



Analisis Interaksi Alfa Tokoferol dan Asam Oleat terhadap Asetilkolin dan Asetilkolinesterase Otak dengan Analisis Doking Molekuler

Nurul Nazla^{1*}, Emni Purwoningsih², Luh Avianto Tapiheru³, Melviana Lubis⁴

¹⁻⁴ Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Indonesia

*Penulis Korespondensi: nurulnazla48343@gmail.com¹

Abstract. *Acetylcholine is an essential neurotransmitter in modulating the function of the human central nervous system. The pathogenesis of Alzheimer's disease is characterized by an acetylcholine deficit resulting from the accumulation of beta-amyloid plaques and tau protein neurofibrillary tangles, which directly trigger cognitive decline in patients. To determine the binding energy and inhibition constants for the interactions between acetylcholine and acetylcholinesterase proteins with alpha-tocopherol and oleic acid. In silico analysis using molecular docking methods with Autodock Tools and Marvin Sketch software. The results of the docking analysis were then visualized using Discovery Studio and LigandScout software. The binding energies and inhibition constants of acetylcholine with oleic acid and alpha-tocopherol were -4.96 kcal/mol and 229.99 μ M, and -6.35 kcal/mol and 22.13 μ M, respectively. The binding energies and inhibition constants of acetylcholinesterase for oleic acid and alpha-tocopherol were -5.11 kcal/mol and 179.45 μ M, and -8.35 kcal/mol and 0.75845 μ M, respectively. Oleic acid and alpha-tocopherol can interact with acetylcholine and acetylcholinesterase through the formation of hydrogen bonds.*

Keywords: *Acetylcholine; Alpha Tocopherol; Alzheimer's; Molecular Docking; Oleic Acid.*

Abstrak. Asetilkolin merupakan neurotransmitter esensial dalam memodulasi fungsi sistem saraf pusat manusia. Patogenesis penyakit Alzheimer dikarakterisasi oleh defisit asetilkolin akibat penumpukan plak beta-amiloid dan *neurofibrillary tangles* protein tau, yang secara langsung memicu kemunduran fungsi kognitif pasien. Untuk menentukan energi pengikatan dan konstanta penghambatan pada interaksi protein asetilkolin dan asetilkolinesterase dengan senyawa Alfa Tokoferol dan Asam Oleat. Analisis *in silico* menggunakan metode doking molekuler dengan *Software Autodock Tools* dan *Marvin Sketch*. Hasil analisis docking selanjutnya divisualisasikan menggunakan *Software Discovery Studio* dan *LigandScout*. Energi pengikatan dan konstanta penghambatan dari asetilkolin terhadap asam oleat dan alfa tokoferol adalah -4.96 kcal/mol dan 229.99 μ M dan -6,35 kcal/mol dan 22,13 μ M. Energi pengikatan dan konstanta penghambatan dari asetilkolinesterase terhadap asam oleat dan alfa tokoferol adalah -5.11 kcal/mol dan 179.45 μ M dan -8.35 kcal/mol dan 0.75845 μ M. Asam oleat dan Alfa tokoferol dapat berinteraksi dengan protein asetilkolin dan asetilkolinesterase melalui pembentukan ikatan hidrogen

Kata kunci: Alfa Tokoferol; Alzheimer; Asam Oleat; Asetilkolin; Doking Molekuler.

1. LATAR BELAKANG

Penyakit Alzheimer diklasifikasikan sebagai gangguan neurodegeneratif progresif yang menjadi etiologi utama demensia. Kondisi ini disebabkan oleh kerusakan sel saraf otak yang memicu penurunan fungsi kognitif yang signifikan, meliputi defisit memori, pemikiran, dan perubahan perilaku (Alzheimer Indonesia, 2024). Secara global, penyakit ini mendominasi sekitar 60 hingga 80 persen kasus demensia dengan populasi pendertia sebanyak 50 juta jiwa dan akan terus meningkat hingga 152,8 juta pada tahun 2050 pada usia > 65 tahun (Lancôt et al., 2023). Di Indonesia, penyakit Alzheimer menyumbang sebagian besar dari lebih 4,2 juta kasus demensia, dengan prevalensi yang terus meningkat seiring bertambahnya populasi lanjut usia (Turana et al., 2019).

