dan Voltage dependent L type Calcium Channel

Senyawa ligan diunduh di PubChem kemudian dilakukan uji *molecular docking* menggunakan docking server. Docking server dapat diakses di (<http://www.dockingserver.com>).

Teknik Analisis Data

Hasil uji *in silico* diamati dengan parameter energi ikatan bebas, konstanta inhibisi, interaksi

permukaan dan residu asam amino antara ligan dan protein target

HASIL PENELITIAN

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Umbi Bawang putih dengan Acetylcholinesterase

Studi *in silico* interaksi ligan senyawa umbi bawang putih dengan protein *acetylcholinesterase* disajikan pada Tabel 1. Afinitas energi bebas tertinggi ditunjukkan oleh senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) sebesar -4,84 kcal/mol, berada dibawah nilai *pirantel pamoat*. Senyawa dengan afinitas interaksi permukaan yang tertinggi adalah *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) dengan nilai 409,733 Å, juga berada dibawah nilai kontrol. Konstanta inhibisi terendah ditunjukkan oleh senyawa *Diallyl Sulfide* (*DAS*) yaitu sebesar 1,40 µM. Senyawa *S allyl-cysteine* memiliki kesamaan dari residu asam amino terhadap *acetylcholinesterase* yang terbanyak yaitu sebanyak 5 residu asam amino, diikuti oleh senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) sebanyak 6 residu asam amino, keduanya berada dibawah nilai kontrol *pirantel pamoat*.

Dari hasil tersebut disimpulkan potensi tertinggi dimiliki oleh senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) dan *Diallyl Sulfide* (*DAS*), namun berafinitas lemah untuk berikatan dengan protein target *acetylcholinesterase*.

Tabel 1. Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (K_i), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Umbi Bawang putih (*Allium sativum* L.) dan *Pirantel Pamoat* terhadap *Acetylcholinesterase*

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah persamaan residu asam amino dibanding Pirantel Pamoat
Pirantel Pamoat	-5,81	54,75	670,219	Hydrogen: SER72, ARG342 Polar: TYR239, HIS384, ARG390 Hydrophobic : TYR238, PHE379, HIS380 Lain-lainnya: GLU71, LEU382	10
<i>S-allyl-cysteine sulfoxide</i> (<i>alliin</i>)	-4.84	284.81	409.733	Hydrogen : GLU71, GLY381 Polar : HIS380 Hidrofobik : TYR238, PHE 379 Kation-Pi : HIS384 Lain-lainnya : SER72	6
<i>Diallyl Disulfide</i> (<i>DADS</i>)	-4,46	540,53	370,444	Hidrofobik : TRP105, PHE186, PHE314 Lain-lainnya : SER72, ARG188, SER197, LYS198, TYR239	2
<i>Diallyl Trisulfide</i> (<i>DATS</i>)	-4,41	582,96	396,521	Hidrofobik : ALA73, TRP105, PHE186 Lain-lainnya: SER72, ARG188, SER197, LYS198, TYR239	2
<i>Vinyldithiine</i>	-4,38	620,21	337,219	Hydrophobic : TRP105, TYR239, PHE186 Lain lain : LYS198, SER72, ARG188, SER197	2
<i>S Allyl cysteine</i>	-4,33	672,21	373,969	Polar : GLU71, HIS380 Hydrophobic : TYR238, LEU382, PHE379	5
<i>Allyl Propil Disulfida</i>	-4,30	709,98	368,486	Hidrofobik: TRP105, PHE186 Lain-lain: SER72, ARG188, SER197, LYS198, TYR239	2
<i>Diallyl Thiosulfonate</i> (<i>allicin</i>)	-4,20	828,81	374,314	Polar : ARG188 Hidrofobik TRP105, PHE186, TYR239 Lain-lainnya : SER197, LYS198, SER72	3
<i>Diallyl Sulfide</i> (<i>DAS</i>)	-3,89	1,40	329,902	Hidrofobik : TRP105, PHE186, TYR239 Lain-lainnya : SER72, ARG188, SER197, LYS198	2

Hasil dan Analisa data Uji Molecular Docking Senyawa Umbi Bawang putih dengan Beta Tubulin

