

**ANALISIS DOCKING MOLEKULER SENYAWA FLAVONOID
DAN STEROID TERHADAP ENZIM SIKLOOKSIGENASE DAN
FOSFOLIPASE**



Oleh:

**Muksin Al Karim
20144264A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**ANALISIS DOCKING MOLEKULER SENYAWA FLAVONOID
DAN STEROID TERHADAP ENZIM SIKLOOKSIGENASE DAN
FOSFOLIPASE**

SKRIPSI
*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Muksin Al Karim
20144264A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

ANALISIS DOCKING MOLEKULER SENYAWA FLAVONOID DAN STEROID TERHADAP ENZIM SIKLOOKSIGENASE DAN FOSFOLIPASE

Oleh

Muksin Al Karim
20144264A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 17 Januari 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. RA Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing I

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing II,

Broto Santoso, M.Sc., Apt.

Penguji :

1. Dr Jason Merari P., MM., M.Si., Apt.
2. Dr. Supriyadi, M.Si.
3. Ghani Nurfiana FS., M.Farm., Apt.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 18 Januari 2018



Muksin Al Karim

KATA PENGANTAR



Assalamualaykum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Alhamdulillah segala puji bagi Allah Subhanahu Wa Ta ‘ala yang karena nikmatnya kebaikan-kebaikan menjadi indah dan karena karunianya niat-niat baik hamba-Nya dapat terlaksana, serta tak lupa semoga shalawat dan salam senantiasa tercurah kepada junjungan kita Nabi Muhammad Shalallahu Alayhi Wassalam kepada keluarganya, sahabatnya, para tabi’in, tabi’ut tabi’in, pengikutnya yang senantiasa berdiri diatas sunnahnya, serta kepada seluruh umatnya hingga akhir zaman yang menjadikan sebagai *uswatun hasanah*, suri tauladan yang baik sehingga memotivasi penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Analisis Docking Molekuler Senyawa Flavonoid dan Steroid Terhadap Enzim Siklooksigenase dan Fosfolipase”

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Dalam penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapat bantuan, bimbingan, dan dorongan dari berbagai pihak.

Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. RA Oetari, SU, MM, M.Sc., Apt. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Dr. Rina Herowati M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama.
3. Broto Santoso, M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Pendamping.
4. Dr. Gunawan Pamudji Widodo M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik.
5. Dr Jason Merari Peranginangin., MM., M.Si., Apt. selaku Dosen Penguji I.
6. Dr. Supriyadi, M.Si. selaku Dosen Penguji II.
7. Ghani Nurfiana Fadma Sari., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji III.

8. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta yang telah memberikan banyak ilmu kepada penulis.
9. Keluarga peneliti; Zaiti Jack, Nurul Amanah, Rudi Anggara, Keluarga Besar M. Zawawi dan Keluarga Besar Suhartomo.
10. Teman-teman Angkatan 2014 pada umumnya dan FST-OA 2014 pada khususnya.
11. Teman-teman upak-upuk family: Hadi Surya, Desi Ratna P, Ade Al Faruq, L. Sekar Nirwani, Hilda Khairunnisa S, Kiki Permata Sari, M. Rifky Giffary yang selalu memberikan motivasi dan dukungan untuk mengerjakan tugas kuliah maupun tugas akhir.
12. Mayang Septiana Putri H. yang tak pernah bosan memberikan motivasi dan dukungan untuk mengerjakan tugas kuliah maupun tugas akhir.
13. Keluarga Besar Takmir Masjid Kampus Al-Islah.
14. Keluarga Besar Fosmi Universitas Setia Budi.
15. UPT-Laboratorium dan Perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta.

Semoga Allah Subhanahu Wa Ta 'ala memberikan balasan yang lebih baik pada mereka semua.

Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini jauh dari sempurna, namun penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi pihak lain yang berkepentingan.

Wassalamualaykum Warrahmatullahi Wabarakatuh.

Surakarta, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Peran Metabolisme Asam Arakidonat Dalam Terjadinya Inflamasi.	6
1. Asam Arakhidonat.....	6
2. Inflamasi	7
3. Enzim Fosfolipase (PL)	8
4. Enzim Siklooksigenase (COX)	8
B. Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat.....	11
1. <i>Computer-aided Drug Design (CADD)</i>	11
2. Skrining Virtual.....	11
3. <i>Docking</i> Molekuler.....	12
4. Prediksi ADMET	13
C. Aktivitas Antiinflamasi Flavonoid dan Steroid.	13
1. Kurkuminoid	14

2. Flavonoid	14
2.1 Rutin dan Kuersetin.	15
2.2 Hesperidin.	16
2.3 Diosmin.	16
2.4 Luteolin.	16
2.5 Apigenin dan Apigetrin.	17
3. Steroid.....	18
3.1 Cucurbitacins.....	19
3.2 Glikosida Cucurbitacins.....	19
4. Pengelompokan Senyawa Uji	20
4.1 Senyawa Pembanding Positif PLA ₂	20
4.2 Steroid dan Turunannya.....	21
4.3 Senyawa Pembanding Siklo Oksigenase (COX-1 & COX-2).....	23
4.4 Curcumin dan turunannya.....	23
4.5 Flavonoid dan turunannya.....	24
D. Landasan Teori.....	24
E. Hipotesis	26
 BAB III METODE PENELITIAN	 27
A. Populasi dan Sampel	27
B. Variabel Penelitian.....	27
1. Identifikasi Variabel Utama	27
2. Klasifikasi Variabel Utama	27
3. Definisi Operasional Variabel Utama.....	28
C. Alat dan Bahan.....	28
1. Alat	28
1.1 Perangkat Keras (<i>Hardware</i>).	28
1.2 Perangkat Lunak (<i>Software</i>).....	29
2. Bahan.....	29
2.1 Struktur Tiga Dimensi PLA ₂ COX-1 dan COX-2.	29
2.4 Struktur Tiga Dimensi Ligan Target	29
D. Cara kerja <i>Docking</i> Molekuler.....	30
1. Pengunduhan Makromolekul PLA ₂	30
2. Pembuatan Struktur Tiga Dimensi Ligan uji.	30
3. Pemisahan Rantai Makromolekul.	30
4. Optimasi geometri struktur senyawa uji	30
5. Proses <i>Docking</i> Molekuler	31
E. Analisis Hasil.....	31
1. Validasi.	31
2. Energi ikatan	32
3. Data Interaksi	32
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	 33
A. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Senyawa Uji.	33
B. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Makromolekul.	33
C. Validasi metode docking molekuler.....	34

D. Proses Docking Molekuler	37
E. Interaksi Ligand Uji dan Reseptor	40
1. Interaksi Ligan dengan PLA ₂	40
2. Interaksi Ligan dengan COX-1	44
3. Interaksi Ligan dengan COX-2	48
4. Prediksi ADMET	54
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA	62

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Jalur metabolisme asam arakidonat	6
Gambar 2. Jalur sintesis prostaglandin oleh enzim COX.	9
Gambar 3. Struktur dasar cucurbitacins	19
Gambar 4. Senyawa pembanding positif PLA ₂	20
Gambar 5. Struktur senyawa picfelterraenin VI	21
Gambar 6. Struktur senyawa bryonisides B, G, dan E (3).	21
Gambar 7 Struktur umum Cucurbitacins B dan cucurbitacin D	22
Gambar 8. Struktur umum Cucurbitacins E dan cucurbitacin I	22
Gambar 9. Struktur umum dihidrocucurbitacins B dan cucurbitacin R	22
Gambar 10. Senyawa pembanding positif COX-1 dan COX-2	23
Gambar 11. Struktur umum kurkuminoid	23
Gambar 12. Struktur flavonoid	24
Gambar 13. Contoh pengaturan gridbox	35
Gambar 14. Validasi PLA ₂	36
Gambar 15. Validasi COX-1 dan COX-2	36
Gambar 16. Interaksi dexametason dengan PLA ₂	40
Gambar 17. Interaksi ligand (a), Cucurbitacin R dan (b) Dehidrocucurbitacin B dengan PLA ₂	42
Gambar 18. Interaksi ligand (c) cucurbitacin B, (d) cucurbitacin D dengan PLA ₂	43
Gambar 19. Interaksi meloxicam dengan COX-1	44
Gambar 20. Interaksi ligand (a) Luteolin, (b) Apigenin dengan COX-1	46
Gambar 21. Interaksi ligand (c) Desmetoksicurcumin, dan (d) Bidesmetoksicurcumin dengan COX-1	47
Gambar 22. Interaksi celecoxib dengan COX-2	48
Gambar 23. Interaksi ligand (a) Apigenin, (b) Kuersetin dengan COX-2	50
Gambar 24. Interaksi (c) Luteolin, dan (d) Diosmetin dengan COX-2	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Struktur kurkuminoid	23
Tabel 2 Struktur Flavonoid.....	24
Tabel 3. Informasi makromolekul dan ligan kristalografi	34
Tabel 4. Pengaturan gridbox makromolekul	35
Tabel 5 Contoh nilai RMSD antara ligan dan makromolekul PLA ₂	35
Tabel 6. Nilai RMSD ligan asli kristalografi dengan ligan <i>redocking</i>	36
Tabel 7. Hasil <i>docking</i> ligand PLA ₂	38
Tabel 8 Hasil <i>docking</i> ligand COX-1.....	39
Tabel 9. Hasil <i>docking</i> ligand COX-2.....	39
Tabel 10. Interaksi dexametason dengan PLA ₂	41
Tabel 11. Interaksi ligan dengan COX-1.....	44
Tabel 12. Interaksi celecoxib dengan COX-2.....	49
Tabel 13. Lipinski rules senyawa kandidat COX.....	55
Tabel 14. Lipinski rules senyawa kandidat PLA ₂	56
Tabel 15. Farmakokinetika senyawa kandidat COX.....	56
Tabel 16. Farmakokinetika senyawa kandidat PLA ₂	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Struktur 3D Makromolekul 2ARM (PLA ₂), 2OYE (COX-1) dan 5KIR (COX-2).....	70
Lampiran 2 Alur penelitian Molecular Docking.....	72
Lampiran 3 Prosedur Kerja <i>Molecular Docking</i> dengan PyRx.....	73
Lampiran 4 Skema Data docking molekuler	101
Lampiran 5 Data hasil <i>docking</i> Autodock Vina.....	102

DAFTAR SINGKATAN

COX	= Cyclo-Oxygenase
PLA	= Phospholipase
NSAID	= Non-Steroid Anti Inflammation Drug
ADMET	= Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi, dan Toksisitas

INTISARI

KARIM MA., 2018, ANALISIS DOCKING MOLEKULER SENYAWA FLAVONOID DAN STEROID TERHADAP ENZIM SIKLOOKSIGENASE DAN FOSFOLIPASE, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Enzim yang mempengaruhi proses inflamasi adalah fosfolipase A₂ (PLA₂) dan siklooksigenase (COX). Dalam penelitian ini, flavonoid dan steroid digunakan sebagai ligan dan enzim PLA₂, COX-1 serta COX-2 sebagai target molekuler untuk mengetahui interaksi obat dengan reseptor dan prediksi ADMET senyawa kandidat.

Penelitian ini memprediksi interaksi antara steroid dengan PLA₂ flavonoid, dan curcuminoid dengan COX, kemudian disimulasi menggunakan perangkat lunak PyRx 0.8, lalu divisualisasikan menggunakan *Discovery Studio Visualizer* dan PyMol, serta diprediksi ADMET menggunakan SwissADME

Hasil menunjukkan bahwa Cucurbitacin R dan dehidrocucurbitacin B berinteraksi dengan respon yang serupa dengan dexametason terhadap PLA₂, sedangkan Flavonoid apigenin dan luteolin berinteraksi dengan respon yang serupa dengan meloxicam terhadap COX-1 dan diosmetin paling mirip dengan celecoxib pada COX-2 dan prediksi ADME menunjukkan senyawa flavonoid memenuhi syarat aturan Lipinski, tidak dapat berdifusi pada sawar otak, bukan substrat protein gp, dan kebanyakan dimetabolisme oleh CYP450, sedangkan steroid cucurbitacin belum memenuhi syarat aturan Lipinski, tidak dapat berdifusi pada sawar otak, bukan merupakan substrat protein gp, dan umumnya termasuk inhibitor CYP3A4.

Kata kunci : PLA, COX, Steroid, Flavonoid. Antiinflamasi, *docking*, ADME

ABSTRACT

KARIM MA., 2018, MOLECULAR DOCKING ANALYSIS FLAVONOID AND STEROID COMPOUND TO CYCLOOXYGENASE AND PHOSPHOLIPASE ENZYMES, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURABAYA.

There are two enzymes affects in the inflammatory process, which are phospholipase A₂ (PLA₂) and cyclooxygenase (COX). In this study, flavonoids and steroids were used as ligands and PLA₂, COX-1 and COX-2 enzymes as molecular targets to determine drug interactions with receptors and predicted ADMET.

This study predicted the interaction between steroids with PLA₂ flavonoids, and curcuminoid with COX. Dexametason as ligand for PLA₂, meloxicam as ligand for COX-1 and celecoxib as ligands for COX-2 used as standard. and then docking using PyRx 0.8 software, then visualized using Discovery Studio Visualizer and PyMol, and ADMET predicted using SwissADME

The results showed that Cucurbitacin R and dehydrocucurbitacin B interacted with a response similar to dexamethasone to PLA₂, whereas Flavonoid apigenin and luteolin interacted with a response similar to meloxicam to COX-1 and diosmetin most closely resembled celecoxib in COX-2 and ADME prediction showed flavonoid compounds eligible for the Lipinski rule, can not diffuse on the brain barrier, not the gp protein substrate, and most metabolized by CYP450, whereas cucurbitacin steroids do not meet the Lipinski rule requirements, can not diffuse in the brain barrier, are not gp protein substrate, and generally include CYP3A4 inhibitors

Kata kunci : PLA, COX, Steroid, Flavonoid. Antiinflamasi, docking, ADME

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Radang atau inflamasi adalah suatu mekanisme respon tubuh terhadap suatu hal yang mengganggu aktivitas fisiologis tubuh, misalnya trauma fisik, terbakar, atau respon terhadap mikroorganisme yang patogen terhadap tubuh. Respon inflamasi yang berlebihan berupa respon tidak nyaman yang dirasakan oleh tubuh seperti nyeri, demam, kemerahan atau pembengkakan. Reaksi yang terjadi dapat bersifat lokal atau juga sistemik. Respon inflamasi dipicu oleh mediator-mediator inflamasi yang berasal dari jaringan-jaringan yang rusak, sel mast, leukosit, dan komplemen. Mediator inflamasi yang menimbulkan reaksi peradangan adalah histamin, bradikinin, prostaglandin, serotonin, dan leukotrien (Katzung 2010).

Siklooksigenase (COX) adalah salah satu enzim yang mengkatalisis biosintesis prostaglandin dari jalur eikosanoid. COX mengkatalisis metabolisme asam arakhidonat yang berasal dari peruraian fosfolipid yang rusak akibat adanya trauma lokal seperti luka sayatan, benturan, ataupun pendarahan yang bersifat lokal oleh fosfolipase. Selain sebagai respon pertahanan diri, COX juga terdapat pada sebagian jaringan tubuh untuk meregulasi pembentukan dinding lambung dan ginjal. Penyakit yang kadang timbul oleh mekanisme inflamasi ini terkadang merupakan penyakit-penyakit autoimun yang bersifat kronis antara lain artritis, asma, diabetes, alergi, anemia, alzheimer, fibrosis, fibromialgia, sistemik, lupus, psoriasis, pankreatitis, dan penyakit autoimun lainnya (Borne et al 2008) sehingga dalam pengobatannya menggunakan obat antiinflamasi.

Obat yang digunakan umumnya adalah golongan glukokortikoid atau *Nonsteroid Anti-Inflammation drug* (NSAID). Glukokortikoid memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat enzim fosfolipase A₂ (PLA₂) yang mengkatalisis proses pembentukan asam arakhidonat dari fosfolipid. NSAID memiliki mekanisme kerja sebagai penghambat katalisis pembentukan prostaglandin dari asam arakhidonat. Meskipun kedua jenis enzim tersebut

berperan pada proses inflamasi, kebanyakan obat-obat NSAID hanya menghambat aktivitas siklooksigenase saja, sehingga efek antiinflamasi yang dihasilkan kurang optimal karena adanya pembentukan leukotrien yang juga merupakan salah satu faktor pembentukan mediator inflamasi melalui jalur lipoksigenase. Asam arakhidonat akan dimetabolisme oleh lipoksigenase berakibat pada pembentukan leukotriene yang menyebabkan terjadinya respon inflamasi dan alergi seperti luka pada saluran pencernaan dan asthma (Charlier & Michaux 2003). Seringkali pemilihan terapi pada pasien menggunakan kombinasi antara NSAID dan glukokortikoid secara bersamaan dengan harapan bahwa senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktivitas anti inflamasi yang lebih besar, akan tetapi resiko yang ditimbulkan juga sangat tinggi karena selain dapat menghambat jalur siklooksigenase juga dapat menghambat jalur lipoksigenase yang dapat menghasilkan mekanisme pertahanan diri seperti interleukin, leukosit, makrofag dan sel limfosit (Martel-Pelletier *et al.* 2003). Selain efek terapi, kombinasi keduanya juga memiliki efek samping seperti pada NSAID berupa gangguan gastrointestinal (Bjarnason *et al.* 1993), ginjal (Harirforoosh & Jamali 2009), hati (Lacroix *et al.* 2004) dan pada glukokortikoid seperti gangguan gastrointestinal, kestabilan emosi, *osteoporosis*, hipertensi serta hiperglikemia yang disebabkan karena peningkatan kadar serum lipida dan glukosa (Moghadam-Kia *et al.* 2010). Dengan adanya fakta tersebut, maka penggunaan obat-obatan kimia mulai beralih menjadi obat tradisional dan obat yang berasal dari bahan alami yang mengandung flavonoid dan steroid alami. Gaya hidup kembali ke alam atau *back to nature* yang mulai marak di masyarakat menjadikan senyawa-senyawa dari bahan alam dapat berpotensi sebagai antiinflamasi mulai dilirik khasiat dan pemanfaatannya.

Flavonoid berinteraksi dengan menghambat proses pelepasan serotonin dan histamin yang merupakan mediator kimia ke tempat terjadinya radang, juga bekerja pada mediator utama dari inflamasi yaitu dengan menghambat sintesis prostaglandin melalui penghambatan kerja COX sehingga tidak terjadi perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Selain flavonoid, steroid yang terdapat dalam fraksi juga dapat menghambat enzim fosfolipase sehingga asam arakidonat

dan prostaglandin tidak terbentuk dengan cara merintangi bebasnya enzim, menstabilkan membran lisosom, menghambat pelepasan mediator-mediator inflamasi dan menghambat migrasi serta infiltrasi leukosit. (Khotimah & Muhtadi 2017)

Pemanfaatan tanaman di Indonesia sebagai antiinflamasi telah banyak dilakukan seperti pemanfaatan flavonoid, dan kurkumin serta turunannya (Anggita 2012), rutin, kuersetin (Teresita et al. 2001; Soemarie 2016), apigenin (Duke 1999; Zamri 2008), diosmin, diosmetin (Cresspo et al. 1999; Dholakiya 2011), luteolin (Harborne, 1986), hesperidin, hesperetin (Pahriz et al. 2014) yang merupakan senyawa flavonoid yang telah memiliki efek antiinflamasi (Skibola & Smith 2000). Selain flavonoid, steroid golongan cucurbitacin yang merupakan kerangka sterol. Secara struktur terdiri atas terpena sitotoksik kerangka cucurbitane ditandai dengan 19-(10 $\rightarrow$ 9 β)-abeo-10a-lanost-5-ene. Cucurbitacin ini menunjukkan kedua aktivitas antiproliferatif dan sitotoksik antikanker baik *in vitro* dan *in vivo* (Yin et al. 2008)

Berdasarkan uraian di atas, sebagian interaksi yang dihasilkan dari senyawa-senyawa golongan flavonoid dan steroid menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas anti inflamasi secara *in vitro*. Hal yang penting untuk dikaji lebih lanjut adalah seberapa besar potensi senyawa tersebut terhadap penghambatan Enzim Fosfolipase dan Siklooksigenase. Pemodelan reseptor dan molekul ligan adalah gambaran yang sangat berguna untuk menggambarkan hal tersebut, tetapi dasar keseluruhan dari kimia medisinal adalah menempatkan molekul ke dalam interaksi biologi yang diperkirakan (Taylor 1991). Reseptor yang akan diuji adalah reseptor PLA₂, COX-1, dan COX-2 dengan ligan uji berupa glikosida utuh, aglikon dari masing-masing golongan steroid, dan flavonoid.