Patologi utama dari penyakit Alzheimer ditandai oleh akumulasi plak amiloid serta agregasi protein tau yang dapat menurunkan aktivitas neurotransmitter asetilkolin (Emeralda et al., 2023; Nicole et al., 2017). Proses tersebut memicu deteriorasi fungsi kognitif dan perubahan perilaku secara progresif (Roda et al., 2022). Secara klinis bermanifestasi sebagai amnesia, penurunan kapasitas kognitif, disorientasi, hambatan komunikasi, serta gangguan emosi dan perilaku (Breijyeh & Karaman, 2020).

Sebagai neurotransmitter, ACh berperan dalam merangsang neurogenesis melalui aktivasi proliferasi dan diferensiasi sel punca saraf yang dimediasi oleh reseptor nikotinik di berbagai area otak terutama pada hipokampus, yang mengatur fungsi memori dan pembelajaran (Chen et al., 2022). ACh juga dapat menghambat apoptosis pada pembentukan neuron baru. (*Pharmacology and Physiology for Anesthesia*, 2019). Pengaruh AChE terhadap neuron baru bersifat multidimensional. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa inhibisi AChE dengan kadar sedang mampu meningkatkan neurogenesis akibat memanjangnya durasi transmisi sinyal ACh (Marucci et al., 2021; Moreira et al., 2022; *Pharmacology and Physiology for Anesthesia*, 2019). Sebaliknya, AChE yang berlebihan memicu stimulasi berlebih pada reseptor ACh sehingga mengganggu aktivitas sel saraf (Huang et al., 2022).

Sintesis ACh terjadi di terminal saraf melalui kondensasi asetil koenzim A dan kolin yang dikatalisis oleh enzim kolin asetiltransferase (CAT). Sesampainya impuls saraf, ACh disekresikan ke celah sinaptik untuk meneruskan sinyal otak. Transmisi ini dipengaruhi dua jenis reseptor utama, yaitu reseptor nikotinik yang respon terhadap nikotin pada otot rangka, serta reseptor muskarinik tersebar luas di berbagai jaringan tubuh (Fujii et al., 2017; Halder & Lal, 2021). Penyakit Alzheimer, mengalami kemunduran fungsi kognitif akibat menurunnya aktivitas sistem kolinergik (Wu & Zhang, 2023).

Asetilkolinesterase (AChE), sebagai enzim yang berfungsi sebagai pemecahan ACh, sehingga berperan penting dalam mengatur neurotransmitter di otak (Kandel et al., 2022). Pada proses neurodegenerative terjadi hiperaktivitas AChE yang secara langsung memicu terjadinya penurunan kadar ACh yang pada akhirnya akan mempercepat terjadinya kerusakan ACh dan proses transmisi sinyal saraf (Sakurai et al., 2021).

Asam oleat memiliki kemampuan menstimulasi neurogenesis sehingga dapat meningkatkan kemampuan otak dalam memproses informasi (La Torre et al., 2023). Sifat anti-radangnya terbukti mampu meredakan peradangan jangka panjang pada otak, yang pada akhirnya melindungi seseorang dari penurunan kognitif (Lee et al., 2020).

Alfa tokoferol yang secara umum dikenal sebagai vitamin E, merupakan agen antioksidan. Di dalam jaringan otak, senyawa ini dapat menetralkan radikal bebas, memproteksi neuron dari kerusakan akibat stres oksidatif, serta mempertahankan fungsi otak, melindungi struktur membran sel, untuk memastikan sinyal dan fungsi saraf berjalan normal (La Torre et al., 2023).