Hasil penambatan senyawa zat aktif umbi bawang putih terhadap *beta tubulin* pada **Tabel 2** menunjukkan afinitas yang rendah. Afinitas tertinggi nilai energi ikatan bebas ditunjukkan oleh senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) dengan nilai -5,89 kcal/mol, dibawah nilai kontrol obat *mebendazole*. Konstanta inhibisi yang terendah dimiliki oleh senyawa *Allyl Propil Disulfida*, *Diallyl Trisulfide* (*DATS*) dengan nilai berturut turut 2,85 μ M dan 1,08 μ M, berada diatas kontrol obat. Senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) memiliki nilai interaksi permukaan terbesar yaitu 551,228 Å. Kesamaan ikatan residu asam amino terhadap *mebendazole* yang terbanyak didapatkan senyawa

Diallyl Thiosulfonate (*allicin*) sebanyak 7 residu asam amino

Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan energi bebas, interaksi permukaan, konstanta inhibisi dan residu asam amino, senyawa umbi bawang putih yang memiliki afinitas tertinggi terhadap protein target *beta tubulin* secara berurutan adalah *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) dan *Diallyl Trisulfide* (*DATS*), dibawah nilai kontrol obat *mebendazole*.

Hasil dan Analisis data Uji Molecular Docking Senyawa Umbi Bawang putih dengan Voltage dependent L type Calcium Channel

Hasil penambatan senyawa zat aktif umbi bawang putih terhadap *protein voltage dependent L type calcium channel* pada **Tabel 3** menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki afinitas energi ikatan

Tabel 2 Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (K_i), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Umbi Bawang putih (*Allium sativum L.*) dan *Mebendazole* terhadap *Beta Tubulin*

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (μ M)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah persamaan residu asam amino dibanding <i>Mebendazole</i>
<i>Mebendazole</i>	-6,97	7,82	731,58	Hidrogen: ASP246, TYR277, TYR291, Polar: ASN295 Hidrofobik : CYS81, VAL244, LEU294 Lain-lainnya: GLN84, ASN273	9
<i>S-allyl-cysteine sulfoxide</i> (<i>alliin</i>)	-5,89	48,32	511,228	Hidrogen : GLN80, ASP136, GLU138, THR212 Polar : THR141, Lain-lainnya : LEU137, SER207	0
<i>S Allyl cysteine</i>	-4,70	358,18	445,167	Polar : ASN295 Hydrophobic : LEU294, LEU276 Lain lain : ASN273	3
<i>Vinyldithiine</i>	-4,26	757,04	365,069	Hydrophobic : TYR291, LEU294, TYR277, VAL298, LEU276 Lain lain : ASN273, ASN295	5
<i>Diallyl Trisulfide</i> (<i>DATS</i>)	-4,05	1,08	449,456	Hidrofobik : CYS81, ILE85, LEU276, TYR277, LEU294 Lain-lainnya: GLN84, ASN273, TYR291, ASN295	6
<i>Allyl Propil Disulfida</i>	-3,47	2,85	403,74	Hidrofobik: CYS81, ILE85, LEU276, LEU294, VAL298 Lain-lain: GLN84, TYR291, ASN295	5
<i>Diallyl Disulfide</i> (<i>DADS</i>)	-3,38	3,31	411,125	Hidrofobik : CYS81, ILE85, LEU276, LEU294 Lain-lainnya : GLN84, TYR291, ASN295	5
<i>Diallyl Thiosulfonate</i> (<i>allicin</i>)	-3,26	4,10	438,901	Polar : ASN295 Hidrofobik : CYS81, LEU276, LEU294 Lain-lainnya : GLN84, ASN273, TYR277, TYR291	7
<i>Diallyl Sulfide</i> (<i>DAS</i>)	-2,86	8,03	351,434	Hidrofobik : VAL238, LEU276, TYR277, LEU294, VAL298 Lain-lainnya : ASN273, ASN295	4