Usaha untuk menemukan dan mengembangkan obat-obat baru merupakan proses yang membutuhkan waktu yang sangat lama dan biaya yang sangat besar. Perkembangan ilmu pengetahuan yang pesat dalam kurun waktu beberapa dekade terakhir ini telah mengubah cara penelitian di bidang farmasi guna menghasilkan obat-obatan baru yang poten. Proses penemuan ini secara garis besar berdasarkan

pada kurang pengetahuan terhadap senyawa-senyawa yang dapat dievaluasi potensinya terhadap target biologis yang lebih spesifik dan sulitnya senyawa yang dapat disintesis secara kimia (Taylor 1993). Kemajuan teknik-teknik komputasi yang ada saat ini memungkinkan dilakukannya uji-uji *in-silico* untuk mempercepat proses pemilihan senyawa-senyawa yang akan disintesis melalui identifikasi dan optimasi senyawa-senyawa penuntun di dalam proses penemuan obat (Computer Aided Drug Design/CADD) (Talele *et al.* 2010).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid yang memiliki efek anti inflamasi dilihat dari *energy binding* pada hasil perhitungan secara *in silico* menggunakan aplikasi Autodock Vina dalam software PyRx. Tujuan dari metode ini adalah mencari nilai, peringkat atau menyaring sekelompok struktur data menggunakan satu atau lebih prosedur komputasi (Leach *et al.* 2006) serta menemukan konformasi energi ligan yang rendah di situs aktif protein yang sesuai dengan menerapkan penilaian fungsi global sampai keterkaitannya dengan data *in vitro* dan *in vivo*. Metode ini berguna untuk memberikan pengetahuan awal tentang jenis ikatan senyawa obat sebagai ligan dengan makromolekul tertentu.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah ada interaksi antara senyawa flavonoid dan steroid dengan makromolekul target anti-inflamasi bila menggunakan analisis *docking* molekuler?
2. Senyawa-senyawa apakah yang diprediksi mempunyai aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap PLA₂ dan COX?
3. Prediksi profil ADME seperti apakah yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui interaksi antara senyawa flavonoid dan steroid dengan makromolekul target anti-inflamasi melalui analisis *docking* molekuler.
2. Mengetahui senyawa-senyawa yang diprediksi mempunyai aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap PLA₂ dan COX.

3. Mengetahui profil ADME dari senyawa yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat memprediksi suatu senyawa steroid dan flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim PLA₂ dan COX, kemudian merancang suatu senyawa yang akan menghambat secara selektif pada mediator-mediator inflamasi terutama pada COX-2. Bagi peneliti, penelitian ini dapat menambah wawasan dan keterampilan terkait hasil yang didapat dalam analisis *docking* molekuler.

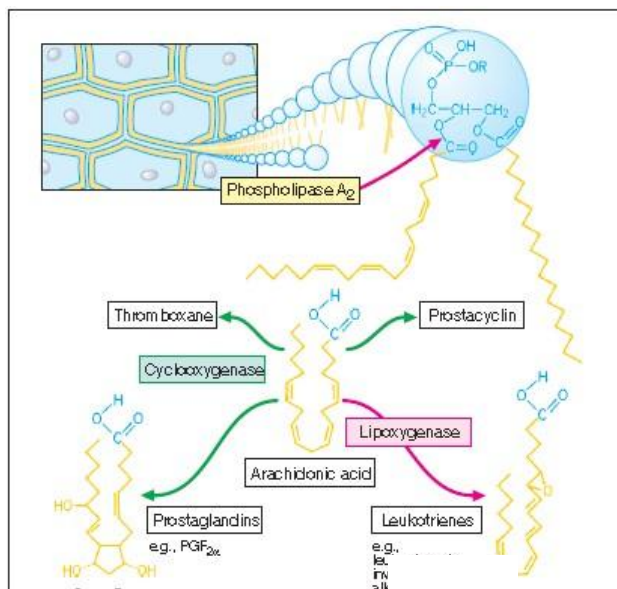
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Peran Metabolisme Asam Arakidonat Dalam Terjadinya Inflamasi.

1. Asam Arakhidonat

Asam Arakhidonat adalah prekursor eikosanoid yang paling penting dan terbanyak, merupakan asam lemak 20-karbon (C20) yang mengandung empat ikatan ganda dimulai pada posisi omega-6 untuk menghasilkan asam 5,8,11,14-eikosatetraenoat (dinyatakan dengan C20: 4-6). Agar sintesis eikosatetraenoat dapat terjadi, mula-mula asam arakhidonat harus dilepaskan atau dimobilisasi dari fosfolipid membran oleh satu atau lebih lipase dari tipe fosfolipase A₂ (PLA₂). Setidaknya tiga fosfolipase memperantai pelepasan arakhidonat dari lipid membrane: PLA₂ sitosol, PLA₂ sekretori, dan PLA₂ yang tak bergantung pada kalsium. Selain itu, arakhidonat juga dilepaskan oleh kombinasi fosfolipase C dan lipase digliserida. (Katzung 2010). Setelah dimobilisasi, asam arakhidonat dioksigenasi melalui empat jalur terpisah: jalur siklooksigenase (COX), lipokigenase, epoksigenase P450, dan juga isoprostan (Katzung 2010).



Gambar 1. Jalur metabolisme asam arakidonat (Lüllman *et al.*, 2000)

Sebagai salah satu asam lemak esensial bagi tubuh, asam arakidonat sangat dibutuhkan bagi sebagian besar mamalia. Metabolit-metabolit dari asam

arakidonat, yang biasa disebut eikosanoid, mempunyai peran penting dalam berbagai jalur *signaling* seluler yang berhubungan dengan fungsi fisiologis maupun patologis (Hyde & Missailidis 2009).

2. Inflamasi

Inflamasi adalah suatu proses sistem pertahanan tubuh terhadap respon berbahaya, yang akan berakhir pada homeostasis. Inflamasi yang tak terkontrol menyebabkan respon reversible seperti demam, nyeri, kemerahan, dan pembengkakan. Pada jalur eikosanoid, sebagian besar menggunakan asam lemak dan asam arakhidonat yang merupakan prekursor pembentukan prostaglandin dan leukotrien. Pada jumlah yang sedikit, asam arakhidonat akan tersimpan dalam bentuk ester di membran fosfolipid. Apabila dalam keadaan banyak akibat rangsangan ekstrim seperti trauma, maka eikosanoid akan disintesis secara berlebih menjadi asam arakhidonat, dan berlanjut ke tahap pembentukan endoperoksida siklis, PGG₂, dan PGH₂ secara cepat (Whicher & Evans 1992).

Inflamasi merupakan upaya untuk menghilangkan pemicu terjadinya luka (misalnya infeksi) dan untuk mengawali terjadinya proses penyembuhan luka. Meskipun demikian, inflamasi yang bersifat progresif dapat menimbulkan penyakit-penyakit tertentu yang tidak diinginkan, seperti demam, periodonitis, atherosklerosis, rheumatoid arthritis, dan bahkan kanker. Hal-hal yang tidak diinginkan tersebut terjadi karena keluarnya enzim-enzim fagositosis dari sel-sel fagosit, seperti *phagocyte oxydase*, *inducible nitric oxyde synthase*, dan *lysosomal protease*, yang memproduksi senyawa-senyawa radikal bebas dan superoksida yang dapat menyebabkan luka pada jaringan sekitar (Abbas & Lichtman 2004).

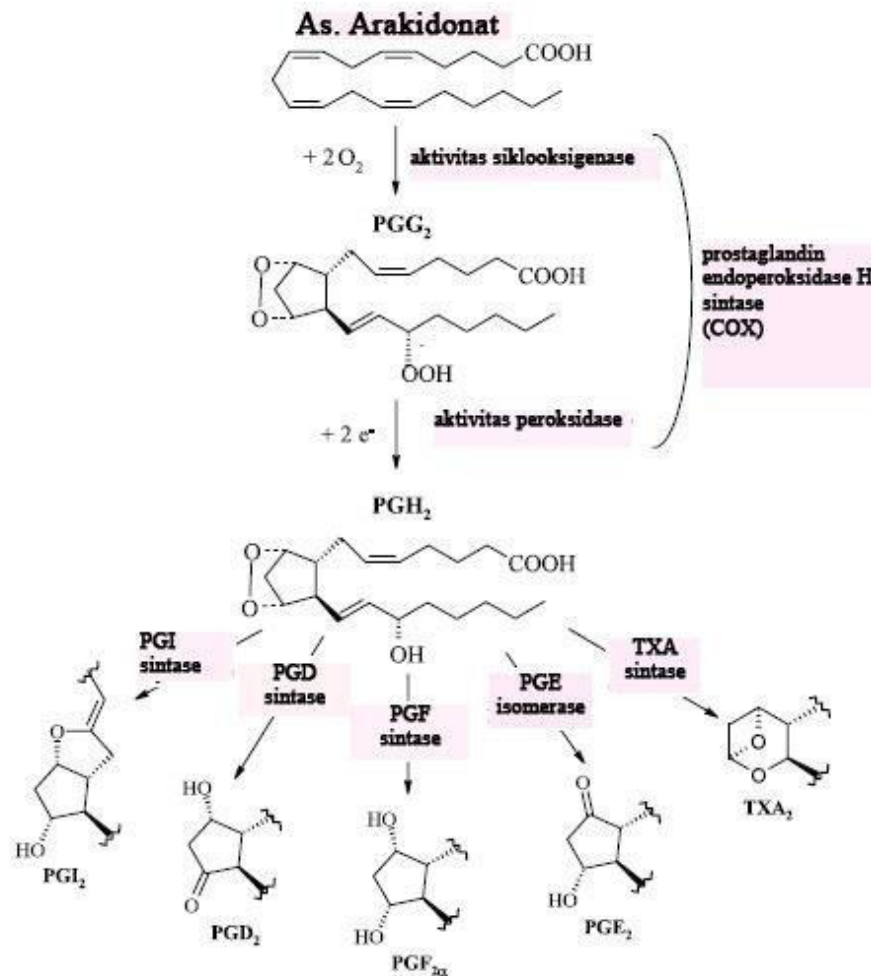
Terdapat lima tanda utama (*cardinal signs*) yang umumnya muncul saat terjadinya inflamasi, yaitu nyeri (*dolor*), panas (*calor*), kemerahan (*rubor*), bengkak (*tumor*), dan hilangnya fungsi (*functio laesa*). Terjadinya panas dan kemerahan disebabkan oleh meningkatnya aliran darah, bengkak disebabkan oleh akumulasi cairan, nyeri disebabkan oleh pelepasan berbagai senyawa yang merangsang syaraf nyeri, dan hilangnya fungsi dipengaruhi oleh bermacam-macam sebab (Chandrasoma & Taylor 2005).

3. Enzim Fosfolipase (PL)

Fosfolipase (PL) adalah sekelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis suatu substrat yang berupa Fosfolipid. Fosfolipase memiliki bermacam-macam fungsi pada sisi aktifnya. Masing-masing berbeda fungsi dan cara kerjanya, serta mereka juga yang meregulasi. Saat ini, fosfolipase telah banyak dimurnikan, dikarakterisasi dan kristal penuhnya telah dielusidasi. Sejauh ini fungsi seluler dari jenis fosfolipase tersebut telah diperiksa menggunakan bermacam-macam teknik molekuler termasuk didalamnya penyisipan gen, *gen knockouts*, dan strategi antisense. Mekanisme ini akan terhambat aktivitasnya apabila ada inhibitor yang mirip dengan substrat, seperti kortikosteroid akan menghambat fosfolipase A₂ (Blackwell et al 1978).

4. Enzim Siklooksigenase (COX)

Enzim siklooksigenase (COX) merupakan enzim dwi-fungsi yang terikat pada membran yang berperan mengkatalisis dua tahap penting dalam pembentukan prostanoid, yaitu siklooksigenasi dan peroksidasi (**gambar 2**). Tahap siklooksigenasi merupakan tahap di mana COX melakukan proses siklisasi dan penambahan dua molekul oksigen terhadap asam arakidonat untuk membentuk prostaglandin G₂ (PGG₂). Sedangkan tahap peroksidasi merupakan tahap reduksi terhadap PGG₂ menjadi senyawa endoperoksida yang tidak stabil yang disebut prostaglandin H₂ (PGH₂). PGH₂ merupakan senyawa intermediet dalam biosintesis prostanoid-prostanoid aktif seperti PGE₂, PGF₂, PGD₂, PGD₂, PGI₂, dan tromboksan-A₂ (TXA₂) yang dilakukan oleh enzim sintase dan isomerase yang spesifik untuk setiap produk (Claria 2003).



Gambar 2. Jalur sintesis prostaglandin oleh enzim COX (Charlier dan Michaux, 2003).

Prostanoid-prostanooid yang dihasilkan melalui jalur COX tersebut mempunyai peran dalam mengatur berjalannya fungsi-fungsi fisiologis seperti perlindungan terhadap mukosa lambung, agregasi platelet, dan pengaturan fungsi ginjal. Selain itu prostanoid juga mempunyai fungsi patologi seperti saat terjadinya inflamasi, nyeri dan demam.

Siklooksigenase terdiri dari dua iso enzim yaitu, COX-1 dan COX-2. Isoenzim ini terdapat di ginjal, paru-paru, platelet dan saluran cerna sedangkan COX 2 tidak terdapat di jaringan, tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang. Prostaglandin merupakan mediator endogen untuk inflamasi yang dapat terbentuk dari asam arachidonat oleh enzim konstruktif COX-1 dan enzim *inducible* COX-2. (Dinata *et al.* 2014)

Enzim COX-1 merupakan enzim konstruktif yang dapat menjadi katalis dari pembentukan prostanoide regulatoris di berbagai jaringan. Enzim COX-2 bersifat tidak konstruktif namun diinduksi apabila terdapat stimulus inflamasi, mitogenesis, atau onkogenesis. (Dinata *et al.* 2014). Prostaglandin mempunyai efek utama pada empat tipe otot polos: vascular, saluran cerna, saluran nafas, dan organ reproduksi. Target lainnya mencakup trombosit, monosit, ginjal, sistem syaraf pusat, ujung syaraf presinaps otonom, ujung syaraf sensorik, organ endokrin, jaringan adiposa, dan mata (efeknya terhadap mata dapat melibatkan otot polos) (Katzung 2010).

Dua isozim COX yang unik mengubah asam arakhidonat menjadi endoperoksida prostaglandin. Sintase PGH-1 (COX-1) diekspresikan secara konstan pada kebanyakan sel tanpa adanya rangsangan dari luar. Sebaliknya, sintase PGH-2 dapat dirangsang; ekspresinya sangat bervariasi tergantung pada stimulus. COX-2 merupakan produk gen respon dini yang terangsang secara bermakna oleh shear stress, factor pertumbuhan, promotor tumor, dan sitokin. COX-1 menghasilkan prostanoide untuk penjagaan seperti sitoproteksi epitel lambung, sedangkan COX-2 merupakan sumber utama prostanoide pada inflamasi dan kanker (Katzung 2010).

Sikloksigenase akan diinduksi oleh stimulus ekstraseluler seperti growth factor, sitokin, dan lipopolisakarida. Sepanjang terpapar stimulan, fosfolipase A₂ sitoplasmik akan aktif dan mengkatalisis asam arakhidonat dari membran fosfolipid. Asam arakhidonat adalah hasil dari metabolisme dari oleh COX menjadi PGG₂ dan PGH₂. PGH₂ diubah menjadi prostaglandin seperti PGE₂, PGF₂ dan PGD₂ oleh prostaglandin sintetase (Kiraly 2016).

Sisi aktif COX tersusun atas kanal hidrofobik yang merupakan tempat berinteraksinya NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug). Sisi Aktif asam arakidonat berada pada sisi atas kanal, mulai dari Arg120 sampai Tyr385. Ser530 terletak ditengah kanal dan dapat mengasetilasi aspirin. Tiga asam amino yang berbeda menghasilkan ukuran sisi aktif yang lebih besar (sekitar 20%) dan lebih luas. Pertukaran valin pada posisi 523 di COX-2 relatif lebih besar dibandingkan isoleusin (Ile) pada COX-1 pada posisi yang sama, sehingga menyebabkan

perubahan struktur. Modifikasi pada enzim COX-2 menghasilkan kantung tambahan pada sisi aktif yang kemudian dijadikan persyaratan pada senyawa-senyawa selektif COX-2 dan tidak terdapat pada COX-1. Penukaran Ile434 menjadi valin pada COX-2 memungkinkan residu Phe518 untuk bebas dan meningkatkan akses ke kantung hidrofobik. Selain itu residu arginine juga menggantikan histidine di COX-1 yang dapat berinteraksi dengan bagian polar. Perbedaan antara sisi aktif COX memiliki implikasi terhadap profil selektivitas inhibitor.

B. Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat.

1. *Computer-aided Drug Design (CADD)*

Computer-aided drug design (CADD) adalah teknik-teknik yang digunakan untuk menemukan, merancang, dan mengoptimasi obat-obatan baru yang efektif dan aman dengan bantuan komputer. Dalam bidang biomedik, CADD digunakan untuk memilih senyawa penuntun, mengoptimasi profil absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi, dan toksitas, dan mengurangi masalah-masalah yang berkaitan dengan keamanan penggunaan obat (Rahman *et al.* 2013).

2. *Skrining Virtual*

Skrining virtual adalah suatu proses evaluasi terhadap kumpulan data senyawa yang menggunakan bantuan program komputer (Walters *et al.* 1998). Tujuan dari skrining virtual adalah untuk menemukan dan mengidentifikasi senyawa yang baru (*novel*) dan mempunyai aktivitas potensial terhadap target yang dituju. Oleh karena itu, salah satu keberhasilan skrining virtual ditunjukkan dengan ditemukannya senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik. *Hit rate* yang rendah yang terdiri atas senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang baru dan menarik lebih disukai daripada *hit rate* yang tinggi tetapi berisi senyawa-senyawa dengan kerangka struktur yang telah diketahui (Irwin2008).

3. *Docking* Molekuler

Docking molekuler adalah suatu metode kimia secara *in silico* yang sering muncul dalam desain dan penemuan obat. Sebuah upaya dalam pencarian senyawa dengan biaya rendah dan waktu yang lebih baik. Metode kimia komputasi terfokus kepada pengembangan obat yang cepat dan efisien secara *docking* molekuler untuk penggambarannya secara virtual. Metode *docking* molekuler dapat digunakan untuk melakukan skrining secara *in silico* (virtual) terhadap senyawa-senyawa yang diperkirakan memiliki afinitas tinggi terhadap suatu protein target sebelum senyawa tersebut disintesis dan diuji secara eksperimental di laboratorium, sehingga dapat mengurangi ketidakefisienan biaya, waktu, dan tenaga yang digunakan. Proses pencarian ligan yang cocok pada sisi aktif, baik secara geometrik, maupun dengan energi, secara komputasional (Leach *et al.* 2006; Setiajid 2012).

Metode *docking* molekuler digunakan dalam pencarian ruang energi yang dari konformasi protein-ligand dan menilai hasil geometris dengan melihat energi ikatannya (*energy binding*) (Bikadi & Hazai 2009). Metode *docking* secara garis besar digunakan untuk studi interaksi protein-ligan dan penemuan obat, serta pengembangannya. Secara khusus, proses dimulai dengan target yang diketahui strukturnya seperti struktur kristalografi dari suatu enzim dari obat yang diinginkan. *Docking* digunakan untuk memprediksi konformasi ikatan dan energi bebas ikatan dari molekul kecil pada target. Penelitian *docking* tunggal sangat berguna untuk mengeksplorasi fungsi dari target, screening virtual, sebagai penyusun senyawa yang di *docking* dan diurutkan, dan mungkin juga digunakan untuk identifikasi inhibitor baru dalam pengembangan obat (Forli *et al.* 2016).

Terdapat dua komponen penting di dalam setiap perangkat lunak *docking*, yaitu algoritma *docking* dan *scoring function*. Algoritma *docking* berfungsi untuk mengeksplorasi konformasi ruang dan ligan atau target protein, sedangkan *scoring function* berfungsi untuk mengevaluasi pose dengan memperhitungkan kekuatan afinitas antara ligan dengan protein dan kemudian mengarahkan eksplorasi pose ligan kepada pose yang memiliki afinitas lebih kuat (Moitessier *et al.* 2008).

4. Prediksi ADMET

Prediksi ADMET adalah suatu prediksi memungkinkan untuk menghitung sifat fisikokimia serta untuk memprediksi parameter ADME, sifat farmakokinetik, sifat obat dan keamanan senyawa kimia obat dari satu atau beberapa molekul kecil untuk mendukung penemuan obat (Daina *et al.* 2017).

Sebagian besar senyawa kimia mulai dari bentuk metabolit hingga menimbulkan respon molekuler akan menunjukkan bioaktivitas yang berbeda dalam organisme hidup yang berbeda. Aktivitas ini sering dimediasi oleh interaksi fisik dengan protein atau makromolekul lainnya. Oleh karena itu, informasi tentang target molekuler dari senyawa obat sangat penting untuk dipahami dan diprediksi aktivitasnya. Secara khusus, dapat digunakan untuk memprediksi efek samping yang tidak menguntungkan karena interaksi di luar target sehingga berpotensi menurunkan fase uji klinis akibat toksisitas dan untuk memprediksi target baru untuk obat yang disetujui dan memposisikannya untuk penyakit lain (Gfeller *et al.* 2013).

C. Aktivitas Antiinflamasi Flavonoid dan Steroid.

Metabolit sekunder adalah senyawa dengan bobot molekul rendah yang tidak ada hubungannya dengan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan akan tetapi memiliki peran penting terhadap interaksinya dengan lingkungan sekitarnya. Metabolit sekunder ditemukan muncul pada berbagai macam tumbuhan pada bagian tertentu (daun, akar, batang, dan tunas), pada tingkat pertumbuhan mulai dari bentuk biji hingga pohon dewasa, dibawah tekanan lingkungan yang berbeda-beda (serangan mikroba dan herbivora), dalam berbagai spesies dari berbagai kelas tumbuhan. Metabolit sekunder ditemukan pada suatu organisme tertentu yang tidak selalu tersedia dalam segala kondisi, dan banyak di antaranya belum diketahui keuntungan terhadap organisme tersebut. Beberapa tumbuhan memiliki alasan tertentu dalam memproduksi metabolit sekunder misalnya produksi racun untuk mempertahankan diri, senyawa volatil untuk menarik serangga, atau menghasilkan warna yang menarik atau memberi peringatan spesies lainnya (Dewick 2009).