Asam oleat dan alfa-tokoferol berperan dalam meningkatkan memori dan fungsi kognitif melalui mekanisme perlindungan neuron serta optimalisasi transmisi sinaptik antar sel saraf (Bekdash, 2021). Alfa tokoferol juga dapat menjaga kesehatan otak karena memiliki fungsi antiinflamasi yang sama dengan asam oleat, sehingga diyakini mampu mencegah munculnya penyakit neurodegeneratif (Markowicz-Piasecka et al., 2017).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *In Silico* dengan melakukan simulasi molekuler antara reseptor ACh dan AChE dengan ligan Asam oleat dan Alfa tokoferol. Selanjutnya target yang digunakan adalah asetilkolin dan asetilkolinesterase. Prosedur docking molekuler ini dilaksanakan melalui tiga tahapan utama yaitu preparasi ligan dan protein target, penentuan *grid box* imajiner, serta proses docking itu sendiri.

Preparasi protein target diawali dengan mengunduh urutan asam amino dalam format .pdb dari basis data UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Selanjutnya, struktur protein dipreparasi menggunakan perangkat lunak AutoDock Tools melalui tahapan penghilangan molekul air dan pelarut sisa, penambahan muatan, serta eliminasi *native ligand* dan molekul asing lainnya.

Pada tahap berikutnya, struktur tiga dimensi (3D) senyawa uji diperoleh dari basis data PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam format .sdf, yang kemudian dikonversi ke dalam format .pdb menggunakan aplikasi *MarvinSketch*.

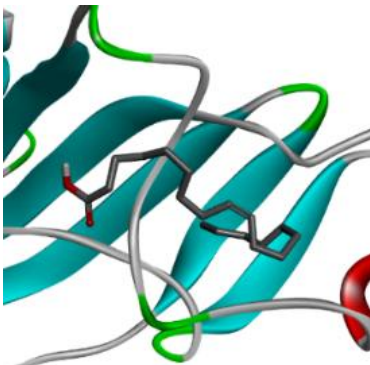
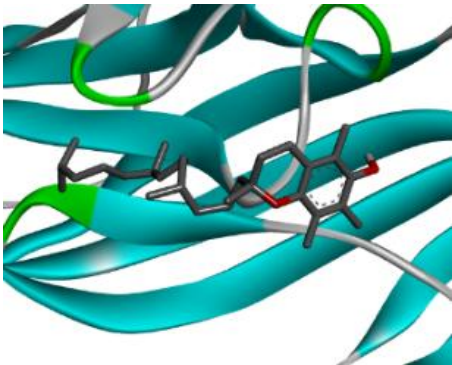
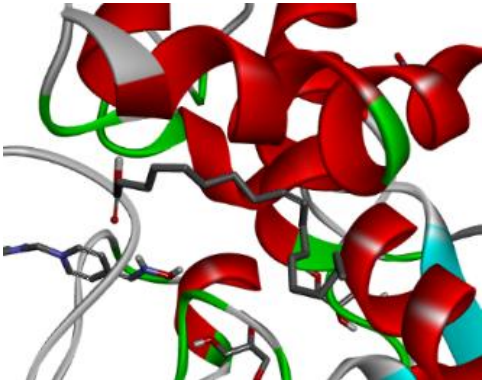
Selanjutnya, Struktur 3D dari protein target diprediksi menggunakan *Autodock tools* dengan metode *X-ray*. Setelah proses validasi berhasil, simulasi penambatan molekuler (*molecular docking*) dieksekusi menggunakan perangkat lunak yang sama untuk mengkaji interaksi antara ligan dan protein target, yaitu ACh serta AChE. Tahap akhir penelitian ini meliputi visualisasi menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio* dan *LigandScout*.