bebas yang tertinggi adalah senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) sebesar -6,21 kcal/mol. Nilai konstanta inhibisi enyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*), *Diallyl Sulfide* (*DAS*), *Diallyl Thiosulfonate* (*allicin*), *Diallyl Disulfide* (*DADS*), *Allyl Propil Disulfida* dan *S Allyl cysteine* berada diatas kontrol obat *Praziquantel*, namun senyawa *S Allyl cysteine* memiliki nilai konstanta inhibisi terkecil yaitu 1,29 μ M. Nilai interaksi permukaan terbesar dengan *protein voltage dependent L type calcium channel*

ditunjukkan oleh senyawa *Diallyl Trisulfide* (*DATS*) dengan nilai 523,261Å, dibawah kontrol. Senyawa umbi lanang yang paling banyak memiliki kesamaan residu asam amino adalah *Diallyl Disulfide* (*DADS*), *Diallyl Trisulfide* (*DATS*), *Allyl Propil Disulfida* dan *Vinyldithiine* yang mencapai 50%

Residu asam amino pada senyawa umbi lanang yang paling banyak adalah *Diallyl Disulfide* (*DADS*), *Diallyl* Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif umbi bawang putih mempunyai

afinitas yang rendah untuk berikatan dengan protein target *voltage dependent L type calcium channel* dibandingkan dengan kontrol obat *Praziquantel*. Senyawa aktif umbi bawang putih yang memiliki potensi anthelmintik mendekati kontrol dengan nilai energi bebas dan konstanta inhibisi terendah juga

interaksi permukaan dan residu asam amino tertinggi yang mendekati kontrol obat *Praziquantel* secara berturut turut adalah senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)*, *S Allyl cysteine* dan *Diallyl Trisulfide (DATS)*.

Tabel 3 Hasil Analisis Energi Ikatan Bebas (ΔG), Konstanta Inhibisi (K_i), Nilai Interaksi Permukaan, dan Residu Asam Amino Senyawa Aktif Umbi Bawang putih (*Allium sativum* L.) dan *Praziquantel* terhadap Protein Voltage Dependent L type Calcium Channel

Ligan	Energi ikatan bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Interaksi Permukaan (Å)	Residu Asam Amino	Jumlah persamaan residu asam amino dibanding Praziquantel
Praziquantel	-9,13	201,79 nM	712,962	Hidrofobik : ILE135, PHE135, PHE106, ILE106, MET135, MET935, MET105, PHE101, PHE939 Lain-lainnya: SER135, GLN942, THR938	12
<i>S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)</i>	-6,50	28,01 uM	503,938	Hidrogen : GLY648, GLU322, GLU649 Lain-lainnya : PHE101, ASN684	1
<i>Vinyldithiine</i>	-4,44	557,96 uM	367,725	Hydrophobic : ILE106, PHE135, PHE106, ILE135, MET105	5
<i>Diallyl Trisulfide (DATS)</i>	-4,29	712,06 uM	523,261	Hidrofobik : ILE135, ILE106, PHE106, PHE135, MET135 Lain-lainnya: SER135	6
<i>S Allyl cysteine</i>	-3,94	1,29 uM	426,991	Lain lain : GLU322, GLU649, GLU101	0
<i>Allyl Propil Disulfida</i>	-3,73	1,85 uM	418,987	Hidrofobik: PHE135, ILE135, PHE106, MET935 Lain-lain: SER135	6
<i>Diallyl Disulfide (DADS)</i>	-3,66	2,06 uM	425, 184	Hidrofobik : PHE135, PHE106, ILE106, ILE135, MET135 Lain-lainnya : SER135	6
<i>Diallyl Thiosulfonate (allicin)</i>	-3,56	2,45 uM	453,89	Hidrofobik : PHE135, ILE135, ILE106, PHE106, MET135 Lain-lainnya : SER135, MET935, ILE931	7
<i>Diallyl Sulfide (DAS)</i>	-3,11	5,26 uM	370,508	Hidrofobik : PHE135, ILE135, PHE106, ILE106, ILE931, MET935	5

Uji *Molecular Docking* Umbi Bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap Protein Target *Acetylcholinesterase*