Bahan alam dengan aktivitas anti inflamasi telah lama digunakan untuk mengobati kondisi inflamasi seperti demam, luka, migren, dan artitis. Badan nutrisi Inggris mengkategorikan produk metabolit sekunder yang dapat digunakan seperti terpenoid, flavonoid, senyawa fenolik, dan senyawa mengandung belerang (Yuan *et al.* 2006)

1. Kurkuminoid

Kurkuminoid adalah senyawa alam yang berasal rhizome turmerik (*Curcuma longa*) dan merupakan salah satu agen anti kanker dan anti inflamasi terkuat. Curcumin dapat bermanfaat secara luas untuk efek farmakologis seperti anti-inflamasi, anti kanker, antioksidan, dan anti bakteri. Curcumin juga diketahui sebagai kemopreventif tumor dari kolon, lambung dan kulit dengan menghambat COX, PLA2 dan PLCr-1 (Singh & Khar 2006).

Curcumin pernah diuji Aktivitas anti inflamasinya dengan pembandingan fenilbutazon (Satoskar *et al.* 1986; Yuan *et al.* 2006). Aktivitas utama saat terjadi antiinflamasi adalah curcumin menghambat metabolisme asam arakhidonat, siklo oksigenase, lipoksigenase, sitokin interleukin, *tumor necrosis factor* (TNF) dan Nuclear factor kappa B (NF-kB) (Yuan *et al.* 2006).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzene yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier ang terdiri dari tiga atom karbon. Sehingga senyawa-senyawa flavonoid memiliki struktur dasar 1,3 diarilpropana (Manitto 1981). Flavonoid adalah metabolit sekunder yang diproduksi melalui jalur sikimat dan malonate (Markham 1989)

Senyawa-senyawa flavonoid biasanya terdapat dalam sel-sel jaringan dalam bunga. Banyaknya macam warna dan shade ada dalam bunga terutama disebabkan oleh senyawa-senyawa flavonoid, terutama antosianin yang merupakan pigmen penyusun tumbuhan yang paling penting setelah klorofil dan karotena (Manitto 1981). Kerangka dasar flavonoid selalu dikarakteristikan oleh kerangka karbon C₆-C₃-C₆.

Flavonoid memiliki kecenderungan sebagai inhibitor COX atau LOX. Flavonoid dapat mencegah sintesis prostaglandin yang menekan sel T. Sistem imun berkomunikasi dengan rangsangan kimia yang disebut sitokinin yang dikendalikan oleh flavonoid. Flavonoid menghambat aktivitas Proteinkinase-C (PKC) pada *ATP-binding site* dan juga memacu sintesis IFN. Beberapa macam flavonoid (kuercetin, apigenin, katekin pada teh) memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat COX-2 dan menginduksi Nitrit oksida sintase yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Hesperidin dari tanaman jeruk telah diketahui memiliki efek anti inflamasi dan analgesic. kamferol, myricetin, fisetin, apigenin, luteolin, dan kuersetin diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi. (Tholl 2015)

2.1 Rutin dan Kuersetin. Rutin adalah suatu flavonoid yang diketahui memiliki beberapa macam Aktivitas biologis sebagai anti alergi anti inflamasi, anti proferasi, hingga anti kanker. Rutin terdapat pada tumbuhan daun ketela pohon (*Manihot utillissima* Pohl.) dengan flavonoid yang teridentifikasi kuersetin 3-rhamnosilglukosida (Subramanian *et.al* 1971). Sebagian besar flavonoid terdiri dari O-glikosida adalah senyawa polifenol yang secara alami keberadaannya di dalam buah dan sayuran. Asupan terbesar rata-rata 1 gram per hari. Meskipun flavonoid mempunyai nilai gizi yang tidak terlalu banyak dalam makanan, senyawa ini dapat meningkatkan daya tahan tubuh terhadap penyakit seperti jantung coroner, kanker, dan penyakit pembengkakan usus. Rutin bertindak sebagai penghantar Kuersetin ke usus besar. Selain itu, Kuersetin secara ekstensif dimetabolisme di usus besar yang berarti Kuersetin dilepaskan dari rutin di saat metabolismenya dikolon (Kim *et al.* 2009).

Rutin sebagai anti inflamasi akan melalui mekanisme molekuler mirip dengan efek terapeutik dari Kuersetin yang menghambat aktivasi *Tumor Necrosis Factor-Alpha* (TNF-Alpha) yang diinduksi *Nuclear factor kappa B* (NFkB). Aktivitas tersebut memiliki peran dalam produksi mediator proinflamasi yang terlibat dalam perkembangan inflamasi usus (Kim *et al.* 2009). Kuersetin juga merupakan inhibitor selektif lipoksigenase (Laughton 1991).

2.2 Hesperidin. Hesperidin adalah adalah suatu glikosida golongan flavonoid yang termasuk metabolit sekunder di dalam tumbuhan jeruk. Hesperidin ditemukan pertama kali oleh Le Breton (1827) namun belum dalam keadaan murni dalam buah jeruk. Pada kondisi mentah terdapat sekitar 14% dari berat segarnya. Bioflavonoid ini disebut juga vitamin P yang diketahui memiliki peran dalam memperbaiki membran dan meningkatkan permeabilitas dan integritas jalur kapiler. Hesperidin dapat digunakan dalam penyembuhan luka akibat pendarahan hebat, kaku otot, dan membantu mengurangi luka edema atau bengkak akibat akumulasi cairan (Garg A *et al.* 2001).

2.3 Diosmin. Diosmin adalah suatu glikosida flavonoid yang terdapat dalam *teucrium gnaphalodes*. Diosmin memiliki struktur flavon utama dan aglikonnya adalah suatu diosmetin (Barberan 1985). Diosmin (Diosmetin 7-O-Rutinosida) merupakan suatu flavon alami yang didapat terdehidrogenasi glikosida dari flavon hesperidin, terdapat melimpah di kulit jeruk (Dholakiya 2011). Flavonoid jenis ini memiliki aktivitas biologis termasuk sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Jean & Bodinier 1994; Guillot *et al.* 1998; Dholakiya 2011). Diosmin memiliki efek anti inflamasi pada tikus yang diinduksi asam trinitrobenzena sulfonate (Cresspo *et al.* 1999; Dholakiya 2011). Diosmetin juga dapat menghambat secara signifikan ekspresi COX-2 pada lipopolisakarida yang distimulasi makrofag (Dominguez *et al.* 2010).

2.4 Luteolin. Luteolin menghambat Prostaglandin E₂ (PGE₂) dan serum immunoglobulin E (Jin M *et al.* 2009). Salah satu senyawa yang bertanggung jawab dalam aktivitas antiinflamasi adalah luteolin melalui penghambatan fosfolipase A₂, siklooksigenase, dan lipooksigenase (Kim *et al.* 2004; Cahyani 2012). Penelitian ini diperkuat oleh penelitian (Dominguez *et al.* 2010) bahwa Luteolin, dan diosmetin menghambat ekspresi COX-2 dalam lipopolisakarida yang distimulasi makrofag. Secara alami flavon seperti luteolin memiliki beberapa kelebihan secara biologis, akan tetapi keberadaannya sangat sedikit di alam (Singh 2014).

Senyawa-senyawa flavonoid yang termasuk kedalam biflavon memiliki potensi besar dalam penghambatan fosfolipase A₂. Beberapa biflavon seperti

amentoflavon dan morelloflavon, serta flavon-flavon dimer juga baik dalam penghambatan PLA₂ (Singh 2014). (Takano-ishikawa et. al 2006) menunjukkan bahwa flavon yang paling efektif sebagai agen anti inflamasi adalah flavonon, flavonol yang terdapat rangkap C2=C3 dan 4-oxo gugus fungsi pada yang berpengaruh terhadap penghambatan inflamasi. Flavon juga menunjukkan adanya efek penghambatan terhadap COX-2, prostaglandin utama saat terjadinya inflamasi (Singh 2014).

2.5 Apigenin dan Apigetrin. Apigenin adalah senyawa yang terdapat meruah di tanaman seperti anggur, bawang, teh, jeruk, kamelia, dan tanaman lainnya yang digunakan sebagai penguat rasa. Salah satu sumber utama apigenin yang sering dikonsumsi pada bunga kamelia dari ekstrak kering *Matricaria chamomilla*. Herbal ini digunakan pada daerah eropa dan asia barat yang diambil dari daerah Australia, Inggris, dan Amerika. Infus kamelia mengandung konsentrasi apigenin tertinggi antara 0.8-1.2% dan minyak esensial yang sebagai penambah aroma, rasa dan warna. Apigenin juga di temukan pada minuman *wine* dari anggur merah. Sumber alami, apigenin dalam bentuk glikosida (Apigenin-7-O-Glikosida) dan turunan asil lainnya. Apigetrin merupakan suatu glikosida flavonoid dari aglikon apigenin yang terdapat dalam tanaman seledri (*Apium graveolens* .L). Apigenin merupakan salah satu tanaman yang terdapat dalam seledri dan dapat digunakan sebagai obat asam urat (Duke 1999; Zamri 2008). Apigenin merupakan komponen utama dari seledri yang termasuk kedalam flavon (Harborne 1986).

Aktivitas antiinflamasi apigenin dalam beberapa penelitian menunjukkan adanya penekanan aktivitas LPS-terinduksi COX-2 dan Nitric Oxide Synthase-2 dan ekspresi pada makrofag tikus. Analisa hubungan struktur-aktivitas dari 45 flavon, flavonoid dan senyawa serupa menunjukkan, luteolin, ayanin, apigenin, dan fisetin merupakan inhibitor terkuat untuk menekan produksi IL-4. Selain itu, apigenin juga menginduksi *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) yang diinduksi aktivasi *nuclear factor kappa-B* (NF)- κ B pada sel endotel. (Shukla & Gupta 2010)

3. Steroid

Steroid adalah senyawa organik dengan empat cincin yang bergabung membentuk konfigurasi molekuler tertentu (Lednicer 2011). Steroid secara alami memiliki dua fungsi dasar seperti kolesterol yang membentuk komponen membran sel dan memberikan respon rangsangan untuk mengaktifkan reseptor hormon tertentu.

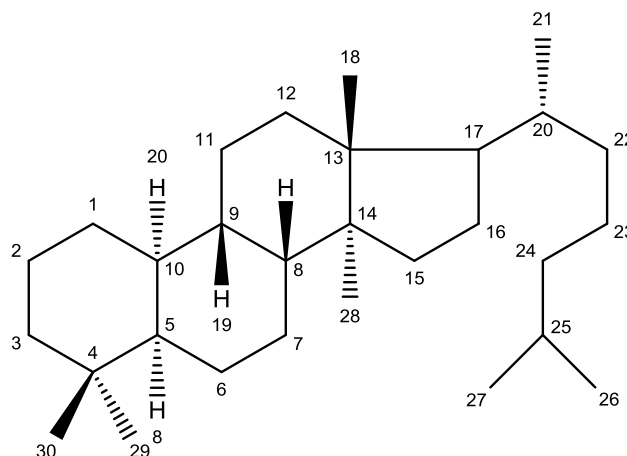
Inti steroid tersusun atas 17 atom karbon yang membentuk 4 kerangka cincin yang terdiri dari tiga kerangka sikloheksan (Cincin A, B, dan C) dan satu kerangka siklopentan (Cincin D). Pada umumnya, kerangka dasar senyawa steroid terdiri dari empat cincin dan terdapat oksidasi pada posisi 3 dan merupakan turunan kolestana. (Moss 1989; Hill *et al.* 1991)

Sterol alami mempunyai kerangka kolestana, argostana, atau stigmastana. Senyawa ini biasanya mempunyai gugus hidroksil pada kedudukan 3 dan suatu ikatan rangkap pada kedudukan C nomer 5 ke 6. Berdasarkan asal-usulnya, mereka disebut zoosterol (dari hewan, terutama vertebrata). Fitosterol (dari tumbuhan), mikosterol (dari fungi) dan marinosterol (dari invertebrate, organisme lautan, terutama spons). Kolesterol merupakan zoosterol khas, dan dapat ditemukan di jaringan tumbuhan dalam jumlah 0,05 sampai 5%. Senyawa tersebut terdapat dalam jumlah besar pada otak manusia yang 17% berupa zat padat, dan juga merupakan kandungan utama dari batu empedu (Manitto 1981). Kolesterol dan senyawa-senyawa fitosterol dapat mengalami berbagai transformasi struktur dalam tumbuhan. Senyawa hasil transformasi tersebut dapat digolongkan menjadi dua keluarga glikosida kardiotonika dan saponin steroid. (Manitto 1981). Mekanisme Kerja dari senyawa ini adalah menghambat sintesis Prostaglandin dengan cara berikatan dengan fosfolipase A₂ (PLA₂) secara kompetitif sehingga mediator inflamasi tidak terbentuk. Berkurangnya asam arachidonat juga akan mengurangi substrat untuk enzim lainnya pada jalur asam arakhidonat yaitu 5-lipoksigenase (Substrat yang tidak dihambat oleh *Non-Steroid Anti Inflammation Drugs*) (Gringauz 1997).

Docking molekuler adalah suatu metode kimia secara *in silico* yang sering muncul dalam desain dan penemuan obat. Sebuah upaya dalam pencarian senyawa dengan biaya rendah dan waktu yang lebih baik. Metode kimia

komputasi terfokus kepada pengembangan obat yang cepat dan efisien secara *docking* molekuler untuk penggambarannya secara virtual.

3.1 Cucurbitacins.



Gambar 3. Struktur dasar cucurbitacins

Cucurbitacin adalah suatu isolat murni yang didapat dari tanaman genus Cucurbitaceae. Kelompok cucurbitacin adalah senyawa-senyawa triterpen dengan karakteristik kerangka inti cucurbitan adalah 19-(10→9 β)-abeo-10 α -lanost-5-ene (**gambar 3**). Berdasarkan dari pembagian golongan yang memiliki efek anti inflamasi hanya cucurbitacin B, D, E, I, dihydro cucurbitacin B, dan cucurbitacin R. Pengujian secara *in vitro* menunjukkan cucurbitacin B memiliki aktivitas anti inflamasi (Peter *et al.* 1999; Yuan 2006). Pengujian terhadap dehydrocucurbitacin B dan cucurbitacin R menunjukkan bahwa kombinasi keduanya dapat menghambat oedema pada telapak kaki tikus yang diinduksi karagenan, fosfolipase A₂ (PLA₂) dan serotonin. Penelitian tentang antiinflamasi terhadap Cucurbitacin dari *Wilbrandia ebracteata* menunjukkan aktivitas penghambatan produksi prostaglandin E₂ (PGE₂) (Peter *et al.* 1999; Yuan 2005).

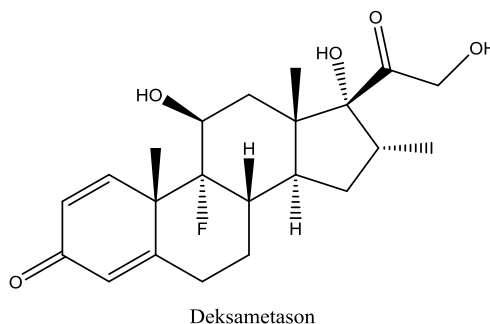
3.2 Glikosida Cucurbitacins. Glikosida steroid (saponin) tersusun dari suatu aglikon steroid (sapogenin), yang terikat pada suatu oligosakarida tersebut terikat pada C-3 orientasi β . Oligosakarida tersebut biasanya adalah heksosa dan pentosa, misalnya D-glukosa, D-silosa, dan lain sebagainya sebanyak 2 hingga 6. Senyawa saponin berkelakuan seperti sabun, dan larutan dalam airnya mudah membentuk buih. Akibat dari sifat ini dan sifat hemolitik yang sangat toksik terhadap hewan bila masuk langsung ke dalam darah sedangkan apabila melalui

pencernaan tidak beracun. Nilai ekonomi dari saponin steroid terletak pada penggunaan senyawa tersebut sebagai bahan dasar industri pada produksi hormon seks, kortikosteroid dan turunan steroid pada umumnya. Sumber utama saponin adalah dari tumbuhan tinggi, terutama dari familia Liliaceae, Solanaceae dan Scrophilariaceae (Manitto 1981).

Isolasi terhadap dua belas cucurbitacin dari akar *Bryonia dioica* yang enam diantaranya menunjukkan aktivitas anti-inflamasi pada 12-O-tetradecanoylphorbol 13-Acetate (TPA) yang menginduksi edema padar telinga tikus dengan rentang ID_{50} dari 0,2-0,7 mg/telinga (Ukiya *et al.* 2002). Senyawa yang paling berpotensi menghambat edema adalah bryonisides B, E, dan G dengan kemampuan menghambat masing-masing 94%, 94%, 90% dengan nilai ID_{50} 0,2 mg/telinga. Beberapa peneliti menghubungkan aktivitas anti-inflamasi cucurbitacin dengan mekanisme seperti glukokortikoid. (Panossian *et al.* 1997) menunjukkan aktivitas adaptogenik pada uji praklinis dan klinis dari *bryonia alba*, yang diduga memiliki aktivitas farmakologis mirip dengan aktivitas dari senyawa aktif yang disebut cucurbitacin R-diglukosida, yang memodifikasi metabolisme eikosanoid dan umumnya meningkatkan sekresi kelenjar kortikoid. Hasil serupa yang ditunjukkan oleh (Witkowski *et al.* 1984) dimana cucurbitasin tidak memediasi reseptor glukokortikoid (Rios *et al.* 2005). Selain senyawa tersebut, picfelterraenin VI memiliki potensi sebagai inhibitor pada mekanisme ini. Kemiripan substitusi dengan aktivitas belum diteliti lebih lanjut, tetapi secara keseluruhan menunjukkan adanya peningkatan pada aktivitasnya (Huang *et al.* 1998; Rios *et al.* 2005).

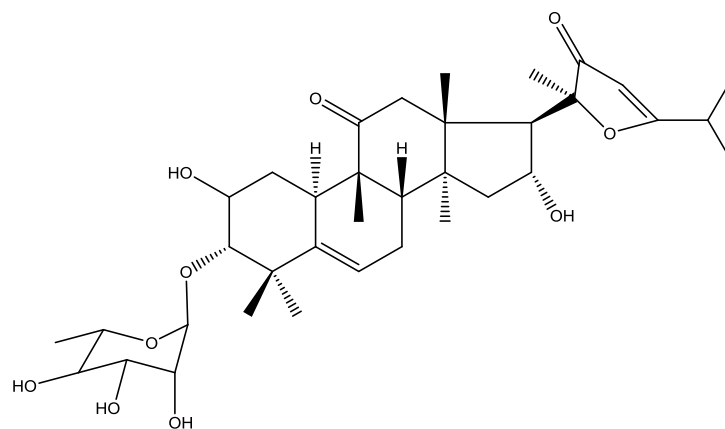
4. Pengelompokan Senyawa Uji

4.1 Senyawa Pembanding Positif PLA_2 .

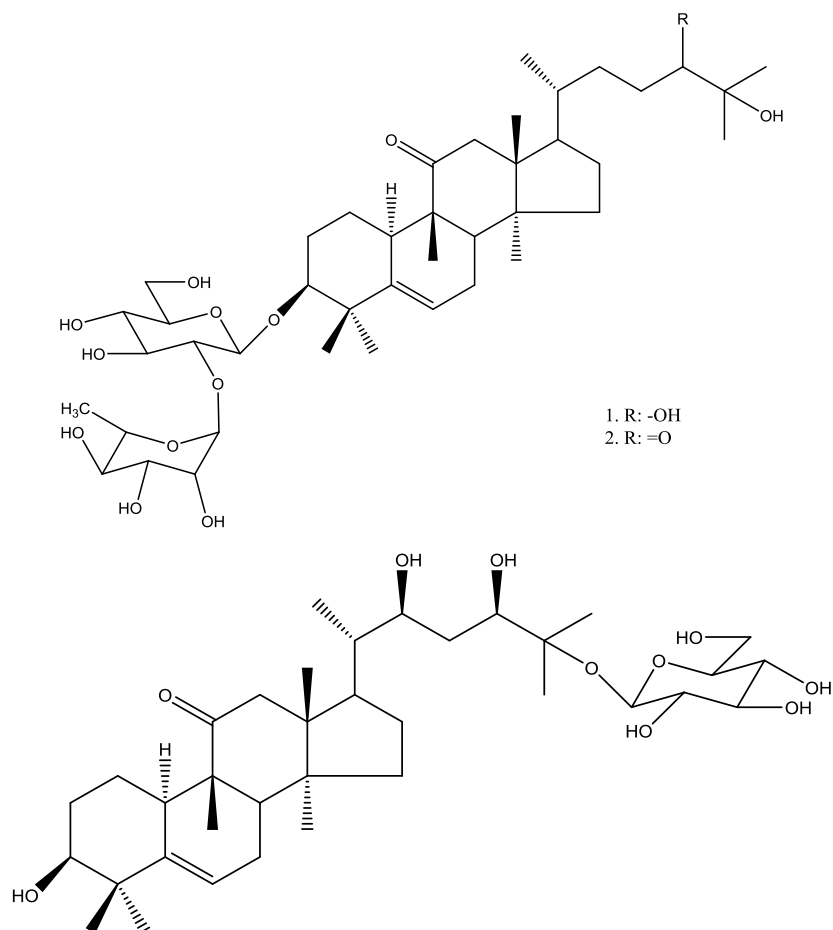


Gambar 4. Senyawa pembanding positif PLA_2 .