Analisis interaksi antara protein dan ligan dilakukan untuk mengidentifikasi jumlah serta jenis ikatan kimia yang terbentuk, yang mencakup ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan ikatan *van der Waals*. Data hasil penambatan molekuler (*molecular docking*) kemudian divisualisasikan dalam bentuk dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D) guna mengkaji profil

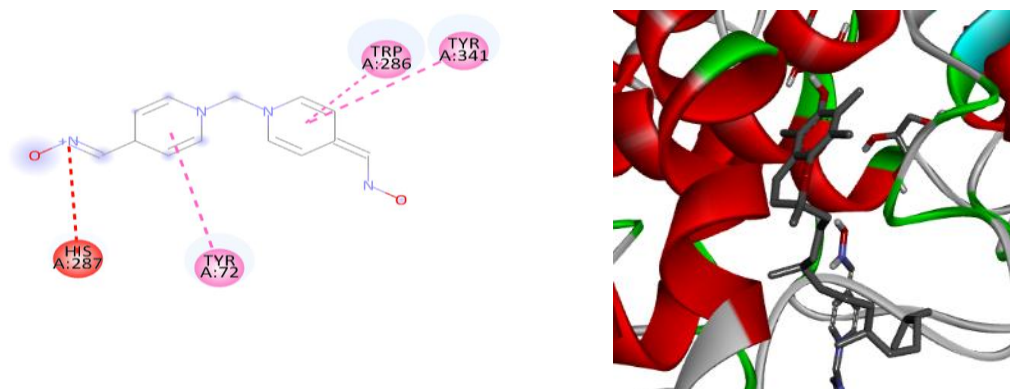
ikatan, besarnya energi bebas ikatan (*binding affinity*), konstanta inhibisi (K_i), serta lokasi spesifik titik interaksi antara senyawa uji dan protein target. Pada tahap akhir, penelitian ini disimpulkan berdasarkan kekuatan energi pengikatan, nilai konstanta hambatan, serta ketepatan konformasi posisi interaksi antara ligan dan protein target.

3. HASIL PENELITIAN

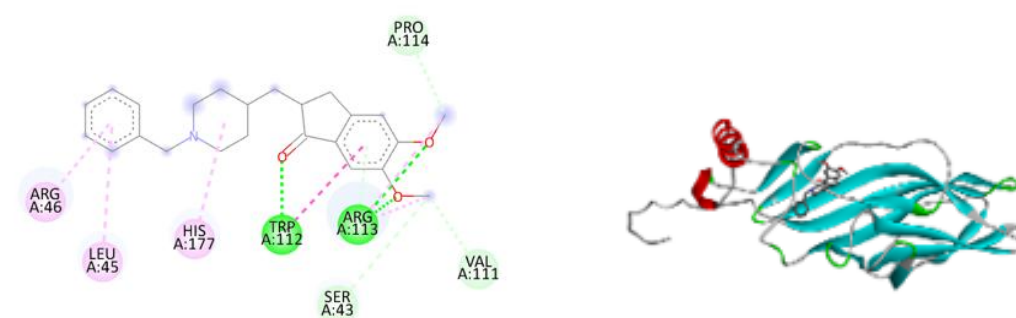
Tabel 1. Visualisasi 2D dan 3D Ligan-Protein

2D	3D
A.	
B.	
C.	

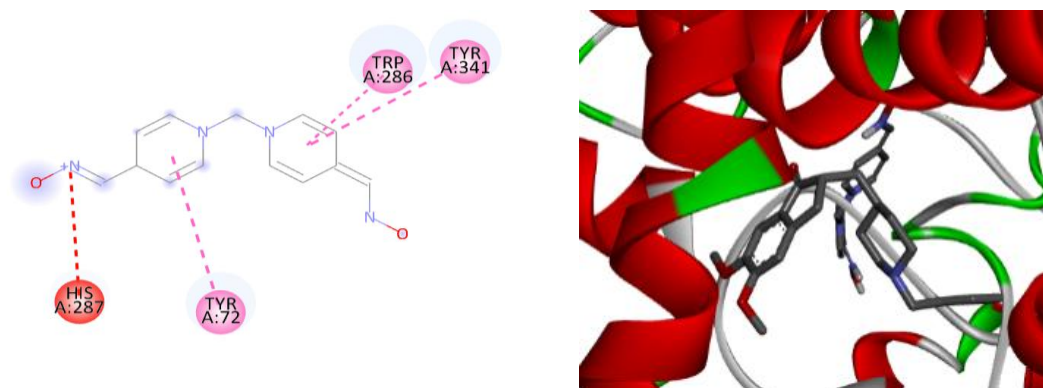
D.