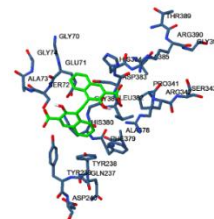
Potensi senyawa aktif umbi bawang putih dalam penelitian ini diprediksi menggunakan metode *molecular docking*. *Molecular docking* merupakan prosedur komputasi untuk memprediksi konfrontasi protein dengan ligan,¹¹ untuk melihat apakah suatu senyawa/obat dapat menimbulkan efek biologis ketika ligan berikatan dengan reseptor spesifik yang menyebabkan konfrontasi reseptor atau biasa disebut interaksi obat/ligan reseptor^{12,13}

Afinitas merupakan kemampuan ligan/obat berikatan dengan reseptor target protein^{12,13} Ada empat parameter untuk mengetahui apakah interaksi keduanya cukup kuat dan memiliki aktivitas penghambatan. Interaksi permukaan (*interaction surface*) adalah parameter yang menggambarkan nilai dan peluang yang tinggi bagi senyawa aktif untuk berinteraksi dengan protein target. Peluang yang tinggi dapat menggambarkan ikatan yang kuat sehingga aktifitas biologisnya kuat.²² Parameter selanjutnya yaitu besar nilai energi ikatan bebas (*free energy of binding* / ΔG), parameter ini memperlihatkan besarnya energi, menggambarkan spontanitas dan stabilitas dalam berikatan. Semakin rendah nilai (ΔG) maka semakin tinggi nilai afinitas ikatan ligan pada protein target.^{23,24} Parameter yang ketiga yaitu besar nilai konstanta inhibisi (*Inhibition constant* = K_i). Nilai K_i yang rendah menunjukkan hambatan antara ligan dan protein yang kecil sehingga mudah terjadi ikatan, terbentuk suatu kompleks ligan protein dan semakin stabil.²⁵ Parameter yang terakhir yaitu residu asam amino, yang menggambarkan kesamaan *active site* dengan kontrol.²⁴

Penelitian ini menggunakan pirantel pamoat yang merupakan tatalaksana lini pertama pada *Ascariasis* sebagai kontrol. Pirantel pamoat merupakan agen penghambat neuromuscular yang bekerja dengan mendepolarisasi dan meningkatkan impuls otot cacing sehingga cacing mati dalam keadaan spastik.¹⁵

Dari hasil *docking* yang dilakukan, didapatkan nilai energi bebas dari *Pirantel Pamoat* terhadap *Acetylcholinesterase* adalah -5,81 kcal/mol. Nilai K_i pirantel pamoat dalam penelitian ini didapatkan sebesar 54,75 μM . Kompleks senyawa-reseptor dikatakan memiliki afinitas ikatan yang baik jika memiliki nilai K_i pada skala nanomolar,¹⁴ sehingga dapat dikatakan bahwa pirantel pamoat dengan nilai

K_i pada skala mikromolar memiliki afinitas yang rendah terhadap protein *acetylcholinesterase*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa nilai ikatan energi bebas yang rendah berbanding lurus dengan konstanta inhibisi. Penelitian ini mendapatkan nilai interaksi permukaan *pirantel pamoat* nilai sebesar 670, 219 Å. Nilai tersebut merupakan nilai interaksi permukaan yang rendah sejalan dengan energi bebas yang rendah.



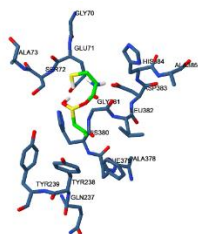
Gambar 1. Interaksi Pirantel Pamoat dengan Asetikolinesterase

Pirantel pamoat berikatan dengan sisi aktif protein *Acetylcholinesterase* pada posisi asam amino SER72, ARG342, TYR298, HIS384, ARG390 TYR238, PHE379, HIS380, GLU71 dan LEU382 dengan total 16 residu asam amino dan 2 ikatan hydrogen SER72, ARG342. Afinitas *pirantel pamoat* yang rendah diduga karena *pirantel pamoat* tidak bekerja pada protein target *acetylcholinesterase* atau memiliki mekanisme kerja yang lain dibuktikan pada pernyataan lain bahwa reseptor dari *pirantel pamoat* adalah nikotinik asetilkolin (nAChRs) yang berada di post sinaps¹⁶

Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa umbi bawang putih yang diidentifikasi memiliki afinitas yang rendah terhadap protein target *acetylcholinesterase*. Senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) memiliki potensi yang paling mendekati kontrol *Pirantel pamoat* dengan nilai energi ikatan bebas -4.84 kcal/mol.