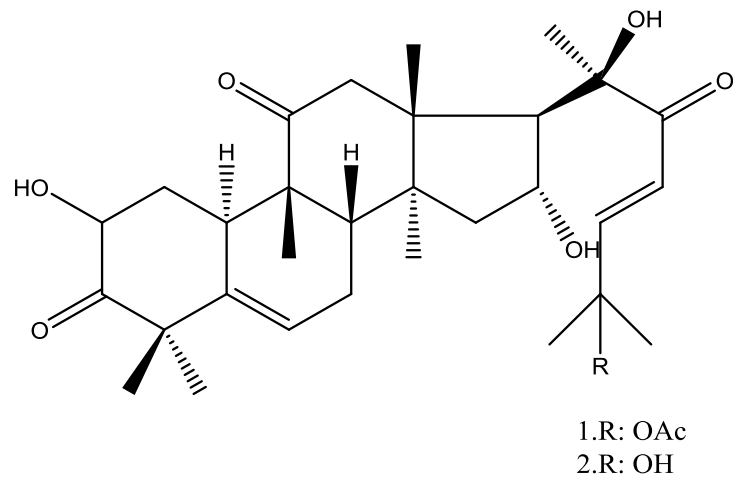
4.2 Steroid dan Turunannya



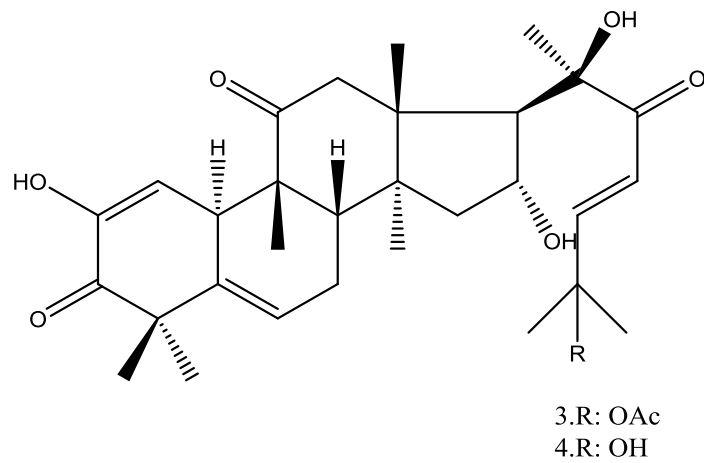
Gambar 5. Struktur senyawa picfelterraenin VI



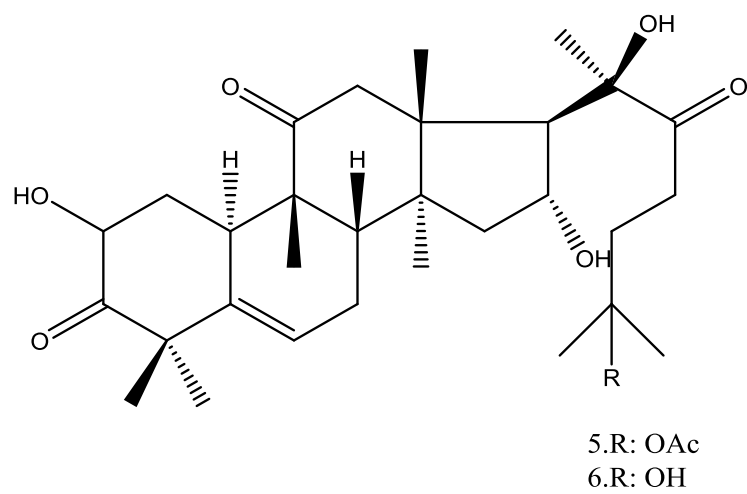
Gambar 6. Struktur senyawa bryonisides B (1), G (2), dan E (3).



Gambar 7 Struktur umum Cucurbitacins B (1) dan cucurbitacin D (2)

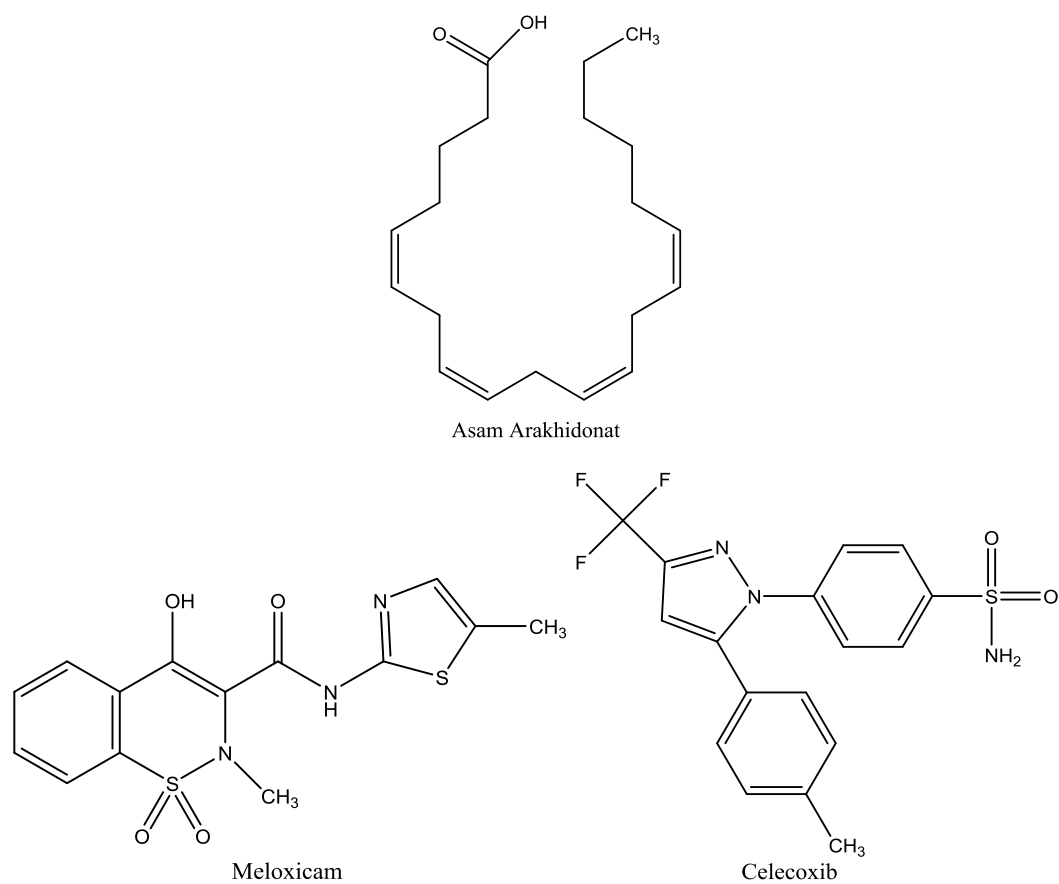


Gambar 8. Struktur umum Cucurbitacins E (3) dan cucurbitacin I (4)



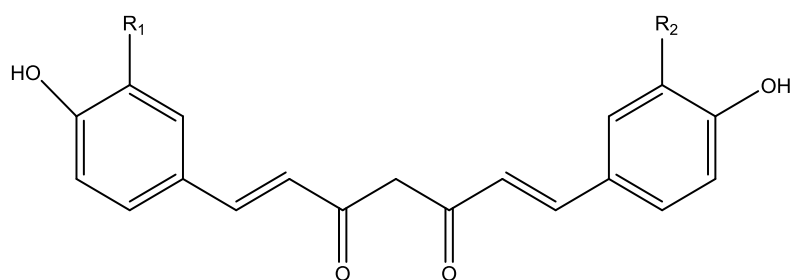
Gambar 9. Struktur umum dihidrocucurbitacins B (3) dan cucurbitacin R(4)

4.3 Senyawa Pembanding Siklo Oksigenase-2 (COX-1 & COX-2)



Gambar 10. Senyawa pembanding positif COX-1 dan COX-2

4.4 Curcumin dan turunannya.

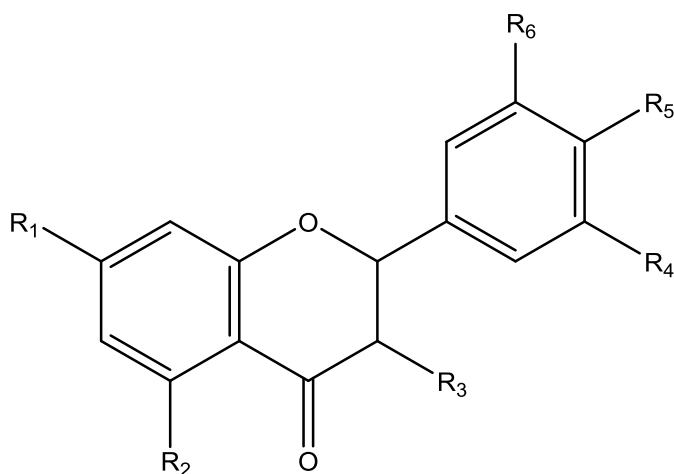


Gambar 11. Struktur umum kurkuminoid

Tabel 1. Struktur kurkuminoid

No	Nama	R ₁	R ₂
1	Curcumin	-OCH ₃	-OCH ₃
2	Desmetoksicurcumin	-OCH ₃	-H
3	Bisdesmetoksicurcumin	-H	-H

4.5 Flavonoid dan turunannya.



Gambar 12. Struktur flavonoid

Tabel 2 Struktur Flavonoid

No	Nama	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
1	Rutin	OH	OH	O-Rutinoside	OH	OH	H
2	Kuersetin	OH	OH	OH	OH	OH	H
3	Hesperidin	OH	OH	H	H	OCH ₃	OH
4	Diosmin	O-Rutinoside	OH	H	H	OCH ₃	OH
5	Diosmetin	OH	OH	H	H	OCH ₃	OH
6	Apigenin	OH	OH	H	H	OH	H
7	Apigetrin	O-Glucoside	OH	H	H	OH	H
8	Luteolin	OH	OH	H	H	OH	OH

D. Landasan Teori

Fosfolipase (PL) adalah sekelompok enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisiskan suatu substrat yang berupa fosfolipid. Fosfolipase memiliki bermacam-macam fungsi pada sisi aktifnya. Masing-masing berbeda fungsi dan cara kerjanya, serta mereka juga yang meregulasi. Sejauh ini fungsi seluler dari jenis fosfolipase tersebut telah diperiksa menggunakan bermacam-macam teknik molekuler termasuk didalamnya penyisipan gen, *gen knockouts*, dan strategi antisense. Mekanisme ini akan terhambat aktivitasnya apabila ada inhibitor yang mirip dengan substrat, seperti kortikosteroid akan menghambat fosfolipase A₂ (Blackwell et al 1978).

Enzim siklooksigenase (COX) merupakan enzim dwi-fungsi yang terikat pada membran yang berperan mengkatalisis dua tahap penting dalam

pembentukan prostanoid, yaitu siklooksigenasi dan peroksidasi. COX-2 merupakan sumber utama prostanoid pada inflamasi dan kanker (Katzung 2010). Siklooksigenase akan diinduksi oleh stimulus ekstraseluler seperti growth factor, sitokin, dan lipopolisakarida. Sepanjang terpapar stimulan, fosfolipase A₂ sitoplasmik akan aktif dan mengkatalisis asam arakhidonat dari membran fosfolipid. Asam arakhidonat adalah hasil dari metabolisme dari oleh COX menjadi PGG₂ dan PGH₂. PGH₂ diubah menjadi prostaglandin seperti PGE₂, PGF₂ dan PGD₂ oleh prostaglandin sintetase (Kiraly 2016).

Flavonoid memiliki kecenderungan sebagai inhibitor COX atau LOX. Flavonoid dapat mencegah sintesis prostaglandin yang menekan sel T. Sistem imun berkomunikasi dengan rangsangan kimia yang disebut sitokinin yang dikendalikan oleh flavonoid. Flavonoid menghambat aktivitas Proteinkinase-C (PKC) pada *ATP-binding site* dan juga memacu sintesis IFN. Beberapa macam flavonoid (kuercetin, apigenin, katekin pada teh) memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat COX-2 dan menginduksi Nitrit oksida sintase yang berhubungan dengan aktivitas antioksidan.

Steroid adalah senyawa organik dengan empat cincin yang bergabung membentuk konfigurasi molekuler tertentu (Lednicer 2011). Steroid secara alami memiliki dua fungsi dasar seperti kolesterol yang membentuk komponen membran sel dan memberikan respon rangsangan untuk mengaktifkan reseptor hormon tertentu. Mekanisme kerja dari senyawa ini adalah menghambat sintesis prostaglandin dengan cara berikatan dengan fosfolipase A₂ (PLA₂) secara kompetitif sehingga mediator inflamasi tidak terbentuk. Berkurangnya asam arachidonat juga akan mengurangi substrat untuk enzim lainnya pada jalur asam arakhidonat yaitu 5-lipoksigenase (Substrat yang tidak dihambat oleh *Non-Steroid Anti Inflammation Drugs*) (Gringauz 1997). Berdasarkan dari pembagian golongan yang memiliki efek anti inflamasi hanya cucurbitacin B, D, E, I, dihydro cucurbitacin B dan cucurbitacin R. pengujian secara *in vitro* menunjukkan cucurbitacin B memiliki aktivitas anti inflamasi (Peter *et al.* 1999; Yuan 2006)

Metode *docking* molekuler digunakan dalam pencarian ruang energi yang dari konformasi protein-ligand dan menilai hasil geometris dengan melihat energi

ikatannya (*Energy binding*). (Bikadi & Hazai 2009). Metode *docking* secara garis besar digunakan untuk studi interaksi protein-ligan dan penemuan obat, serta pengembangannya. Secara khusus, proses dimulai dengan target yang diketahui strukturnya seperti struktur kristalografi dari suatu enzim dari obat yang diinginkan. *Docking* digunakan untuk memprediksi konformasi ikatan dan energi bebas ikatan dari molekul kecil pada target. Penelitian *docking* tunggal sangat berguna untuk mengeksplorasi fungsi dari target, screening virtual, sebagai penyusun senyawa yang di *docking* dan diurutkan, dan mungkin juga digunakan untuk identifikasi inhibitor baru dalam pengembangan obat (Forli *et al.* 2016).

Prediksi ADMET adalah suatu prediksi memungkinkan untuk menghitung sifat fisikokimia serta untuk memprediksi parameter ADME, sifat farmakokinetik, sifat obat dan keamanan senyawa kimia obat dari satu atau beberapa molekul kecil untuk mendukung penemuan obat (Daina *et al.* 2017).

E. Hipotesis

1. Interaksi antara senyawa flavonoid dan steroid dengan makromolekul target anti-inflamasi dapat menggunakan analisis *docking* molekuler.
2. Senyawa-senyawa flavonoid dan steroid dapat diprediksi mempunyai aktivitas penghambatan terhadap PLA₂ dan COX menggunakan analisis *docking* molekuler.
3. Prediksi profil ADME dapat memprediksi sifat farmakokinetik, sifat obat dan keamanan senyawa kimia dari senyawa flavonoid dan steroid yang memiliki potensi sebagai anti inflamasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian adalah metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap enzim PLA₂, COX-1 dan COX-2 (Yuan *et al.* 2006).

Sampel dalam penelitian adalah metabolit sekunder terpilih yaitu sembilan senyawa golongan flavonoid dan duabelas senyawa golongan steroid antiinflamasi terhadap enzim PLA₂, COX-1 dan COX-2

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah senyawa flavonoid dan steroid yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Variabel utama kedua pada penelitian ini adalah makromolekul dari PLA₂, COX-1, dan COX-2. Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah perangkat lunak yang digunakan untuk preparasi protein dan ligan, serta analisis hasil kualitatif dan kuantitatif *docking* molekuler.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa flavonoid dan steroid yang diyakini memiliki aktivitas anti inflamasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung yang digunakan dalam penelitian ini adalah nilai energi ikatan (*energy binding*) yang semakin mendekati minus dan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang menyatakan perbedaan antara dua struktur

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu

ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkendali yang digunakan pada penelitian ini adalah jenis makromolekul, metode kristalografi, nilai resolusi, ligan asli, mutasi.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama adalah pencarian makromolekul dengan memperhatikan syarat protein yang ideal untuk diuji, seperti jenis makromolekul, metode kristalografi, nilai resolusi, ligan asli, mutasi.

Kedua adalah senyawa target dipreparasi dan diminimisasi untuk memperoleh konformasi yang paling stabil. Optimasi dilakukan untuk menghasilkan energi molekul terendah

Ketiga adalah validasi metode dan perangkat yang akan digunakan dengan menambatkan ulang ligan asli dengan protein yang telah dipreparasi. Hasil dikatakan valid apabila bentuk ligan asli dan ligan hasil docking berdekatan atau nilai RMS < 3.

Keempat adalah senyawa diujikan ke protein target dengan mengatur ruang sisi aktif protein. Ruang yang terlalu rapat akan menyulitkan ligan untuk berkonformasi, sementara bila ruang terlalu luas ikatan kemungkinan yang terjadi tidak sesuai

Kelima adalah nilai *binding energy* yang digunakan adalah yang memperoleh nilai semakin minus, apabila terdapat nilai minus maka kekuatan ikatan senyawa dengan sisi aktif dapat dipastikan terjadi.

Keenam adalah visualisasi ikatan antara protein target dengan senyawa yang diujikan secara dua dimensi dan tiga dimensi. Jumlah ikatan yang terjadi di sekitar sisi aktif akan menentukan selektivitas senyawa yang diujikan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1 Perangkat Keras (*Hardware*).

Perangkat keras yang digunakan adalah berupa komputer notebook Zyrex model Cruiser EM4100 dengan spesifikasi Processor Intel(R) Core I3-4030U

CPU @1.90 GHz, RAM 2 Giga Byte (1.89 Giga Byte terpakai), Hardisk 500 Giga Byte, Kartu Grafis Intel ® HD Graphic Family 778 Mega Byte.

1.2 Perangkat Lunak (Software).

Perangkat lunak yang digunakan adalah UCSF Chimera 1.11.2 (*Resource for Biocomputing, Visualization, and Informating*, University of California San Fransisco, Amerika), PyRx 0.8 (Sargis Dallakyan, *The Scripps Research Institute*, Amerika), AutoDock 4.0 (*The Scripps Research Institute*, Amerika), Discovery Studio Visualizer v16.1.0.15350 (Dassault Systems Biovia Corp 2015). PyMOL versi 1.3.

2. Bahan

2.1 Struktur Tiga Dimensi PLA2 COX-1 dan COX-2.

Struktur tiga dimensi PLA2 yang diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 2ARM (Singh *et al.* 2008) yang berasal dari organisme *Daboia russelii*.

Struktur tiga dimensi COX-1 yang diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 2AYL (Gupta *et.al* 2006) yang berasal dari organisme *Ovis aries*.

Struktur tiga dimensi COX-2 yang diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 5-KIR (Orlando & Malkowski 2016) yang berasal dari organisme *Homo Sapiens*.

2.4 Struktur Tiga Dimensi Ligan Target

Desain struktur tiga dimensi ligan target menggunakan aplikasi online yaitu i-Lab (<http://ilab.acdlabs.com>) dengan struktur yang dapat dilihat pada (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Senyawa yang akan diuji flavonoid yaitu Rutin, Kuersetin, Hesperidin, Diosmin, Diosmetin, Apigenin, Apigetrin, Luteolin, Curcumin, Desmethoxycurcumin, Bisdesmethoxycurcumin, bryonisides B, bryonisides E, bryonisides G, cucurbitacin B, cucurbitacin D, cucurbitacin E, cucurbitacin I, dihydro cucurbitacin B cucurbitacin R dan picfelterraenin VI

D. Cara kerja *Docking* Molekuler

1. Pengunduhan Makromolekul PLA₂

Makromolekul PLA₂ diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 2ARM (Singh 2005) dalam format .pdb

Makromolekul COX-1 diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 2OYE (Gupta et.al 2006) dalam format .pdb.

Makromolekul COX-2 diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan identitas 5KIR (Orlando & Malkowski 2016) dalam format .pdb.

2. Pembuatan Struktur Tiga Dimensi Ligan uji.

Struktur dua dimensi 22 senyawa ligan uji di buat menggunakan aplikasi online berbasis website dengan alamat <http://molview.org>, kemudian diunduh dalam format .mol dengan cara klik tool, klik MOL File, kemudian file akan terunduh secara otomatis. Struktur tiga dimensi menggunakan VegaZZ (Freeware) dan di optimasi dengan langkah Klik Calculate, pilih Ammp, Klik minimization, kemudian disimpan klik save as (nama ligan) format .mol

3. Pemisahan Rantai Makromolekul.

Pemisahan Struktur makromolekul dengan ligan menggunakan software UCSF Chimera, dengan langkah; open icon UCSF Chimera, klik file kemudian open, cari folder tempat file makromolekul yang ingin dipisahkan (misalnya C:\User\All User\Desktop\Protein Target\Cox-1), kemudian akan muncul tampilan tiga dimensi struktur protein target kemudian di pisahkan rantai yang di inginkan untuk diuji dengan cara klik Select, klik chain, klik rantai yang diinginkan misalnya A maka akan ada tanda warna pada rantai A kemudian klik kembali Select lalu klik invert (all model) kemudian dihilangkan dengan cara klik Action, lalu klik Atom/Bonds kemudian klik delete. begitu juga dengan ligan dan residu yang tidak diperlukan (Klik Select, klik Residue (Residu yang akan dihilangkan sesuai dengan kode informasi pada data RCSB PDB).