E.



F.



Keterangan: A) Asam oleat-Ach, B) Alfa tokoferol-Ach, C) Asam oleat-AchE, D) Alfa tokoferol-AChE, E) Donepezil-ACh, F) Donepezil-AChE

Tabel 2. Hasil Analisis Interaksi antara Protein dan Ligan

Komponen Bioaktif	ACh		AChE	
	EP (kcal/mol)	KP (uM)	EP (kcal/mol)	KP (uM)
Asam Oleat	-4.96	229.99	-5.11	179.45
Alfa Tokoferol	-6.35	22.13	-8.35	0.75845
Donepezil	-7.10	6.25	-9.80	0.0658

Keterangan: EP= Energi Pengikatan; KP= Konstanta Penghambatan

4. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil visualisasi ligan-protein (Tabel 1) maka diperoleh data energi pengikatan dan konstanta penghambatan (Tabel 2). Berdasarkan hasil simulasi doking molekuler membuktikan bahwa asam oleat dan alfa-tokoferol mampu berikatan dengan protein ACh dan AChE, yang ditandai oleh energi pengikatan bernilai negatif. Sebagaimana diketahui, semakin negatif nilai energi yang dihasilkan, maka semakin kuat ikatan yang terjadi antara makromolekul target (Pebralia et al., n.d.). Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa afinitas alfa-tokoferol terhadap ACh dan AChE merupakan yang paling mendekati profil donepezil, yaitu obat standar dengan ikatan yang sangat kuat terhadap AChE (Kezia et al., 2023). Berdasarkan parameter konstanta penghambatannya, senyawa dengan nilai di bawah 100 mikromolar diklasifikasikan sebagai *potent inhibitor*—yang berarti memiliki kemampuan interaksi tinggi dengan protein target (Purnomo, 2021). *Potent inhibitor* menandakan tingginya kemampuan suatu senyawa dalam berinteraksi dengan makromolekul target (Pebralia et al., n.d.). Maka alfa-tokoferol dalam penelitian ini terbukti mampu bertindak sebagai *potent inhibitor* terhadap enzim AChE.

Uji *in silico* mengenai efek asam oleat terhadap aktivitas asetilkolin belum dilaporkan. Namun, pada Uji *in vitro* oleh Yohanes et al. 2017 sebelumnya telah membuktikan bahwa asam oleat mampu memberikan efek penghambatan terhadap aktivitas enzim AChE (Anthony, 2015).

Berdasarkan hasil visualisasi interaksi pada protein ACh, senyawa asam oleat dan alfa tokoferol tidak memiliki residu asam amino yang sama, yang mengindikasikan bahwa *active site* kedua senyawa tersebut di permukaan protein. Sebaliknya, pada protein AChE, asam oleat, alfa-tokoferol, dan obat standar donepezil memiliki residu asam amino yang identik pada posisi TYR341, TRP286, HIS287, dan TYR72, sehingga menunjukkan adanya kesamaan empat situs aktif. Situs aktif atau binding site sendiri didefinisikan sebagai area spesifik pada makromolekul tempat senyawa aktif berikatan dan bereaksi (Dina et al., 2019). Dari hasil analisis ikatan hidrogen antara ligan dan protein bahwa donepezil dan ACh membentuk ikatan hidrogen terbanyak, yakni sebanyak lima ikatan. Hal ini menandakan bahwa semakin banyak ikatan hidrogen yang teridentifikasi, maka semakin stabil dan kuat pula struktur kompleks yang terbentuk (Fadzillah et al., 2024).

5. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai interaksi antara alfa-tokoferol dan asam oleat terhadap protein target, menunjukkan bahwa pada protein ACh, asam oleat dan alfa-tokoferol masing-masing membentuk ikatan hidrogen pada residu ARG 46 dan GLN 181. Sementara itu, pada protein AChE, kedua senyawa ini berbagi situs aktif yang sama, yaitu pada residu HIS 287, TRP 286, TYR 341, dan TYR 72, namun tidak membentuk ikatan hidrogen, dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa tersebut memiliki kemampuan berikatan dengan protein asetilkolin (ACh) dan asetilkolinesterase (AChE).

DAFTAR REFERENSI

- Anthony, J. (2015). *What Is an Inhibitory Constant (K_i) and How Does It Relate to Understanding Drug Interactions?*
- Bekdash, R. A. (2021). The Cholinergic System, the Adrenergic System and the Neuropathology of Alzheimer's Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1273. <https://doi.org/10.3390/ijms22031273>
- Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*, 25(24), 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>
- Castellano, J. M., Garcia-Rodriguez, S., Espinosa, J. M., Millan-Linares, M. C., Rada, M., & Perona, J. S. (2019). Oleanolic Acid Exerts a Neuroprotective Effect Against Microglial Cell Activation by Modulating Cytokine Release and Antioxidant Defense Systems. *Biomolecules*, 9(11), 683. <https://doi.org/10.3390/biom9110683>
- Chen, Z. R., Huang, J. B., Yang, S. L., & Hong, F. F. (2022). Role of Cholinergic Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*, 27(6), 1816. <https://doi.org/10.3390/molecules27061816>
- Dina, S. P., Herowati, R., & Nurrochmad, A. (2019). *Uji In-Vitro Penghambatan Enzim Asetilkolinesterase dan Identifikasi Fitokimia Fraksi Aktif Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.)*.
- Emeralda, G., Riyanti, S., & Karlina, Y. (2023). Potensi Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* Roscoe var. Sunti), Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) sebagai Herbal Penunda Kepikunan. *Kartika: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(2), 67–76. <https://doi.org/10.26874/KJIF.V8I2.650>
- Fadzillah, S. N., Hernawati, D., & Putra, R. R. (2024). Analisis In Silico: Aktivitas Antiinflamasi dan Prediksi Toksisitas Senyawa Metabolit Sekunder Daun Ciplukan (*Physalis peruviana* L.). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 12(1), 517. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v12i1.9592>
- Fujii, T., Mashimo, M., & Moriwaki, Y. (2017). Physiological Functions of the Cholinergic System in Immune Cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 134(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2017.05.002>
- Halder, N., & Lal, G. (2021). Cholinergic System and Its Therapeutic Importance in Inflammation and Autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.660342>