Selain itu *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) memiliki nilai interaksi permukaan dan konstanta inhibisi yang berada dibawah kontrol. Meskipun senyawa *Diallyl Sulfide* (DAS) memiliki nilai konstanta inhibisi terkecil jauh dibawah kontrol, senyawa ini tidak memiliki afinitas energi bebas yang tinggi. Penduga afinitas yang rendah dikarenakan senyawa umbi bawang putih diprediksi tidak bekerja pada protein target *Acetylcholinesterase*. Pernyataan ini didukung oleh penelitian lain yang menyatakan Cacing *Ascaris suum* dewasa yang mati pada perlakuan kelompok ekstrak etanol bawang putih memiliki sifat yang lebih lembek dan lunak bila dibandingkan pada kelompok kontrol *pirantel pamoat* yang mati dalam keadaan kaku (spastik)¹⁷.

Pada *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) memiliki 60% persamaan residu asam amino terhadap *active site* dari *Pirantel pamoat* dan tidak ditemukan adanya ikatan hidrogen yang sama dengan protein kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ikatan hidrogen mempengaruhi kuat afinitas ligan terhadap protein target¹⁸



Gambar 2. Interaksi *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) dengan Asetilkolinesterase

Pada hasil *docking* ditemukan hampir semua senyawa umbi bawang putih yang diidentifikasi memiliki persentase persamaan residu asam amino dibawah 50% dibandingkan dengan kontrol. Ini menunjukkan posisi *active site* asam amino yang berbeda memungkinkan memiliki potensi biologis yang berbeda¹⁹

Analisis hasil *molecular docking* senyawa bahan aktif umbi bawang putih memiliki potensi antihelmintic yang lemah untuk berikatan dengan protein target *asetilkolinesterase*, sehingga cacing tidak mengalami paralisis. Pernyataan ini sesuai dengan penelitian lain bahwa Senyawa organosulfur yang terkandung dalam umbi bawang putih (*Allium sativum L.*) merupakan senyawa yang sangat tidak stabil baik pada suhu maupun pelarutnya²⁰ dan juga pada penelitian *in vitro* bahwa efektivitas ekstrak bawang putih untuk anihelmintik lebih rendah dibandingkan pirantel pamoat¹⁷. Hasil penelitian ini juga mengarahkan kepada dugaan bahwa umbi bawang putih tidak bekerja pada protein target *acetylcholinesterase*.

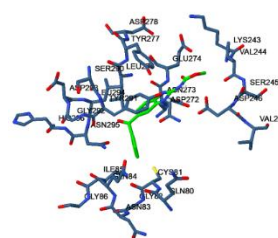
Uji *Molecular Docking* Umbi Bawang putih (*Allium sativum L.*) terhadap Protein Target *Beta Tubulin*

Protein *beta tubulin* digunakan sebagai protein target dalam penelitian ini karena merupakan *active site* ikatan kerja anthelmintik golongan *benzimidazole* yang mekanisme kerjanya seperti *mebendazole*²¹

Nilai energi ikatan bebas yang diperoleh dari penambahan *mebendazole* dengan *beta tubulin* adalah -6,97 kcal/mol. Ini menunjukkan bahwa *mebendazole* memiliki afinitas yang cukup tinggi sejalan dengan teori bahwa kenegatifan yang lebih rendah menunjukkan aktivitas interaksi yang lebih

baik antara ligan-reseptor²⁶ sehingga protein target *beta tubulin* merupakan target obat yang baik untuk *mebendazole* dalam menghambat pembentukan polimerase mikrotubulin.

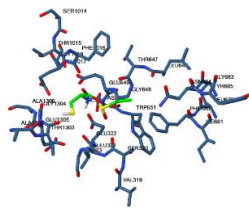
Penelitian ini mendapatkan nilai interaksi permukaan *mebendazole* sebesar 731,58 Å yang menunjukkan bahwa *mebendazole* memiliki peluang yang tinggi dalam mengikat residu asam amino. Hal ini didukung oleh nilai konstanta inhibisi yang didapatkan cukup besar pada penelitian ini yaitu 7,87 µM. Nilai *Ki* dalam satuan mikro molar menunjukkan penggunaan dosis rendah sudah dapat menyebabkan hambatan pada protein target.