4. Optimasi geometri struktur senyawa uji

Struktur dua dimensi senyawa-senyawa yang akan ditambatkan dibuka melalui program VegaZZ dan ditampilkan dalam bentuk tiga dimensinya lalu ditambahkan atom hidrogen. Senyawa diperbaiki muatannya dengan

menambahkan muatan parsial *gasteiger charges* lalu diberi *forcefield autodock*. Senyawa diminimisasi sebanyak 3000 langkah untuk memperoleh konformasi yang paling stabil. Optimasi dilakukan untuk menghasilkan energi molekul terendah. Masing-masing senyawa yang telah dioptimasi disimpan dalam format .mol.

5. Proses *Docking* Molekuler

Proses *docking* molekuler menggunakan PyRx 0.8 yang menggunakan sistem Autodock Vina, AutoDock 4.0 (AD4.0) dan AutoDock Tools (ADT). Struktur makromolekul dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu folder yang sama. Untuk *Docking* molekuler menggunakan Pyrx 0.8 terlebih dahulu dengan tahapan sebagai berikut: Dibuka Aplikasi PyRx 0.8 kemudian Load Molecule pada Folder tempat menyimpan. Setelah file semua tersedia kemudian di klik kanan pilih *AutoDock* pilih *Ligand* (untuk ligan yang akan diuji) dan Macromolecule untuk protein yang diuji. Di bagian Vina Wizard klik *start here* kemudian pilih *Local* (apabila belum ditandai) kemudian *Start*. Pada tampilan *Select Molecules*, dipastikan ligan dan *macromolecule selected*. Akibatnya langkah selanjutnya tidak dapat *diforward*, apabila belum dipilih bagian *add ligand* atau *add molecule* dapat dipilih atau pada bagian *AutoDock* dapat di blok bagian ligan yang ingin diuji ataupun bagian makromolekul kemudian *diforward* ke Run Vina. Di bagian selanjutnya terdapat gridbox yang dapat diatur pada *table view*, di arahkan pada binding site sebagai titik tengah, kemudian dicatat koordinat x, y, dan z. Kemudian diklik *Run Vina*, maka proses *docking* akan dimulai dan tunggu hingga 100% maka hasil akan muncul pada *table analyze result*. Klik *ligand out* dengan *binding affinity* terkecil kemudian pada *table navigator* akan klik *molecule* pilih *ligand out* yang telah diklik di tabel *analyze result*, kemudian klik kanan *save as PDB*.

E. Analisis Hasil

1. Validasi.

Validasi Metode Docking Docking terhadap ligan natif dilakukan untuk mencari konformasi 3D ligan natif terhadap reseptor dengan memperhatikan

koordinat pusat masa struktur dan besaran gridbox dari binding site pocket dalam satuan angstrom (Vina) atau *number of points* (AutoDock). Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi ligan natif hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai *root mean square deviation* (RMSD). Hasil penelitian sebelumnya, nilai RMSD untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah kurang dari 5, semakin mendekati nilai 0 maka nilai kesejajaran semakin baik. (Saputri *et al.* 2016)

2. Energi ikatan

Docking Molekular dan Analisis Data Docking ligan uji dilakukan untuk menghasilkan nilai binding energi dalam satuan kkal/mol. Nilai *binding energy* yang digunakan adalah yang memperoleh nilai semakin minus, apabila terdapat nilai minus maka kekuatan ikatan dapat dipastikan terjadi. Masing masing data yang diujikan diambil 2 data terbaik. Data ligan uji yang sudah dikumpulkan dibandingkan dengan ligan natif.

3. Data Interaksi

Data interaksi ligan protein ditampilkan dengan menggunakan PyMOL dan *Discovery Studio Visualizer* untuk melihat residu asam-asam amino yang terlibat dan ikatan yang terjadi antara senyawa yang diteliti dengan target protein. Ikatan yang terjadi terutama pada sisi aktif yaitu pada asam amino yang sesuai akan dijadikan prediksi sementara serta kemampuan senyawa steroid dan flavonoid yang tertambat pada molekul protein sasaran yang terbesar akan dijadikan sebagai dasar penentuan senyawa dengan aktivitas terbaik.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Senyawa Uji

Ligan-ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa-senyawa flavonoid yaitu diosmetin, apigenin, hesperetin, luteolin, kuersetin, diosmin, apigetrin, rutin, dan curcuminoid sebagai senyawa kalkon serta meloxicam sebagai kontrol positif pada COX-1 dan celecoxib pada COX-2. Struktur ligan yang diujikan pada enzim fosfolipase A₂ adalah cucurbitacin B, cucurbitacin D, cucurbitacin E, cucurbitacin I, cucurbitacin R, dihidrocucurbitacin B, picfelterraenin VI, bryonioside B, bryonioside G, bryonioside E serta dexametason sebagai kontrol positif pada PLA₂ kemudian dioptimasi geometri. Tujuan dari optimasi geometri adalah untuk menghasilkan (energi terendah). Struktur energi yang lebih rendah menunjukkan kestabilan struktur kimia.

B. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Makromolekul.

Pemilihan protein target sebelum melakukan docking molekuler merupakan hal yang sangat penting. Penyiapan struktur makromolekul protein dan ligan yang digunakan akan menentukan prediksi interaksi yang terjadi. Pada tahap ini, struktur makromolekul yang digunakan diunduh dari Protein Data Bank dengan situs <http://www.rcsb.org/>. Metode penentuan struktur makromolekul yang dipilih adalah X-Ray Diffraction karena dapat diaplikasikan untuk struktur makromolekul yang besar (>100 KDa) dan lebih presisi (Brunger 1997). Organisme yang digunakan sebisa mungkin yang digunakan adalah makromolekul pada manusia (*Homo sapiens*) atau hewan yang mendekati dengan makromolekul manusia. Seringkali sumber enzim dari organisme selain manusia karena pada situs <https://www.rcsb.org> tidak memuat informasi tentang enzim pada manusia (*Homo sapiens*). Alasan memilih 2OYE karena ada penelitian sebelumnya (Istyastono 2012) dengan nilai RMSD 0.633. Informasi makromolekul yang digunakan dapat dilihat pada **Tabel 3**.

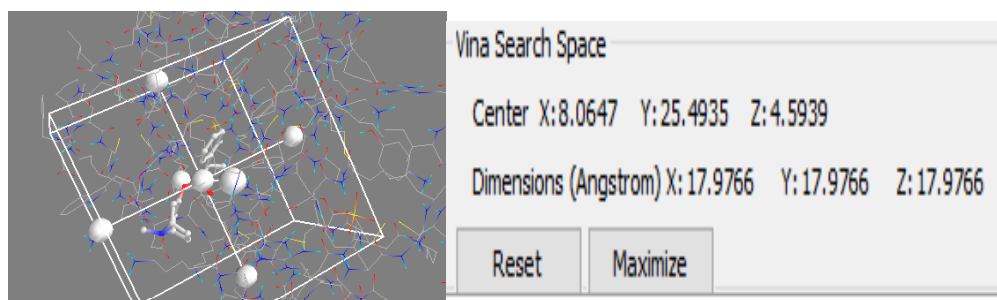
Tabel 3. Informasi makromolekul dan ligan kristalografi

No	COX-1	COX-2	PLA ₂
PDB ID	2OYE	5KIR	2ARM
Organisme	<i>Ovis aries</i>	<i>Homo sapiens</i>	: <i>Daboia russelii</i>
Metode	X-Ray Difraction	X-Ray Difraction	X-Ray Difraction
Resolusi	2.85 Å	2.7 Å	1.23
Ligan	Indomethacin	Rofecoxib	Atropin

Struktur makromolekul telah diunduh dari situs <http://www.rcsb.org/> dalam bentuk terikat dengan ligan dan molekul air. Ligan dan molekul air dapat dihilangkan dari makromolekul protein karena dapat mengganggu proses penambatan. Namun apabila ada interaksi ikatan hydrogen dengan jembatan air maka eliminasi residu air tidak dapat dihilangkan. Pada dasarnya dengan adanya molekul air akan memediasi interaksi ligan dengan reseptor, sehingga hasil *docking* yang didapat semakin baik. Tetapi proses penambatan akan berlangsung lebih kompleks karena variabel persamaan-persamaan matematika *docking* yang perlu diselesaikan menjadi lebih banyak yang menyebabkan waktu penambatan semakin lama (Cole & Taylor, 2005; Fikry 2014). Dengan begitu, perlu adanya optimasi antara akurasi dan kecepatan, dimana jika ingin prosesnya berjalan lebih cepat, maka akurasinya diturunkan hingga 70 % sudah cukup mewakili hasil *docking* yang didapat. Begitu juga dengan adanya ligan yang terikat pada sisi aktif makromolekul akan menghalangi interaksi ligan yang akan ditambatkan.

C. Validasi metode docking molekuler

Makromolekul yang telah disimpan dilakukan uji pendahuluan dan validasi metode menggunakan aplikasi PyRx (Dallakyan 2015). Makromolekul diatur sedemikian rupa dengan menentukan gridbox. Pengaturan grid box untuk menentukan ruang berikatan ligan yang akan di-docking. Ruang berikatan ligan ditentukan dengan merujuk kepada ligan yang sudah berikatan dengan makromolekul protein pada saat diunduh. Pengaturan pada grid box meliputi center_x, center_y, center_z, untuk mengatur letak parameter box pada makromolekul protein, kemudian size_x, size_y, size_z, untuk menentukan besar kecilnya grid box untuk ruang berikatan ligan tersebut (gambar 13).



Gambar 13. Contoh pengaturan gridbox

Tabel 4. Pengaturan gridbox makromolekul

Makromolekul	Gridbox					
	Center			Dimensi (Angstrom)		
	X	Y	Z	X	Y	Z
PLA	8.0647	25.4935	4.5939	17.9766	17.9766	17.9766
COX-1	214.6531	108.3565	-38.3684	21.5619	21.5619	21.5619
COX-2	24.5743	0.8221	34.3143	18.5694	18.5794	18.5794

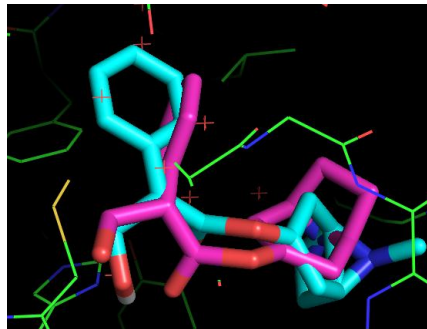
Makromolekul yang telah diatur *gridbox*nya diujikan dengan ligan aslinya (hasil kristalografi). Kemudian menunggu beberapa saat sampai docking selesai, dan software akan memilihkan hasil dengan ΔG_{bind} terbaik (terendah) dengan nilai RMSD terkecil. Hasil docking ulang dibandingkan dengan hasil kristalograf dan dilihat nilai RMSDnya dengan menggunakan PyMOL

Tabel 5 Contoh nilai RMSD antara ligan dan makromolekul PLA₂

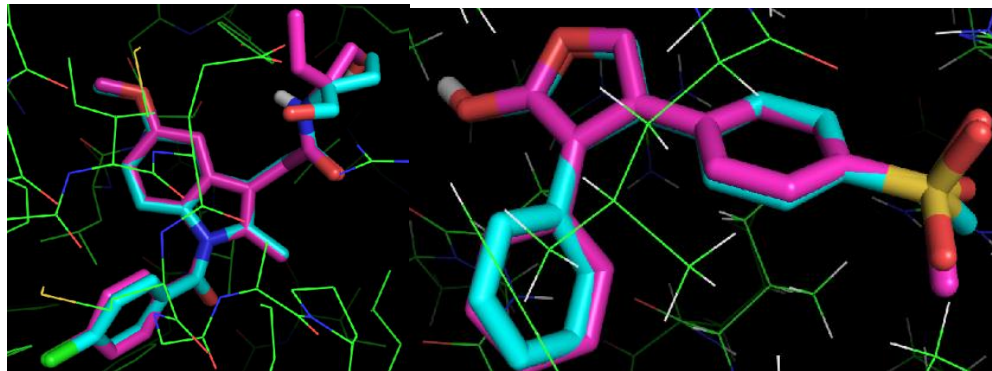
Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
Atropin	-7.4	0	0
Atropin	-7.4	1.994	0.931
Atropin	-7.4	1.2	1.041
Atropin	-7.3	1.904	1.275
Atropin	-7.2	2.706	1.51
Atropin	-7	2.471	1.373
Atropin	-7	3.099	1.545
Atropin	-6.7	2.946	1.85
Atropin	-6.7	6.306	2.343

RMSD merupakan nilai yang digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil dan penting untuk validasi program docking. Nilai RMSD dikatakan baik jika ≤ 2 Å. Dengan penyimpangan yang semakin besar, semakin besar kesalahan pada prediksi interaksi ligan dengan protein (Brooijmans 2009; Fikry 2014). Berikut adalah tampilan validasi metode

dengan menggunakan software PyMOL tampilan *overlay* terbaik hasil *redocking* ligan PLA (Gambar 14), COX-1 dan COX-2 (Gambar 15) serta nilai RMSD Tabel 6.



Gambar 14. Validasi PLA₂



Gambar 15. Validasi COX-1 dan COX-2

Tabel 6. Nilai RMSD ligan asli kristalografi dengan ligan *redocking*

Makromolekul	RMSD
PLA ₂	2.151
COX-1	0.086
COX-2	1.344

Validasi Metode Docking terhadap ligan natif dilakukan untuk mencari konformasi 3D ligan natif terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat pusat masa struktur dan besaran *gridbox* dari *binding site pocket* dalam satuan angstrom (Vina) atau *number of points* (AutoDock). Konformasi hasil docking yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi ligan natif hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai *root mean square deviation* (RMSD). Nilai RMSD untuk kesejajaran konformasi struktur yang masih dapat diterima adalah kurang dari 3 namun yang paling optimal adalah kurang dari 2 (Carugo &

Sangor 2008), semakin mendekati nilai 0 maka nilai kesejajaran semakin baik (Saputri *et al.* 2016). Hasil perhitungan RMSD antara ligan asli dan hasil docking masing-masing menunjukkan nilai 2.151 Å (PLA₂), 0.086 (COX-1) dan 1.344 (COX-2) yang menunjukkan bahwa metode yang digunakan dapat digunakan untuk pengujian *docking* molekuler.

Nilai RMSD terbaik adalah nilai yang mendekati 0. Sehingga konformasi pertama pada masing-masing ligan membandingkan nilai konformasi dengan dirinya sendiri sebagai konformasi terbaik. Selain melihat nilai ΔG_{bind} yang semakin kecil, interaksi dengan senyawa pembanding juga perlu diperhatikan karena interaksi dengan residu yang dikehendaki akan berpengaruh terhadap peran senyawa sebagai inhibitor.

Setelah semua proses pengoptimasian makromolekul selesai, maka file ini disimpan dalam format .pdbqt. Format ini berarti bahwa file pdb tersebut sudah diberikan muatan gasteiger untuk menyesuaikan dengan lingkungan docking sehingga dapat dilakukan perhitungan dengan benar (Forli *et al.* 2012; Fikry 2014).

D. Proses Docking Molekuler

Makromolekul yang telah disimpan dilakukan uji pendahuluan dan validasi metode menggunakan aplikasi PyRx (Dallakyan 2015). *Gridbox* yang digunakan adalah *gridbox* yang pada saat validasi metode, sehingga nilai RMSD tetap dan hasil akan lebih akurat. Analisa hasil penambatan molekul pada penelitian ini meliputi nilai ΔG_{bind} dan interaksi ligan dengan residu protein. Konformasi masing-masing ligan hasil *docking* diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} dari yang terkecil sampai yang terbesar. Nilai ΔG_{bind} yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk adalah stabil, sedangkan nilai ΔG_{bind} yang besar menunjukkan kurang stabilnya kompleks yang terbentuk (Fikry 2014).

Tabel 7. Hasil *docking* ligand PLA₂

Ligand	Target	Binding Energy
Cucurbitacin_R	PLA2	-8.1
dihidrocucurbitacins_B	PLA2	-8.1
Cucurbitacin_B	PLA2	-7.9
Cucurbitacin_D	PLA2	-7.9
dexametason	PLA2	-7.2
Cucurbitacin_I	PLA2	-6.3
Cucurbitacin_E	PLA2	-6.2
bryonisides_B	PLA2	-5.2
bryonisides_E	PLA2	-5.2
bryonisides_G	PLA2	-4.7
picfelterraenin_VI	PLA2	-3.8
phospholipid	PLA2	-3.5

Data hasil proses *docking* molekuler pada PLA₂ menunjukkan dari 12 ligan yang diuji, terdiri dari 10 ligan uji dan 2 ligan pembanding akan menghasilkan ligan yang diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} terbaik (terendah) (**Tabel 7**). Dari 10 konformasi tersebut, maka dipilihlah peringkat teratas yang memiliki nilai ΔG_{bind} terendah. Dari data hasil *docking* diperoleh nilai ikatan energi steroid dengan rentang -3.5 kkal/mol sampai -8.1 kkal/mol. 4 ligan yang menghasilkan nilai terbaik dari steroid kemudian di lihat interaksinya. Hasil yang bila dibandingkan dengan dexametason sebagai pembanding positif memiliki kemampuan yang lebih potensial. Hal ini dilihat pada nilai ikatan energi steroid yang lebih tinggi daripada kontrol positif. Ini menunjukkan bahwa senyawa steroid dalam hal ini cucurbitacin memiliki potensi sebagai antiinflamasi. Hasil docking kemudian disimpan dalam format .pdb dan dilihat interaksinya dengan *software Discovery Studio Visualizer*.

Tabel 8 Hasil *docking* ligand COX-1

Ligand	Target	Binding Energy
Apigenin	COX-1	-9.1
luteolin	COX-1	-9.1
Meloxicam	COX-1	-8.8
bidesmetoksicurcumin	COX-1	-8.7
desmetoksicurcumin	COX-1	-8.7
curcumin	COX-1	-8.4
Diometin	COX-1	-8.4
kuersetin	COX-1	-8.4
Apigetrin	COX-1	-8.1
rutin	COX-1	-7.7
Asam_Arachidonat	COX-1	-7.5
diosmin	COX-1	-7.3
Hesperidine	COX-1	-7

Tabel 9. Hasil *docking* ligand COX-2

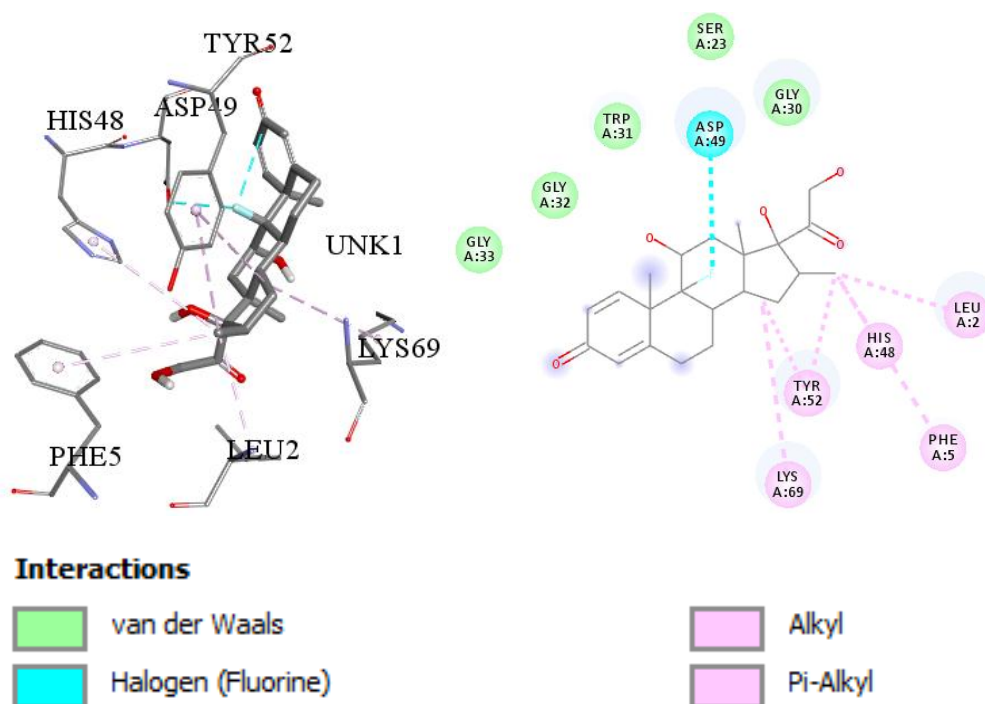
Ligand	Target	Binding Energy
Celecoxib	COX-2_revisi	-12.1
Apigenin	COX-2_revisi	-10.1
kuersetin	COX-2_revisi	-10.1
luteolin	COX-2_revisi	-9.9
Diosmetin	COX-2_revisi	-9.5
desmetoksicurcumin	COX-2_revisi	-8.5
bidesmetoksicurcumin	COX-2_revisi	-8.4
curcumin	COX-2_revisi	-8.4
Asam_Arachidonat	COX-2_revisi	-7.2
Hesperidine	COX-2_revisi	-7
rutin	COX-2_revisi	-3.4
Apigetrin	COX-2_revisi	-3.1
diosmin	COX-2_revisi	1.3

Data hasil proses *docking* molekuler pada COX-1 dan COX-2 menunjukkan dari 14 ligan yang diuji, terdiri dari 11 ligan uji dan 3 ligan pembanding akan menghasilkan ligan yang diperingkatkan berdasarkan nilai ΔG_{bind} terbaik (terendah) (**Tabel 9**). Dari 11 konformasi tersebut, maka dipilihlah peringkat teratas yang memiliki nilai ΔG_{bind} dan RMSD terendah. Dari data hasil *docking* diperoleh nilai ikatan energi flavonoid dengan rentang pada COX-1

dengan nilai -7.0 kkal/mol sampai -9.1 kkal/mol dan pada COX-2 dengan nilai 1.3 kkal/mol sampai -10.1 kkal/mol. Nilai ΔG_{bind} dibandingkan dengan meloxicam (COX-1) dan celecoxib (COX-2). Pada COX-1 nilai ikatan energi flavonoid masih lebih baik dibandingkan meloxicam sebagai kontrol positif, sedangkan COX-2 nilai ikatan energi flavonoid masih lebih kecil, tetapi mendekati celecoxib sebagai kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antiinflamasi. 4 ligan yang menghasilkan nilai terbaik dari flavonoid dan curcuminoid pada COX-1, serta flavonoid pada COX-2. Hasil *docking* kemudian disimpan dalam format .pdb dan dilihat interaksinya dengan *software Discovery Studio Visualizer*.