- Huang, Q., Liao, C., Ge, F., Ao, J., & Liu, T. (2022). Acetylcholine Bidirectionally Regulates Learning and Memory. *Journal of Neurorestoratology*, 10(2), 100002. <https://doi.org/10.1016/j.jnrt.2022.100002>
- Indonesia, A. (2024). *Alzheimer & Demensia*. Alzheimer Indonesia.
- Kandel, P., Semerci, F., & Mishra, R. (2022). Oleic Acid Is an Endogenous Ligand of TLX/NR2E1 That Triggers Hippocampal Neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(13). <https://doi.org/10.1073/pnas.2023784119>
- Karoglu-Eravsar, E. T., Tuz-Sasik, M. U., & Karaduman, A. (2023). Long-Term Acetylcholinesterase Depletion Alters the Levels of Key Synaptic Proteins while Maintaining Neuronal Markers in the Aging Zebrafish (Danio rerio) Brain. *Gerontology*, 69(12), 1424–1436. <https://doi.org/10.1159/000534343>
- Kezia, I., Erlina, L., Mudjihartini, N., & Fadilah, F. (2023). Molecular Simulation for Screening Bioactive Compounds as Potential Candidate for Alzheimer's Disease. *Eksakta: Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 24, 179–192. <https://doi.org/10.24036/eksakta/vol24-iss02/401>
- La Torre, M. E., Cianciulli, A., & Monda, V. (2023). α -Tocopherol Protects Lipopolysaccharide-Activated BV2 Microglia. *Molecules*, 28(8), 3340. <https://doi.org/10.3390/molecules28083340>
- Lancôt, K. L., Hviid Hahn-Pedersen, J., & Eichinger, C. S. (2023). Burden of Illness in People with Alzheimer's Disease: A Systematic Review of Epidemiology, Comorbidities and Mortality. *Journal of Prevention of Alzheimer's Disease*. <https://doi.org/10.14283/JPAD.2023.61>
- Lee, K. H., Cha, M., & Lee, B. H. (2020). Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7152. <https://doi.org/10.3390/ijms21197152>
- Markowicz-Piasecka, M., Sikora, J., Szydłowska, A., Skupień, A., Mikiciuk-Olasik, E., & Huttunen, K. M. (2017). Metformin – A Future Therapy for Neurodegenerative Diseases. *Pharmaceutical Research*, 34(12), 2614–2627. <https://doi.org/10.1007/s11095-017-2199-y>
- Marucci, G., Buccioni, M., Ben, D. D., Lambertucci, C., Volpini, R., & Amenta, F. (2021). Efficacy of Acetylcholinesterase Inhibitors in Alzheimer's Disease. *Neuropharmacology*, 190, 108352. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108352>
- Moreira, N. C. dos S., Lima, J. E. B. de F., Marchiori, M. F., Carvalho, I., & Sakamoto-Hojo, E. T. (2022). Neuroprotective Effects of Cholinesterase Inhibitors: Current Scenario in Therapies for Alzheimer's Disease and Future Perspectives. *Journal of Alzheimer's Disease Reports*, 6(1), 177–193. <https://doi.org/10.3233/ADR-210061>
- Nicole, S., Azuma, Y., Bauché, S., Eymard, B., Lochmüller, H., & Slater, C. (2017). Congenital Myasthenic Syndromes or Inherited Disorders of Neuromuscular Transmission: Recent Discoveries and Open Questions. *Journal of Neuromuscular Diseases*, 4(4), 269–284. <https://doi.org/10.3233/JND-170257>
- Pebralia, J., Restianingsih, T., Sirait, Y., & Regina, I. (n.d.). *Analisis Molekular Docking in Silico terhadap Bakteri Mycobacterium tuberculosis pada Daun Tanaman Herbal Eukaliptus Lemon (Corymbia citriodora)*. *Pharmacology and Physiology for Anesthesia*. (2019). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/C2014-0-04139-1>

- Purnomo, V. C. M. R. (2021). *Kajian Pustaka Efektivitas dan Efek Samping Donepezil pada Pasien Penderita Alzheimer*.
- Roda, A., Serra-Mir, G., Montoliu-Gaya, L., Tiessler, L., & Villegas, S. (2022). Amyloid-beta Peptide and Tau Protein Crosstalk in Alzheimer's Disease. *Neural Regeneration Research*, 17(8), 1666. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.332127>
- Sakurai, K., Shen, C., Shiraishi, I., Inamura, N., & Hisatsune, T. (2021). Consumption of Oleic Acid on the Preservation of Cognitive Functions in Japanese Elderly Individuals. *Nutrients*, 13(2), 284. <https://doi.org/10.3390/nu13020284>
- Turana, Y., Teng kawan, J., Suswanti, I., Suharya, D., Riyadina, W., & Pradono, J. (2019). Primary Prevention of Alzheimer's Disease in Indonesia. *International Journal of Aging Research*. <https://doi.org/10.28933/IJOAR-2019-06-2506>
- Wu, A., & Zhang, J. (2023). Neuroinflammation, Memory, and Depression: New Approaches to Hippocampal Neurogenesis. *Journal of Neuroinflammation*, 20(1), 283. <https://doi.org/10.1186/s12974-023-02964-x>