Gambar 3. Interaksi Mebendazol dengan *beta tubulin*

Ditemukan 4 ikatan pada 9 residu asam amino dari mebendazole diantaranya ikatan hydrogen pada ASP246, TYR277, TYR291, Ikatan polar pada ASN295, dan ikatan hidrofobik yaitu CYS81, VAL244, LEU294 dan ikatan lain lain GLN84, ASN273. Pada residu asam amino terbentuk afinitas yang cukup tinggi pada protein target *beta tubulin* karena *mebendazole* merupakan senyawa hidrofobik dan larut lemak²⁷ sedangkan *beta tubulin* merupakan protein target yang berada dalam intrasel. Hal tersebut menyebabkan ligan obat dari *mebendazole* yang larut dalam lemak (lipid soluble) lebih mudah berdifusi melalui membran sehingga dapat dengan mudah menimbulkan potensi biologis pada cacing. Dapat disimpulkan, *mebendazol* memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein target *beta tubulin* untuk menimbulkan efek menghambat polimerisasi.

Hasil *docking* menunjukkan bahwa semua senyawa umbi bawang putih yang diidentifikasi memiliki afinitas yang rendah terhadap protein target *beta tubulin*. Senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide* (*alliin*) memiliki potensi yang paling mendekati kontrol *mebendazole* dengan nilai energi ikatan bebas -5,89 kcal/mol. Nilai interaksi permukaan didapatkan cukup besar yaitu 511.228 Å disertai konstanta inhibisi yang tinggi yaitu 48,32 µM. Senyawa ini memiliki 7 residu asam amino dengan tingkat kesamaan 0% dibandingkan kontrol *mebendazole*.



Gambar 6. Interaksi *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* dengan *Voltage dependent L type Calcium Channel*

Meskipun pada senyawa *Diallyl Disulfide (DADS)*, *Diallyl Trisulfide (DATS)*, *Allyl Propyl Disulfida*) dan *Vinyldithiine* dengan tingkat kesamaan residu asam amino yang mencapai 50% namun tidak memiliki ikatan yang stabil dan kuat dengan protein target untuk menimbulkan efek biologis.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* memiliki potensi biologis yang paling mendekati kontrol *praziquantel* dan memiliki afinitas yang rendah sehingga kemungkinan diperlukan dosis umbi bawang putih yang sangat besar jika ingin memperoleh aktivitas anthelmintik yang optimal.

Berdasarkan hasil analisa *molecular docking* diatas didapatkan bahwa senyawa umbi bawang putih yang termasuk dalam golongan organosulphur yaitu *Diallyl thiosulfonate (allicin)*, *diallyl sulfide (DAS)*, *diallyl disulfide (DADS)*, *diallyl trisulfide (DATS)*, *S-allyl-cysteine (SAC)*, and *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)*, *Allyl-propyl-disulfide* dan *vinyldithiines* memiliki afinitas yang rendah terhadap protein target *Acetylcholinesterase*, *Beta Tubulin* dan *Calcium Channel* dengan nilai yang tidak lebih baik dari nilai milik kontrol *Pirantel pamoat*, *Mebendazole* dan *Praziquantel*. Pernyataan ini berdasarkan hasil nilai energi ikatan bebas dari senyawa terbaik yang mendekati kontrol yaitu senyawa *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* pada protein target *Acetylcholinesterase* sebesar -4,84 kcal/mol, pada protein target *beta tubulin* sebesar -5,89 kcal/mol dan pada protein target *Calcium Channel* sebesar 6,50 kcal/mol sehingga umbi bawang putih memiliki potensi yang rendah sebagai anthelmintik pada target *Acetylcholinesterase* dan *beta tubulin* tapi memungkinkan untuk memiliki potensi sebagai anthelmintik pada jenis cacing cestoda jika dilihat dari nilai energi bebas yang mendekati -7 pada penambatan *S-allyl-cysteine sulfoxide (alliin)* pada protein target *Calcium Channel* yang merupakan terapi dari cacing cestoda jenis *Schistosomia sp* meskipun memiliki potensi yang lemah dibandingkan dengan *praziquantel*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi *in silico* disimpulkan bahwa senyawa umbi bawang putih diprediksi memiliki potensi dan efek yang rendah sebagai agen anthelmintik pada protein target *Acetylcholinesterase* dan *beta tubulin* tapi diprediksi memiliki potensi sebagai anthelmintik pada jenis cacing cestoda pada protein target *Calcium Channel* yang merupakan terapi firstline dari cacing cestoda jenis *Schistosomia sp*.meskipun efeknya lemah dan tidak lebih baik dari *Praziquantel*