E. Interaksi Ligand Uji dan Reseptor

1. Interaksi Ligan dengan PLA₂



Gambar 16. Interaksi dexametason dengan PLA₂

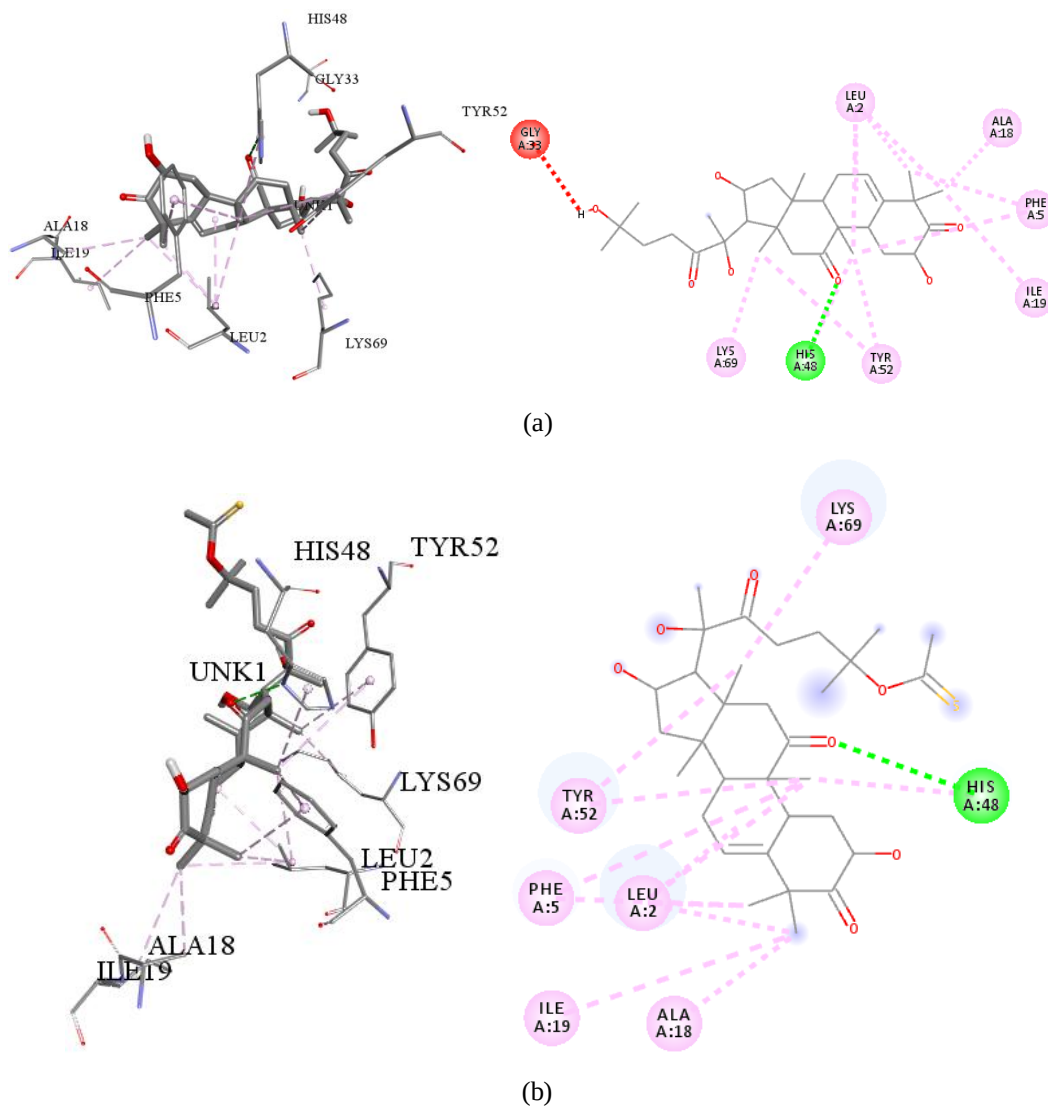
Bagian yang berinteraksi pada senyawa dexametason sebagai pembanding positif PLA₂ adalah residu pada Leu2, Phe5, His48, Tyr52, Lys69, dan interaksi halogen dengan fluorin pada residu Asp49. Pada penelitian sebelumnya menggunakan PLA₂ (kode PDB 1KVO), menunjukkan adanya interaksi

hidrofobik pada gugus fenil yang tersubstitusi gugus tert-butil Tyr22, Ala18, Ile9, His6, Phe5, Phe24, Gly23, Val31, Leu2, Try52 dan Cys44 berjarak jarak 4Å dengan nilai $\Delta G_{binding}$ -6.8 kkal/mol (Vinuchakkaravarthy 2011). sehingga interaksi senyawa yang didocking dapat berinteraksi dengan residu tersebut. Interaksi antara ligan cucurbitacin dan turunannya dengan PLA₂ dapat dilihat pada **Tabel 10**

Tabel 10. Interaksi dexametason dengan PLA₂

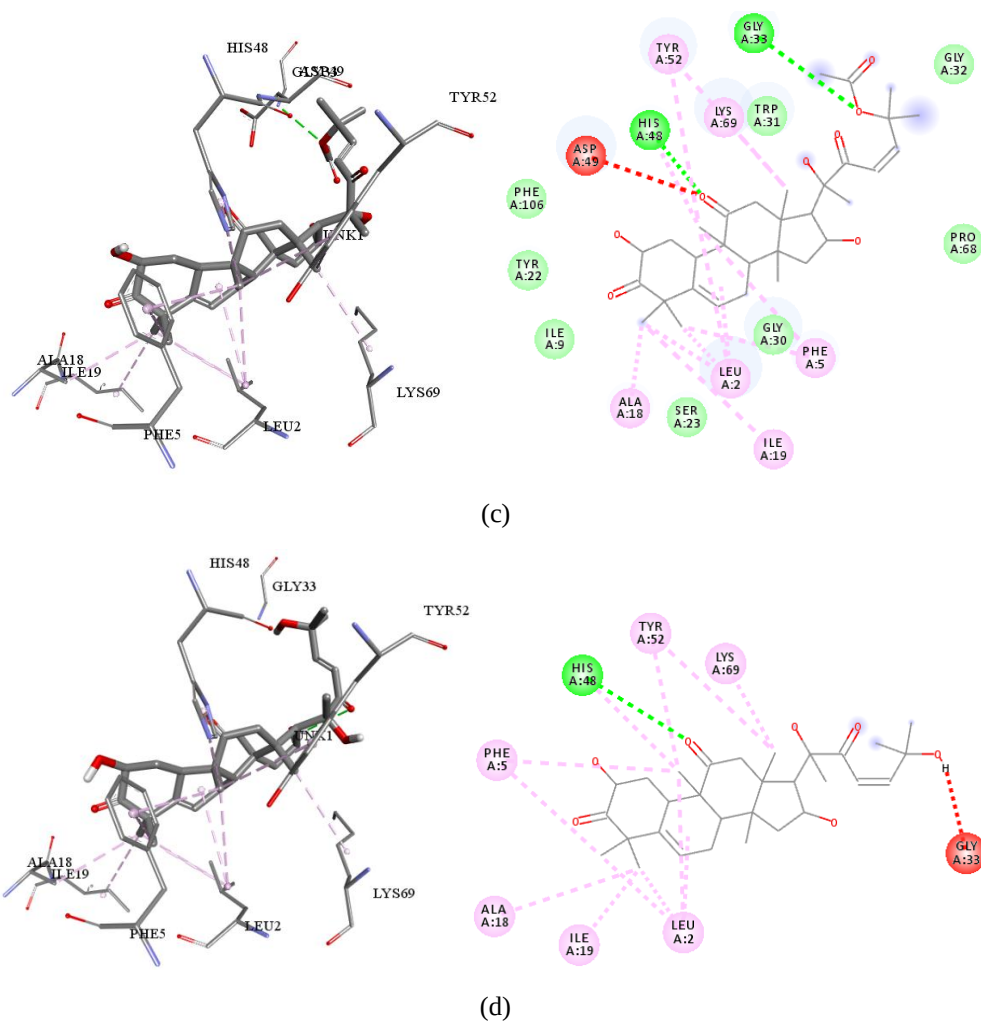
Ligan	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	Residu asam amino yang terlibat berdasarkan model interaksi			
		Ikatan Hidrogen	Interaksi π - π	Interaksi halogen	Interaksi <i>unfavourable</i>
Dexametason	-7.2		Leu2 Phe5 His48 Tyr52 Lys69	Asp49	
Cucurbitacin R	-8,1	His48	Leu2 Phe5 Ala18 Ile19 His48 Tyr52 Lys69		Gly33
Dehidro cucurbitacin B	-8.1	His48	Leu2 Phe5 Ala18 Ile19 His48 Tyr52 Lys69		
Cucurbitacin B	-7.9	Gly33 His48	Leu2 Phe5 Ala18 Ile19 His48 Tyr52 Lys69		Asp49
Cucurbitacin D	-7.9	His48	Leu2 Phe5 Ala18 Ile19 Tyr52 Lys69		Gly33

Senyawa-senyawa kandidat yang memiliki terbaik potensi aktivitas antiinflamasi pada PLA₂ dilihat dari energi ikatan yaitu pada senyawa Cucurbitacin R Dehidrocucurbitacin B (Gambar 4.2) cucurbitacin B, dan cucurbitacin D (Gambar 4.3). Senyawa-senyawa tersebut memiliki banyak ikatan pada ligan, terutama interaksi π - π ataupun perpindahan muatan yang tidak diinginkan (*unfavorable bump*). Hal ini disebabkan adanya tumpang tindih antara atom ligan dengan molekul air ataupun residu jaraknya sangat berdekatan.



Gambar 17. Interaksi ligand (a), Cucurbitacin R dan (b) Dehidrocucurbitacin B dengan PLA₂

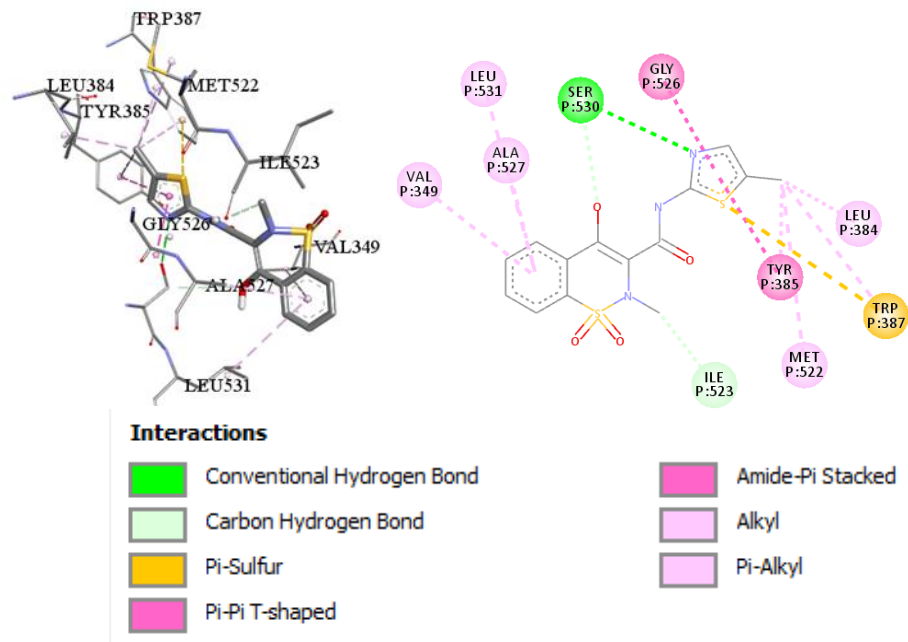
Cucurbitacin R dan Dehidrocucurbitacin B berinteraksi dengan residu yang mirip dengan interaksi pada dexametason (**gambar 17**). Namun interaksi yang dihasilkan sedikit berbeda pada interaksi aromatis pada residu Leu2, Phe5, His48, Tyr52, Lys69 tanpa adanya interaksi di residu Asp49, tetapi nilai ΔG_{bind} semakin kecil karena adanya penambahan residu Ala18, Ile19, dan His48 yang berinteraksi π - π serta Gly33 yang berpindah muatan (*unfavorable bump*) pada interaksi dengan cucurbitacin R. Interaksi π - π antara ligan dan ikatan hidrogen pada His48 turut serta menurunkan nilai ΔG_{bind} -8,1 kkal/mol. Adanya perpindahan pada suatu residu tidak mempengaruhi interaksi secara signifikan (**Tabel 10**).



Gambar 18. Interaksi ligand (c) cucurbitacin B, (d) cucurbitacin D dengan PLA₂

Cucurbitacin B berinteraksi dengan residu yang mirip dengan dexametason namun interaksi yang dihasilkan adalah interaksi aromatis pada residu Leu2, Phe5, His48, Tyr52, Lys69 tetapi nilai ΔG_{bind} semakin kecil karena adanya penambahan residu Ala18, Ile19, dan His48 yang berinteraksi π - π serta ikatan hidrogen pada His48 dan Gly33 turut serta menurunkan ΔG_{bind} dengan nilai -7.9 kkal/mol. Pada cucurbitacin D interaksi yang ditunjukkan mirip dengan interaksi pada dehidrocucurbitacin B. walaupun interaksi yang dihasilkan pada residu yang sama. Akan tetapi, interaksi His48 secara interaksi π - π . Interaksi ini umumnya lebih stabil sehingga adanya tambahan interaksi ini menurunkan ΔG_{bind} yang cukup signifikan (-0.2 kkal/mol).

2. Interaksi Ligan dengan COX-1



Gambar 19. Interaksi meloxicam dengan COX-1

Bagian yang berinteraksi pada senyawa meloxicam sebagai pembanding positif COX-1 adalah residu pada Leu531, Ala527, Val349, Ser530, Gly526, Tyr385, Leu384, Trp387, Met522, Ile523. Interaksi dengan ligan flavonoid dan curcuminoid pada COX-1 dapat dilihat pada **Tabel 11**.

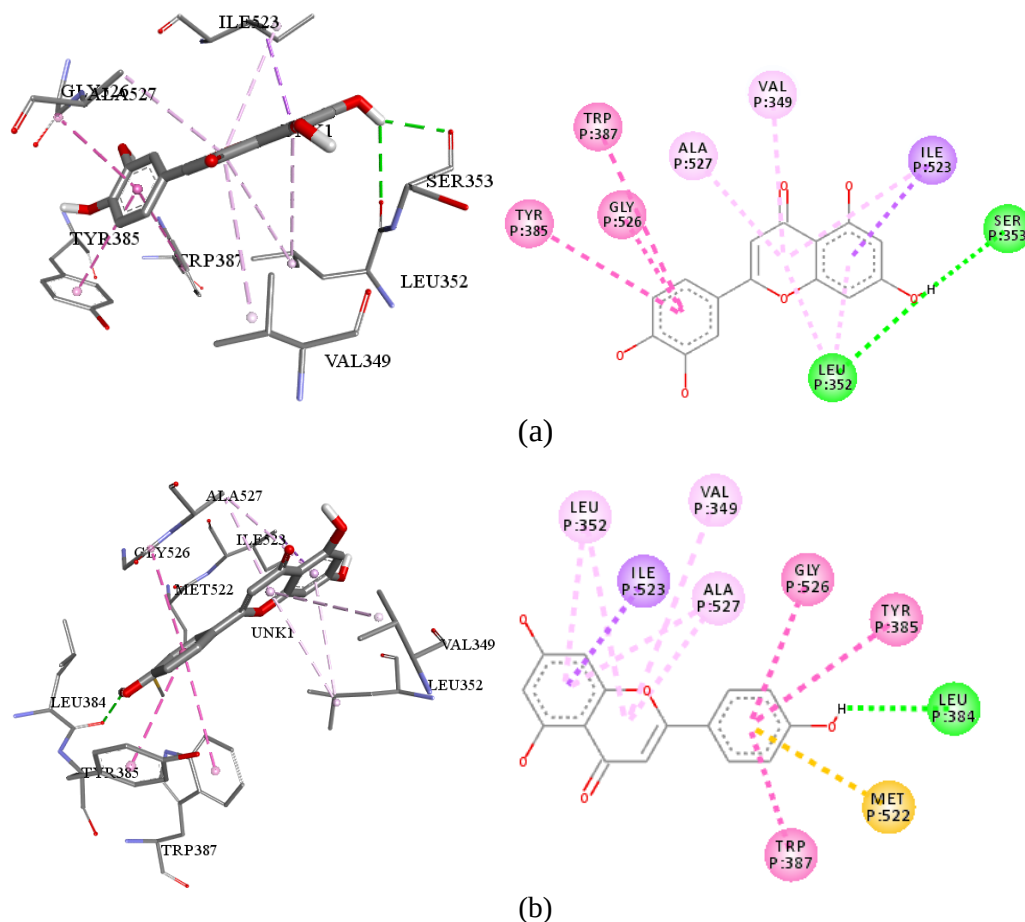
Tabel 11. Interaksi ligan dengan COX-1

Ligan	ΔG_{bind} (kcal/mol)	Residu asam amino yang terlibat berdasarkan model interaksi		
		Ikatan Hidrogen	Interaksi π - π	Interaksi Hidrofobik
Meloxicam	-8,8	Ser530	Leu531, Ala527, Val349	Met522, Gly526, Tyr385, Leu384
Apigenin	-9,1	Leu352, Ser535	Met522, Trp387, Tyr385, Gly526, Ile523, Leu352, Ala527, Trp387,	Leu352, Val349, Ala527
Luteolin	-9,1	Leu384	Tyr385, Gly526, Ile523, Leu352, Ala527, Ile523 Ser530,	Leu352, Val349, Ala527, Ile523
Desmetoksicurcumin	-8,7	Tyr385	Ser535, Leu352, Val349, Ser530, Ala527, Gly526, Phe518, Ile523, Ser535, Leu352	Met522
Bidesmetoksicurcumin	-8,7	-	-	-

Senyawa-senyawa kandidat yang memiliki terbaik potensi aktivitas antiinflamasi pada COX-1 dilihat dari energi ikatan yaitu pada senyawa apigenin, luteolin (**gambar 20**), kemudian disusul bidesmetoksicurcumin dan desmetoksicurcumin (**gambar 21**).

Pada struktur meloxicam terjadi interaksi berupa 1 ikatan hidrogen, 3 ikatan aromatik dan 4 ikatan hidrofobik, sementara pada apigenin dan luteolin memiliki interaksi ligan dengan residu asam amino pada makromolekul dibandingkan dengan meloxicam. Peningkatan interaksi ikatan ligan dengan reseptor akan menyebabkan nilai energi ikatan yang semakin kecil. Hal ini ditunjukkan dengan perbandingan nilai ΔG_{bind} antara meloxicam (-8,8 kkal/mol) dengan luteolin dan apigenin (-9,1 kkal/mol). Selain nilai ΔG_{bind} , interaksi antara ligan dan reseptor juga dapat diperhatikan. Apigenin memiliki interaksi dengan residu asam amino yang sama dengan substrat utama enzim COX yaitu asam arakhidonat pada Met522, Tyr385 dan Leu384. Meloxicam dan asam arakhidonat memiliki interaksi hidrofobik yang sama pada residu Met522, Tyr385, Leu384 dengan penambahan interaksi hidrofobik residu Gly526 pada meloxicam.

Interaksi antara ligan dan reseptor yang dihasilkan masing-masing senyawa berbeda akan tetapi interaksi yang penting yaitu pada sebagai daerah farmakofor dari COX-1. Apigenin dan luteolin memiliki senyawa yang mirip dengan meloxicam, sehingga interaksi yang dihasilkan tersebut memberikan respon yang mirip dengan respon meloxicam sebagai senyawa pembanding positif dan asam arakhidonat sebagai substrat alami. Desmetoksicurcumin dan bidesmetoksicurcumin adalah senyawa yang sekilas mirip dengan asam arakhidonat.