SARAN

Peneliti menyarankan hal – hal berikut untuk menunjang penelitian selanjutnya

1. Diperlukan penelitian GCMS dan LCMS untuk memastikan secara pasti jumlah kadar yang terkandung dalam Bawang putih (*Allium sativum L* var. solo garlic)
2. Pada penelitian lebih lanjut disarankan melakukan penambatan dengan protein target dan ligan senyawa aktif yang lebih banyak
3. Meskipun senyawa Umbi Bawang putih (*Allium sativum*) diprediksi memiliki potensi yang rendah terhadap anthelmintik tapi tidak menutup kemungkinan memiliki kemampuan anthelmintik dengan mekanisme yang lain. Maka perlu penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme homeostasis, farmakodinamik, farmakokinetik serta interaksi agonis antar senyawa aktif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, serta tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedarto.Parasitologi Klinik. Surabaya: Airlangga University Press. 2010
2. Departemen Kesehatan RI. Sistem Kesehatan Nasional. 2015 [http:// www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id). Accesed at 20 Jan 2020
3. WHO. Soil Transmitted Helminths Infection. (Online). 2016. diakses 18 Januari 2020.
4. Staf pengajar Departemen Parasitologi FKUI. Buku Ajar Parasitologi Kedokteran Edisi Keempat. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2008
5. McManus DP, Loukas A. Current status of vaccines for schistosomiasis. Clin