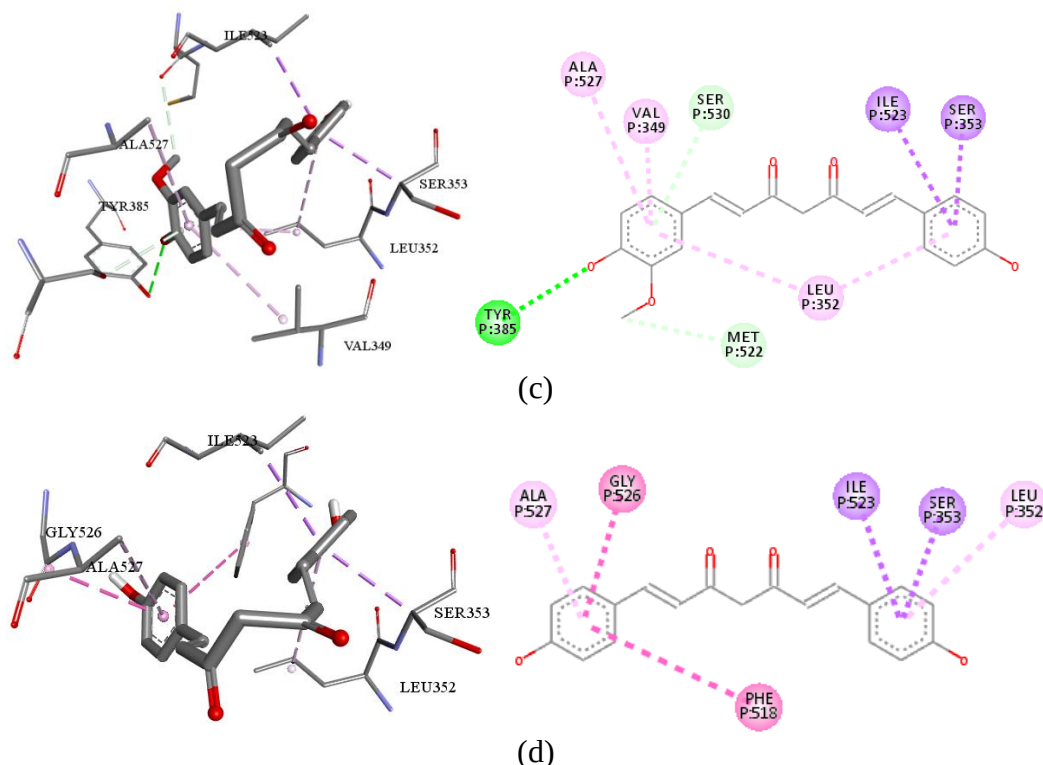


Gambar 20. Interaksi ligand (a) Luteolin, (b) Apigenin dengan COX-1

Apigenin berinteraksi pada residu yang mirip dengan meloxicam. Namun interaksi yang dihasilkan adalah interaksi aromatis pada residu Met522, Tyr385, dan Gly526 tanpa adanya interaksi di residu Leu384, tetapi nilai ΔG_{bind} semakin kecil karena adanya penambahan residu Ile523, Leu352, Ala527, dan Trp387 yang berinteraksi secara aromatis. Pada penelitian sebelumnya apigenin berinteraksi pada Tyr385, Trp387, Tyr348, Tyr355, Val 349, Arg120, Ser530 (Wu *et al.* 2007). perbedaan interaksi dapat disebabkan adanya perbedaan preparasi ataupun makromolekul yang digunakan dalam penelitian. Akan tetapi interaksi dengan daerah farmakofor sama dengan penelitian sebelumnya.

Luteolin memiliki kesamaan residu yang bereaksi dengan kedua senyawa pembanding yaitu pada Leu384, Tyr385, dan Gly526. Residu yang berikatan pada ligan lebih sedikit dibandingkan apigenin namun nilai ΔG_{bind} yang sama dengan apigenin. Hal ini disebabkan adanya interaksi pada residu Leu384 yang berikatan

secara ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen lebih kuat dari interaksi van der Waals (aromatik dan hidrofobik) (Patrick, 2001).



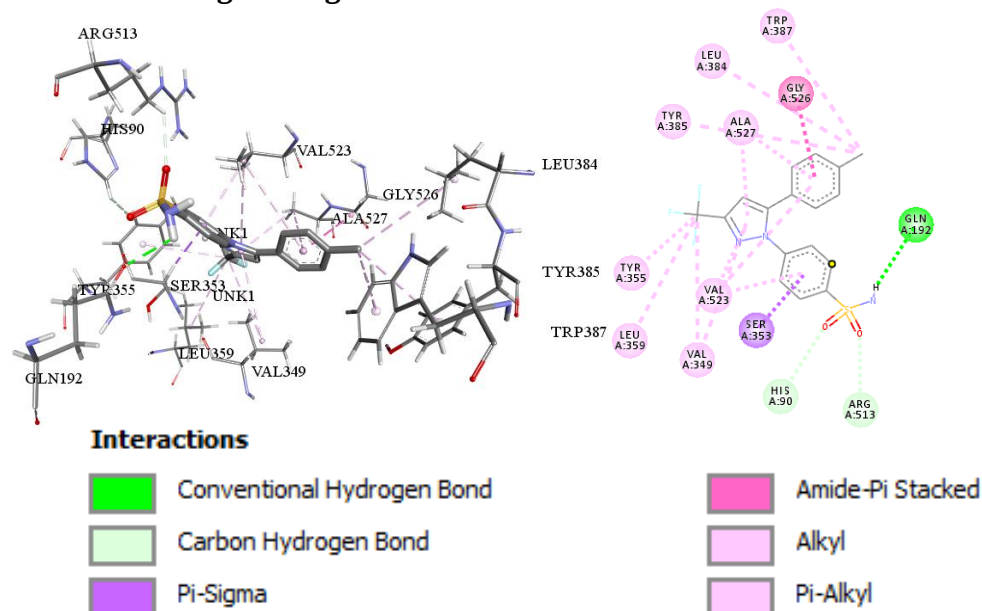
Gambar 21. Interaksi ligand (c) Desmetoksicurcumin, dan (d) Bidesmetoksicurcumin dengan COX-1.

Desmetoksicurcumin dan bidesmetoksicurcumin adalah senyawa turunan alami dari curcumin. Penelitian sebelumnya menunjukkan interaksi desmetoksicurcumin pada Arg106, Arg499, Ala513, Gly340, Gly512, Gly519, Ile98, Leu78, Leu338, Leu345, Leu370, Leu511, Leu517, Met508, Phe367, Phe504, Ser339, Ser516, Tyr101, Tyr334, Tyr341, Tyr371, Trp373, Val74, Val102, Val330, Val335, Val509 dan interaksi bidesmetoksicurcumin pada Arg106, Ala513, Gly512, Gly519, His75, Ile503, Leu338, Leu345, Leu511, Leu517, Met99, Phe504, Ser339, Ser516, Tyr334, Tyr341, Trp373, Val330, Val335, Val509 (Mulatsari et al. 2017)

Desmetoksicurcumin dan bidesmetoksicurcumin memiliki struktur rantai panjang dengan ujung berupa kerangka fenil. Kedua senyawa ini memiliki nilai ΔG_{bind} yang sama yaitu -8.8 namun dari segi interaksi ligan dengan reseptor berbeda. Desmetoksicurcumin memiliki satu sisi gugus metoksi pada bagian fenilnya dan bidesmetoksicurcumin tidak memiliki gugus metoksi. Interaksi yang terjadi pada Desmetoksicurcumin memiliki 3 interaksi umum yaitu ikatan

hydrogen pada Tyr385, interaksi hidrofobik pada Met522, dan sisanya interaksi aromatik pada Ala527, Ile523, Ser530, Ser535, Leu352, dan Val349. Persamaan interaksi antara struktur ini dengan substrat alami yaitu asam arakhidonat adalah interaksi pada Tyr385, Met522, dan Ser530. Persamaan ini memungkinkan desmetoksicurcumin bekerja sebagai inhibitor kompetitif dengan substrat. Nilai ΔG_{bind} yang lebih tinggi pada senyawa uji menunjukkan interaksi yang dilakukan oleh desmetoksicurcumin-enzim lebih baik dibandingkan oleh substrat-enzim. Interaksi pada bidesmetoksicurcumin hanya interaksi aromatik pada Ala527, Gly526, Phe518, Ile523, Ser535, dan Leu352. Secara umum interaksi yang terlibat tidak menunjukkan adanya persamaan dengan asam arachidonat dari segi residu asana amino yang berikatan. Namun interaksi yang mirip dengan meloxicam yaitu pada Ala527 dan Gly526. Sehingga walaupun nilai interaksi yang dihasilkan mirip dengan desmetoksicurcumin dan lebih kecil dibandingkan subtrat dan ligan pembanding positif. Namun interaksi penghambatan enzim COX-1 masih diragukan.

3. Interaksi Ligan dengan COX-2



Gambar 22.Interaksi celecoxib dengan COX-2

Bagian yang berinteraksi pada senyawa celecoxib sebagai pembanding positif COX-2 adalah residu pada Trp387, Leu384, Gly526, Tyr385, Ala527, Tyr355, Val523, Ser353, Gln192, Leu359, Val349, His90, Arg513. Interaksi dengan ligan flavonoid dan kurkuminoid pada COX-2 dapat dilihat pada **Tabel 12**

Tabel 12. Interaksi celecoxib dengan COX-2

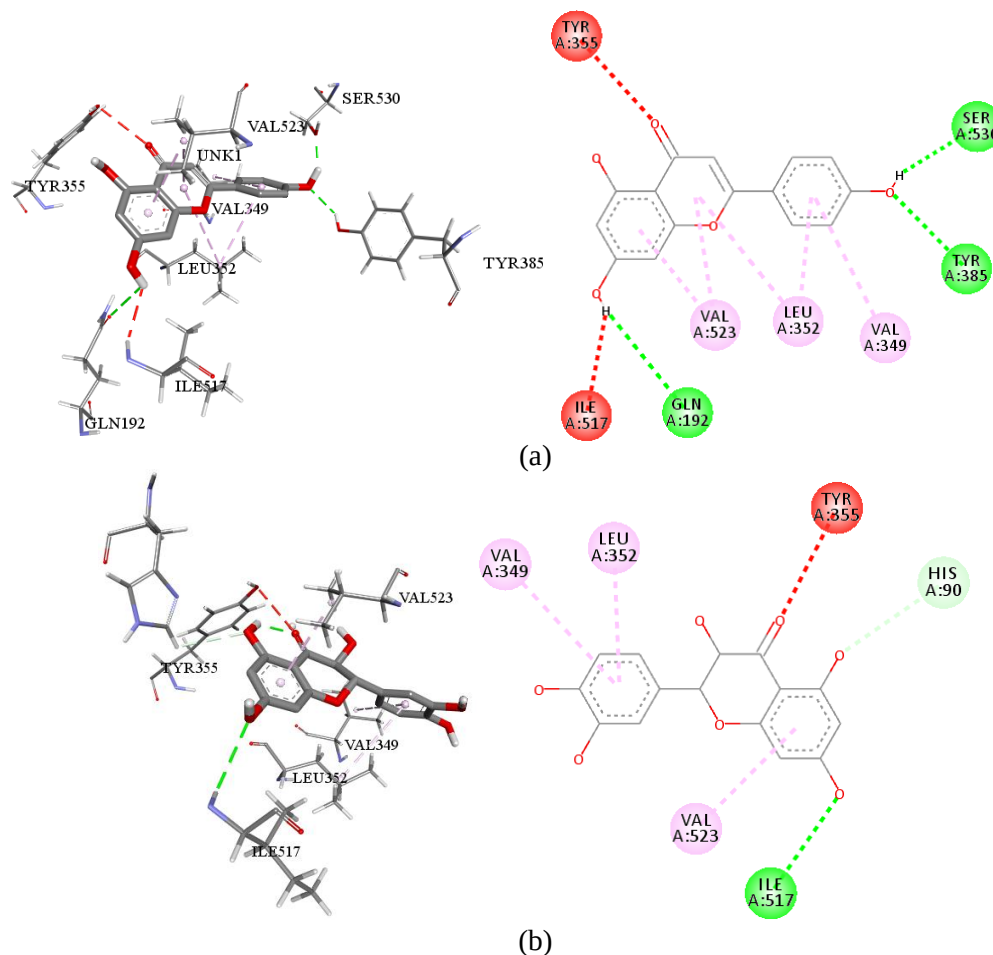
Ligan	ΔG_{bind} (kcal/mol)	Residu asam amino yang terlibat berdasarkan model interaksi			
		Ikatan Hidrogen	Interaksi π - π	Interaksi Hidrofobik	Interaksi <i>unfavourable</i>
Celecoxib	-12.1	Gln192, Arg513, His90	Ser353, Gly526, Ala527, Val523	Trp387, Leu384, Tyr385, Tyr355, Leu359, Val349	-
Apigenin	-10.1	Gln192, Ser530, Tyr385	Val523, Leu352, Val349	-	Tyr355, Ile517
Kuersetin	-10.1	Ile517, His90	Val349, Leu352, Val523	-	Tyr355
Luteolin	-9.9	Ser530, Tyr355, Ser353, Phe518, Ile517	Val523, Leu352, Val349	-	Tyr355
Diosmetin	9.5	Tyr355, Ser353, Gln192	Val349, Leu352, Val523	-	Ile517

Enzim COX-2 bersifat tidak konstruktif namun diinduksi apabila terdapat stimulus inflamasi, mitogenesis, atau onkogenesis. (Dinata *et al.* 2014). COX-2 merupakan produk gen respon dini yang terangsang secara bermakna oleh shear stress, factor pertumbuhan, promotor tumor, dan sitokin. COX-1 menghasilkan prostanoid untuk penjagaan seperti sitoproteksi epitel lambung, sedangkan COX-2 merupakan sumber utama prostanoid pada inflamasi dan kanker (Katzung 2010). COX-2 merupakan enzim indusibel yang umumnya tidak terpantau di kebanyakan jaringan, tetapi akan meningkat pada keadaan inflamasi atau patologik (Fajriani 2008)

COX-1 dan COX-2 merupakan dimer yang masing-masing memiliki persamaan residu asam amino namun pada beberapa asam amino pada bagian sisi aktif enzim yang berbeda pada COX-1 dan COX-2. Adanya perbedaan residu asam amino ini mengubah susunan enzim pada COX-2 sehingga COX-2 memiliki suatu kantung hidrofobik (*hydrophobic binding pocket*) yang tidak dimiliki oleh COX-1. Kantung ini terdiri atas residu Val434, Tyr385, Val523, Phe518, Ser530 dan Arg513. (Zarghi & Arfei 2011)

Senyawa-senyawa kandidat yang memiliki terbaik potensi aktivitas antiinflamasi pada COX-2 dilihat dari energi ikatan yaitu pada senyawa apigenin, kuersetin, luteolin dan diosmetin. Interaksi antara ligan dan reseptor yang

dihasilkan masing-masing senyawa berbeda akan tetapi interaksi yang penting yaitu pada daerah farmakofor yang sama dengan COX-1 dan kantung hidrofobik.



Gambar 23. Interaksi ligand (a) Apigenin, (b) Kuersetin dengan COX-2

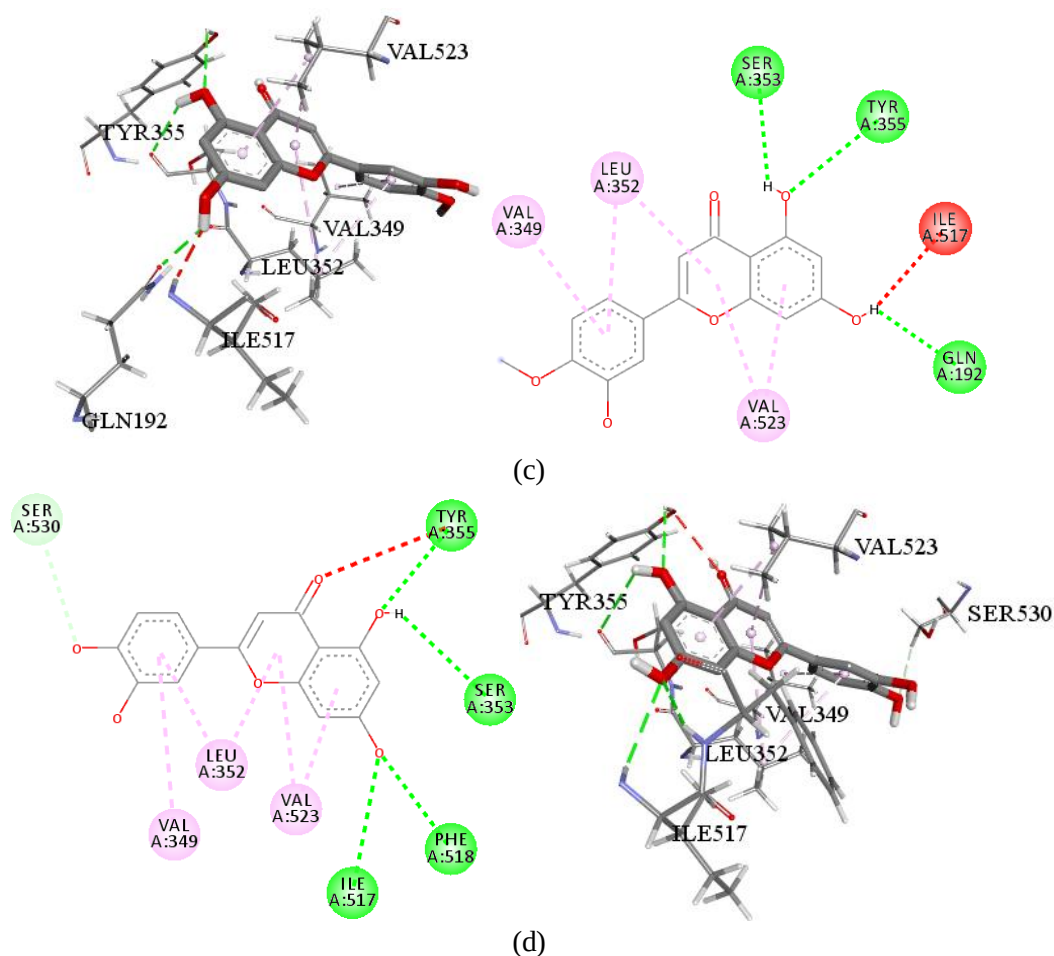
Apigenin menunjukkan interaksi yang mirip dengan celecoxib sebagai pembanding positif yang telah diketahui efeknya secara klinis. Interaksi yang sama dengan celecoxib yaitu ikatan hidrogen pada Gln192 dan interaksi π - π pada Val523. Selain interaksi tersebut adapula persamaan ikatan antara residu-residu asam amino seperti pada Tyr385 berinteraksi ikatan hidrogen pada apigenin dan interaksi hidrofobik pada celecoxib, Val349 berinteraksi π - π pada apigenin dan interaksi hdirofobik pada celecoxib, interaksi *bumps* Tyr355 pada apigenin dan interaksi hidrobik pada celecoxib.

Penelitian sebelumnya apigenin berinteraksi ikatan hidrogen dengan Tyr385 pada 4'-OH pada cincin B dan ikatan hidrogen pada Tyr355 (D'Mello *et al.* 2011). Apigenin memiliki aktivitas menghambat COX-2 sama seperti

celecoxib menunjukkan selektivitas pada COX-2. Hal ini ditunjukkan interaksi dengan residu pada kantung hidrofobik hanya pada residu Ser530 dan Tyr385 yang berinteraksi dengan ikatan hidrogen dan Val523 berinteraksi π - π . Namun pada penelitian sebelumnya pada COX-1 menunjukkan adanya ikatan yang kuat pada COX-1 sekitar -9,1 kkal/mol. Apigenin belum dapat menjadi senyawa yang selektif pada penghambatan enzim COX-2 walaupun memiliki nilai ΔG_{bind} yang cukup tinggi yaitu -10.1 kkal/mol.

Kuersetin menunjukkan adanya aktivitas penghambatan enzim COX-2 dan Nitrit Oxide Sintase (Tholl 2015). Nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -10.1 kkal/mol menunjukkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas yang baik terhadap COX-2. Interaksi yang terjadi dengan COX-2 yaitu pada Ile517 dan His90 secara ikatan hidrogen, Val349, Leu352, Val523 secara ikatan berinteraksi π - π dan interaksi *bumps* pada residu Tyr355. Penelitian sebelumnya menunjukkan kuersetin memiliki nilai ΔG_{bind} -8.94 kkal/mol dengan residu yang berinteraksi ikatan hidrogen dengan Arg513, Arg120, Gln192, ikatan phi-alkil dengan Val523, Val349, dan Leu352, serta ikatan phi-sigma dengan Val523, dan Ala527 (Dash *et al.* 2015).

Kemiripan residu yang berinteraksi dengan celecoxib menunjukkan kuersetin dapat digunakan sebagai penghambat enzim COX-2 namun secara selektivitas belum menunjukkan interaksi yang mirip dengan struktur pembanding Celecoxib dan pada pengujian sebelumnya pada COX-1 menunjukkan nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -8.4 kkal/mol. Nilai ΔG_{bind} yang kecil pada kedua enzim COX menunjukkan kuersetin belum selektif untuk COX-2.