- Microbiol Re. 2008 (1):225-42. doi: 10.1128/CMR.00046-07
6. Budiyantri RT, Murkati, Qadrijati I. Efek anthelmintik infusa herba sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap *Ascaris suum* secara in vitro. *Bioteknologi*. 2016.13(2), 73-82..
 7. Neeraj, S., Sushila, K., Neeraj, D., Milind, P., & Minakshi, P, Garlic: A Pungent Wonder From Nature. *International Research Journal of Pharmacy*. 2014 5(7): 523- 529
 8. Syamsiah, I.S., dan Tajudin. Khasiat dan Manfaat Bawang Putih. Jakarta : Agromedia Pustaka. 2003
 9. Yusmira, G., & Isti'anah, S. Uji Daya Atihelmintik Ekstrak Etanol 70 % Bawang Putih (*Allium sativum* L.) Terhadap Cacing *Ascaridia galli* In vitro. *Biomedika*, 2015. 7(1), pp. 11–14.
 10. Utami, P., Mardiana, L., Tim Penulis PS. *Umbi Ajaib Tumpas Penyakit*. Penebar Swadaya. Jakarta. 2013
 11. Dias, Raquel & De Azevedo Jr, Walter. Molecular Docking Algorithms. *Current drug targets*. 2009. 9. 1040-7. 10.2174/138945008786949432.
 12. Pedro F, Lei H. A systematic review on computer-aided drug design: docking and scoring. *J Macao Politech Inst*. 2010. 4:47–51
 13. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extractas FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment throughcomputational study.In *Silico Pharmacol*. 2017;5(3):1-7
 14. Mardianingrum, R., Herlina, T & Supratman, U. Isolasi dan Molecular docking senyawa 6,7-dihidro17-hidroksierisotrin dari daun dadap belendung (*Erythrina poppigiana*) terhadap aktivitas sitotoksik antikanker payudara MCF-7. *Chimica et Natura Acta*. 2015. 3(3): 90–93
 15. Departemen Kesehatan RI. *Sistem Kesehatan Nasional*. 2015. [http:// www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id). Accesed at 20 Jan 2020
 16. Kalamida, D., Poulas, K., Avramapoulou,V., Fostieri, E., Lagoumintzis, G., Lazaridis, K., Sideri, A., Zouridakis, M., and Tzartos, SJ. Muscle and neuronal nicotinic acetylcholine receptor: structure, function and pathogenicity. *FEBS J*. 2007. 274, 3799-384
 17. Fikri MZ. Efek Ekstrak Bawang putih (*Allium sativum* L) terhadap Konsentrasi dan Waktu Paralisis seta Kematian Cacing dewasa *Ascaris suum* Goeze. Fakultas kedokteran islam malang. 2020
 18. Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extractas FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment throughcomputational study.In *Silico Pharmacol*. 2017;5(3):1-7
 19. Syahputra, G. Simulasi greenkalesar Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12 Lipoksigenase, Institut Pertanian Bogor: Bogor. 2014
 20. Putri, D., Ardia., Dan Rahayu, T. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Bawang Putih (*allium sativum*) Dan Black Garlic Terhadap *Escherichia Coli* Sensitif Dan Multiresisten Antibiotik. *Jurnal Biologi, Sains, Lingkungan dan Pembelajaran*. 2013
 21. Soraya Salle Pasulu. Deteksi Mutasi Pada Gen B Tubulin Sebagai Petanda Resistensi Benzimidazole Pada Telur *Ascaris Lumbricoides* Di Kabupaten Sorong. Thesis thesis, Universitas Airlangga. 2018
 22. Latour RA. Perspectives on the simulation of protein–surface interactions using empirical force field methods. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;1(0):25–37
 23. Burhanuddin, Dewi & Bahtiar, Fachrul & Najib, Ahmad. In Silico Screening of Chemical Compounds from Roselle (*Hibiscus Sabdariffa*) as Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor Used PyRx Program. *ARPJ Journal of Science and Technology*. 2013. 3. 1145-1147.
 24. Soleh, R. Modifikasi Inhibitor Enalapril untuk Menghambat Kinerja Angiotensin Converting Enzyme pada penyakit Hipertensi secara In Silico. 2013
 25. McConkey, B., Sobolev, V., & Edelman, M. The performance of current methods in ligand–protein docking. *Current Science*, 2002. 83(7), 845-856. Retrieved

- June 24, 2020, from www.jstor.org/stable/24107087
26. Amudha M, Rani S. In Silico Molecular Docking Studies on the Phytoconstituents of *Cadaba Fruticosa* (L.) Druce for Its Fertility Activity. *Asian J Pharm Clin Res*, 2016; 9 (2): 48-50
 27. Lins L & Brasseur R. The hydrophobic effect in protein folding. *Faseb J*. 1995;9: 535-540.
 28. Velkers, Francisca & Dieho, Kasper & Pecher, F & Vernooij, Johannes & Eck, J & Landman, W. Efficacy of allicin from garlic against *Ascaridia galli* infection in chickens. *Poultry science*. 2011. 90. 364-8. 10.3382/ps.2010-01090.
 29. McManus DP, Loukas A. Current status of vaccines for schistosomiasis. *Clin Microbiol Re*. 2008 (1):225-42. doi: 10.1128/CMR.00046-07
 30. Salvador-Recatala, V.; Greenberg, R.M. Calcium channels of schistosomes: unresolved questions and unexpected answers. *Wiley interdisciplinary reviews. Membrane transport and signaling*, 2012. 1, (1), 85-93
 31. Tambunan US, Alamudi S. Designing cyclic peptide inhibitor of dengue virus NS3-NS2B protease by using molecular docking approach. *Bioinformation*. 2010. 5(6):250-254
 32. Mardianingrum Richa, ruswanto Ruswanto, Imam Mustaqim Garna, Lilis Tuslinahresna Lestari, Tita Nofianti. Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*. 2018. Vol 14
 33. McCarthy J, Loukas A, Hotez PJ. Chemotherapy of helminth infection. Dalam L.L. Brunton (Ed.). *Goodman & Gillman's Pharmacological Basis of Therapeutics*. 2006. 12th edition (hal. 78-84). New York : McGraw- Hill
 34. Jackson F, Coop R. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology*. 2000. 120(07): 95-1