Gambar 24. Interaksi (c) Luteolin, dan (d) Diosmetin dengan COX-2

Luteolin adalah suatu flavonoid yang banyak ditemukan pada banyak tanaman termasuk buah-buahan, sayur, dan tanaman obat. Luteolin berfungsi sebagai anti inflamasi, anti alergi, anti kanker salah satunya sebagai antioksidan dan pro-oksidan biokimia (Lin *et al.* 2008). Luteolin menunjukkan adanya aktivitas penghambatan enzim COX-2 (Tholl 2015). Nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -9.9 kkal/mol menunjukkan bahwa luteolin memiliki aktivitas yang baik terhadap COX-2. Interaksi yang paling banyak pada interaksi ikatan hydrogen pada Ser530, Tyr355, Ser353, Phe517, Ile517 dan Interaksi π - π pada Val523, Leu352, dan Val349, serta interaksi *bumps* dengan pada Tyr355. Penelitian sebelumnya menunjukkan luteolin memiliki Nilai ΔG_{bind} -10.72 kkal/mol dengan residu yang berinteraksi ikatan hidrogen dengan Ser530, ikatan phi-alkil dengan Ala516, Leu352, Val349, serta ikatan phi-sigma dengan Val523 (Dash *et al.* 2015). Pada penelitian sebelumnya ikatan yang terjadi lebih sedikit. Hal ini

disebabkan perbedaan makromolekul yang didapat dan spesifikasinya digunakan. Namun interaksi yang didapat memiliki persamaan

Kemiripan residu yang berinteraksi pada luteolin dengan celecoxib adalah pada Val523, Ser530, Ser353 Val349, Tyr355. Interaksi yang sama dengan celecoxib adalah interaksi π - π pada Val523. Kemiripan residu yang berinteraksi dengan celecoxib menunjukkan luteoin dapat digunakan sebagai penghambat enzim COX-2 namun secara selektivitas belum menunjukkan interaksi yang mirip dengan struktur pembanding Celecoxib dan pada pengujian sebelumnya pada COX-1 menunjukkan nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -9.1 kkal/mol. Nilai ΔG_{bind} yang kecil pada kedua enzim COX menunjukkan luteolin belum selektif untuk COX-2.

Diosmetin adalah senyawa flavonoid yang terdiri dari gugus metoksi dan 3 gugus -OH dan merupakan bentuk aglikon dari diosmin yang sering ditemukan pada *Citrus sp.* Diosmetin juga dapat menghambat secara signifikan ekspresi COX-2 pada lipopolisakarida yang distimulasi makrofag (Dominguez et al 2010). Nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -9.5 kkal/mol menunjukkan bahwa Diosmetin memiliki aktivitas yang baik terhadap COX-2. interaksi hydrogen dengan residu Tyr355, Ser353 dan Gln192, interaksi π - π pada Val349, Leu352, Val523 dan *unfavorable bump* pada Ile517. Kemiripan dengan Celecoxib pada Gln192, Ser355, Tyr355, dan Val523. Pada pengujian sebelumnya pada COX-1 menunjukkan nilai ΔG_{bind} yang kecil yaitu -8.4 kkal/mol. Nilai interaksi yang kecil pada kedua reseptor COX menunjukkan respon yang tidak selektif, sehingga luteolin belum dapat menjadi inhibitor selektif COX-2. Akan tetapi, interaksi antara diosmetin dan reseptor menunjukkan adanya efek penghambatan yang paling mirip dengan celecoxib dibandingkan senyawa kandidat lainnya, sehingga perlu adanya studi lebih lanjut terkait diosmetin dan turunannya.

Nilai ΔG_{bind} yang kecil menunjukkan interaksi yang baik terhadap reseptor COX-2. Interaksi yang mirip dengan pembanding celecoxib sebagai inhibitor selektif COX-2 menunjukkan aktivitas ligan flavonoid yang diuji dapat berefek sebagai inhibitor COX-2. Namun nilai ΔG_{bind} celecoxib lebih rendah (-12.1 kkal/mol) dan interaksi ligan flavonoid tidak menunjukkan adanya

selektivitas terhadap COX-2 karena disamping rendah ketika diuji pada enzim COX-1, ligan-ligan terpilih yang memiliki aktivitas terbaik juga memiliki aktivitas potensial terhadap enzim COX-1.

Interaksi yang tidak diinginkan (*unfavorable bump*) pada COX-2 umumnya disebabkan oleh muatan-muatan atom yang bertindak sebagai penarik elektron seperti oksigen pada karbonil. Hal ini ditemukan pada interaksi *van der waals* yang permukaannya terjadi tumpang tindih dari jarak yang dapat terdeteksi software. (Roy *et al.* 2015)

4. Prediksi ADMET

Sifat-sifat kimia fisika adalah dasar untuk menjelaskan aktifitas biologis obat karena sifat kimia fisika memegang peranan penting dalam menentukan metode yang tepat untuk formulasi suatu obat, sehingga didapatkan suatu sediaan yang efektif, stabil, dan aman. Sifat fisika kimia juga akan berkaitan erat dalam pengangkutan obat untuk mencapai reseptor. Sebelum mencapai reseptor, molekul-molekul obat harus melalui bermacam-macam membran, berinteraksi dengan senyawa-senyawa dalam cairan luar dan dalam sel serta biopolimer. Sifat kimia dan fisika berperan dalam proses penyerapan dan distribusi obat sehingga kadar obat pada waktu tertentu mencapai reseptor dalam jumlah yang cukup besar. Hanya obat yang mempunyai struktur dengan kekhasan yang tinggi saja yang dapat berinteraksi dengan reseptor biologis, sifat kimia fisika harus menunjang orientasi khas molekul pada permukaan reseptor.

Lipinski's rule of five adalah suatu aturan yang ditemukan oleh Lipinski yang membantu untuk membedakan senyawa-senyawa obat dan bukan obat dari struktur senyawa. Teori ini memprediksi probabilitas keberhasilan atau kegagalan yang tinggi dari senyawa obat karena kemiripan obat untuk molekul yang mematuhi 2 atau lebih dari aturan tersebut.

Aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia ligan untuk menentukan karakter hidrofobik/hidrofilik suatu senyawa untuk melalui membran sel oleh difusi pasif. Nilai log P menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak/air yang memiliki rentang -0,4 – 5. Berat molekul yang lebih dari 500 g/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel. Semakin besar nilai log P, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik

Berdasarkan data dari **Tabel 4.5** dapat dilihat bahwa flavonoid dan turunan kurkumin memiliki berat molekul kurang dari 500 g/mol, nilai donor maupun akseptor ikatan hidrogen, dan nilai log P yang memenuhi kriteria dari Aturan Lipinski.

Tabel 14. Lipinski rules senyawa kandidat PLA₂ (<http://www.swissadme.ch/index.php>)

Lipinski Rules				
Molecule	Cucurbitacin R	Dehidro cucurbitacin B	Cucurbitacin B	Cucurbitacin D
Formula	C ₃₀ H ₄₆ O ₇	C ₃₂ H ₄₈ O ₇ S	C ₃₂ H ₄₆ O ₈	C ₃₀ H ₄₄ O ₇
Bobot Molekul	518.68	576.78	558.7	516.67
H-bond acceptors	7	7	8	7
H-bond donors	4	3	3	4
Log P	2.86	3.85	3.26	2.66
Kelarutan dalam air	Sukar Larut	Sangat Sukar Larut	Sukar Larut	Sukar Larut

Berdasarkan data dari **Tabel 14** dapat dilihat bahwa steroid cucurbitacin memiliki nilai donor maupun akseptor ikatan hidrogen, dan nilai log P yang memenuhi kriteria dari Aturan Lipinski. Namun struktur cucurbitacin merupakan kerangka struktur yang besar sehingga berat molekul lebih dari 500 g/mol.

Tabel 15. Farmakokinetika senyawa kandidat COX (<http://www.swissadme.ch/index.php>)

Farmakokinetika ligand COX						
Molecule	Apigenin	Luteolin	Kuersetin	Diosmetin	Desmetoksi curcumin	Bidesmetoksi curcumin
Absorpsi GI	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Tinggi
Bioavailabilitas	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
BBB	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Permeabilitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Substrat Pgp	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Log P	1.73	2.11	2.19	2.83	3	0.63
Inhibitor CYP1A2	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak
Inhibitor CYP2C19	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP2C9	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak
Inhibitor CYP2D6	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP3A4	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak

Fasa Farmakokinetik meliputi proses absorpsi di saluran pencernaan, distribusi melalui darah, dimetabolisme menjadi bentuk senyawa metabolit aktif dan diekskresikan keluar tubuh (ADME). Fasa ini berperan dalam ketersediaan obat untuk mencapai jaringan sasaran (*target*) atau reseptor sehingga dapat menimbulkan respons biologis. Untuk memberikan efek biologis, senyawa harus melewati proses absorpsi menghasilkan ketersediaan hayati obat (bioavailabilitas), yaitu senyawa aktif dalam cairan darah (pH = 7,4) yang akan didistribusikan ke jaringan atau organ tubuh. Hasil prediksi ADMET menunjukkan ligan terpilih menunjukkan tingkat absorpsi melalui gastrointestinal yang tinggi namun nilai bioavailabilitasnya kurang baik, yaitu 0.55. Namun bioavailabilitas yang kecil tidak menjadi dasar untuk efektivitas senyawa dalam jaringan target.

Tabel 16. Farmakokinetika senyawa kandidat PLA₂ (<http://www.swissadme.ch/index.php>)

Farmakokinetika ligand PLA ₂				
Molecule	Cucurbitacin R	Dehidro cucurbitacin B	Cucurbitacin B	Cucurbitacin D
Absorpsi GI	Tinggi	Rendah	Rendah	Tinggi
Bioavailabilitas	0.55	0.55	0.55	0.55
BBB Permeabilitas	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Substrat Pgp	Ya	Ya	Ya	Ya
Log P	1.73	2.11	2.19	2.83
Inhibitor CYP1A2	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP2C19	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP2C9	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Inhibitor CYP3A4	Ya	Ya	Ya	Ya

Fasa yang melibatkan proses distribusi, metabolisme dan ekskresi obat, adalah menentukan kadar senyawa aktif pada kompartemen tempat reseptor berada. obat dalam bentuk aktifnya harus berinteraksi dengan reseptor atau tempat aksi atau sel target, dengan kadar yang cukup tinggi.

Sawar otak atau *blood–brain barrier* (BBB) adalah suatu lapisan difusi esensial yang berfungsi sebagai pembatas sistem saraf pusat (*central nervous system*). Sel endotel BBB berbeda dari sel endotel di bagian tubuh lainnya dengan

tidak adanya penetreasi, hubungan antar selnya menggunakan *tight junctions* (TJ), dan transport menggunakan pinositosis. Sel endotel *tight junctions* membatasi aliran senyawa hidrofilik untuk menembus masuk ke BBB. Hanya senyawa yang sangat lipofil dan molekul kecil yang dapat masuk menembus sawar otak seperti O₂. (Ballabh *et al.* 2003). Ligan kandidat harus sangat lipofil untuk menembus otak. Namun tidak ada ligan yang dapat menembus sawar otak karena ligan umumnya merupakan semipolar dengan adanya gugus –OH.

Proses metabolisme senyawa terjadi di hati (liver). Enzim sitokrom P450 ditemukan terutama di hati, walaupun beberapa (misalnya CYP3A4) juga ditemukan dalam jumlah besar di usus. Enzim tersebut sering terlibat dalam proses metabolisme sebagian besar obat dan merupakan mekanisme yang paling penting dalam farmakokinetika obat. Sitokrom P450 3A4 (CYP3A4) sering mendapat perhatian karena mayoritas obat dimetabolisme oleh CYP3A4. Pada prediksi ADMET enzim CYP3A4 dapat mengkatalisis reaksi metabolisme sebagian besar ligan yang menjadi kandidat terbaik sebagai inhibitor kecuali bidesmetoksi curcumin. Dilihat dari struktur bidesmetoksicurcumin yang menurut prediksi ADMET adalah struktur yang larut dalam air maka kemungkinan ada pengaruh polaritas terhadap metabolismenya terhadap enzim CYP3A4. Karakteristik substrat yang dapat di CYP3A4 adalah molekul yang besar dan bersifat lipofilik. Umumnya lebih dari 50% obat bersifat lipofil sehingga obat-obat sebelum di analisis lebih lanjut sering diprediksi kemampuannya sebagai substrat enzim CYP3A4 (Zanger & Schwab 2013)

Enzim CYP450 penting lainnya yaitu CYP1A2, yang dapat mengkatalisis hampir seluruh ligan kandidat, kecuali bidesmetoksicurcumin. Karakteristik substrat enzim CYP1A2 adalah senyawa-senyawa planar, aromatis, poliaromatis, heterosiklis amida dan amina. Namun prediksi ADMET menunjukkan bahwa senyawa bidesmetoksicurcumin bukan inhibitor dari enzim ini. CYP1A2 terdapat pada retikulum endoplasma dan ekspresinya diinduksi oleh beberapa hidrokarbon aromatik polisiklis (PAH), beberapa di antaranya ditemukan pada asap rokok. Substrat endogen enzim tidak diketahui tetapi mampu memetabolisme beberapa PAH menjadi zat antara karsinogenik (Horn & Hansten 2008).

Enzim CYP2C19 merupakan satu-satunya enzim yang tidak dapat dihambat oleh seluruh ligan kandidat. Karakteristik substrat enzim ini adalah senyawa netral atau basa lemah atau amida dengan 2 hingga 3 akseptor ikatan hydrogen, umumnya senyawa-senyawa penghambat pompa proton. Efek farmakokinetik enzim ini dilaporkan dapat memetabolisme beberapa antidepresan, antijamur dan anti malaria. (Zanger & Schwab 2013)

Inhibitor enzim CYP2C9 yang diprediksi dari ligan kandidat adalah kuersetin, diosmetin dan desmetoksi curcumin. Karakteristik alami enzim ini adalah senyawa-senyawa asam lemah dengan akseptor ikatan hydrogen seperti senyawa NSAID dan beberapa penelitian dapat memetabolisme senyawa-senyawa sulfonil urea seperti glibenclamid, tolbutamid, dan glimepirid. (Zanger & Schwab 2013)

Enzim CYP2D6 adalah enzim yang berfungsi sebagai katalisis senyawa basa dengan atom nitrogen terprotonasi 4–7Å contoh umumnya adalah senyawa tanaman yang mengandung alkaloid dan antidepresan (Zanger & Schwab 2013). Prediksi ADMET menunjukkan apigenin, luteolin dan kuersetin memiliki potensi sebagai inhibitor enzim ini.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Cucurbitacin R dan dehidrocucurbitacin B berinteraksi dengan respon yang serupa dengan dexametason terhadap PLA₂, sedangkan Flavonoid apigenin dan luteolin berinteraksi dengan respon yang serupa dengan meloxicam terhadap COX-1 dan celecoxib dengan COX-2.
2. Cucurbitacin R dan dehidrocucurbitacin B diprediksi mempunyai aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap PLA₂ sedangkan apigenin diprediksi mempunyai aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap COX-1 dan COX-2, serta interaksi yang paling mendekati celecoxib adalah diosmetin.
3. Hasil prediksi ADME menunjukkan senyawa flavonoid memenuhi syarat *Lipinski's Rules*, tidak dapat berdifusi pada sawar otak, bukan substrat protein gp, dan kebanyakan dimetabolisme oleh CYP450, sedangkan steroid cucurbitacin belum memenuhi syarat aturan *Lipinski's Rules*, tidak dapat berdifusi pada sawar otak, bukan substrat protein gp, dan umumnya merupakan inhibitor CYP3A4.

B. Saran

1. Hasil ini merupakan prediksi aktivitas biologis karena didapat dari simulasi pemodelan *software*. Sehingga perlu dilakukan uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa tersebut.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut dengan pada senyawa-senyawa kandidat yang digunakan seperti cucurbitacin B, D, R dihidrocucurbitacin B pada PLA₂ dan Apigenin, Kuersetin, Luteolin, Diosmetin, desmetoksikurkumin, bidesmetoksikurkumin pada COX-2.
3. Dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan studi hubungan struktur-aktivitas senyawa diosmetin dan turunannya yang *didockingkan*

dengan COX-2 yang berperan dalam pengobatan antiinflamasi untuk mengetahui perbandingan hasilnya sehingga didapat interaksi terbaik dan lebih selektif terhadap COX-2.

DAFTAR PUSTAKA

- Ballabh P., Braun A., Nedergaard M., (2004). *The Blood–Brain Barrier: an Overview Structure, Regulation, and Clinical Implications* Neurobiology of Disease 16 1 – 13
- Barbern FAT., Gil MI., Tom F., Ferrere F. (1985). *Flavonoid Aglycones and Glycosides from Teucrium Gnaphalodes*. Journal of Natural Products {Vol. 48, no 5 page 859-860
- Bikadi Z., Hazai E (2009). Application of the PM6 Semi-Empirical Method to Modeling Proteins Enhances Docking Accuracy of AutoDock. *Journal of Cheminformatics*.1:15. doi:10.1186/1758-2946-1-15.
- Bjarnason I., Hayllar J., MacPherson AJ., Russell AS. (1993) *Side Effects of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on The Small and Large Intestine in Humans*. Gastroenterology. 1993 Jun;104(6):1832-47
- Blackwell G. J., Flower R. J., Nijkamp F. P. and Vane J.R.: Phospholipase A2 Activity of Guinea Pig Isolated Perfused Lungs: Stimulation and Inhibition of Anti- Inflammatory Steroids. *Br. J. Pharmac.* 62 (1978) 79-89.
- Bohlmann J and Keeling CI. (2008). Terpenoid Biomaterials. *The Plant Journal* 54(4): 656–669.
- Cao G., Sofic E., Prior R. L. (1997). Antioxidant and Prooxidant Behavior of Flavonoids: Structure-activity Relationships. *Free Radical Biol. Med.*1997, 22,749 –760
- Cramer F. (1995). *Biochemical Correctness: Emil Fischer's Lock and Key Hypothesis, A Hundred Years After*. Pharmaceutics Acta Helvetiae 69 193-203. Max-Planck-Institut für Experimentelle Medizin, Hermann-Rein-Str. 3, D-37075 Göttingen, Germany
- Crespo, M.E., Galvez, J., Cruz, T., Ocete, M.A., Zarzuelo, A., 1999. *Anti-inflammatory Activity of Diosmin and Hesperidin in Rat Colitis Induced by TNBS*. Planta Med. 65, 651–653.
- Croasman, W.R., & Carlson, R.M. (1994). *Two Dimensional NMR Spectroscopy, Application for Chemists and Biochemists*, VCH Publishing, 456 p.
- Daina A., Michielin O., Zoete V. (2017) SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports* 7, Article number: 42717 doi:10.1038/srep42717
- Dallakyan, Sargis & Olson, Arthur J. (2016). *Small Molecule Library Screening by Docking with Pyrx*. Department of Integrative Structural and Computational Biology, The Scripps Research Institute. 10550 North Torrey Pines Road La Jolla, CA 92037-1000 USA.

- Dewick PM. (2006). *Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach* 3rd Edition. A John Wiley and Sons, Ltd.,
- Dholakiya SL., Benzeroual KE., (2011) Protective Effect of Diosmin on LPS-induced Apoptosis in PC12 Cells and Inhibition of TNF- α expression. *Toxicology in vitro* 25 Elsevier 1039–1044.
- Da Silva BP, de Sousa AC, Silva GM, Mendes TP, Parente JP. (2002). A new bioactive steroidal saponin from *Agave attenuata*. *Z Naturforsch [C]*; 57: 423–428.
- Diaseptana YMS., (2017) *Penambatan Molekuler Senyawa Derivat Andrografolida Terhadap Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2)*. Skripsi. Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta
- Dinata DI., Suryatno H., Musfiroh I, Suherman SE., (2014) Simulasi Docking Molekuler Senyawa Xanthorrhizol Sebagai Antiinflamasi Terhadap Enzim COX-1 dan COX-2. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. Volume 1, Nomor 1, Juni 2014.
- Duke JA. (1999). *US. Department of Agriculture Phytochemistry and Ethnobotanical Database*. <http://www.ars-grin.gov/duke/>
- D'Mello P., Gadhwal MK., Joshi U., Shetgiri P (2011) Modeling of COX-2 Inhibitory Activity of Flavonoid. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* Vol 3, Issue 4, 2011
- Drug Design Laboratory. *VegaZZ*. <http://www.Nova.disfarm.unimi.it/cms/>
- Forli S., Huey R., Pique ME., Sanner MF., Goodsell DS., Olson AJ. (2016) Computational Protein-Ligand Docking and Virtual Drug Screening with The AutoDock Suite. *Nat Protoc.* 11(5):905-19. doi:10.1038/nprot.2016.051.
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D. and Singla, A. K. (2001), Chemistry and Pharmacology of The Citrus Bioflavonoid Hesperidin. *Phytother. Res.*, 15: 655–669. doi:10.1002/ptr.1074
- Gringauz VA. (1997) *Introduction to Medicinal Chemistry - How Drugs Act and Why*. WILEY-VCH, Weinheim. 721 S., geb. 109.00 DM.—ISBN 0-471-18545-0.
- Guillot, R., Ogneva, V., Hadjiisky, P., Kassab, J.P., Andre, J., Mozère, G., Peyroux, J., Sternberg, M., (1998). *Effect of Long-Term Treatment with a Purified Micronized Flavonoid Fraction on Pancreatic Mononuclear Cell Infiltration in Diabetic BB rats*. *Pancreas* 17 (3), 301–308.
- Gupta K., Selinsky BS., Loll PJ. (2006). 2.0 Angstroms Structure of Prostaglandin H2 Synthase-1 Reconstituted with A Manganese Porphyrin Cofactor. *Acta Crystallogr., Sect.D* 62: 151-156 DOI: 10.1107/S0907444905036309

- Guryanov I., Fiorucci S., Tennikova T. (2016). Receptor-Ligand Interactions: Advanced Biomedical Applications, *Mater. Sci. Eng., C* <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.07.072>.
- Harborne JB. (1986). *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hayati. (2005). *Efek Antiinflamasi Beberapa Tumbuhan Umbelliferae*. Vol. 12, No. 1 hlm. 7-10 ISSN 0854-8587
- Hayun., Yanuar, A., Hanafi M., & HS PWS. 2011) Virtual Screening of 2,3-disubstituted-4-(3H)-Quinazolinones Possessing Benzenesulfonamide Moiety for COX-2 Inhibitor. *Bioinfomation*, 7(5) 246-250
- Horn JR., Hansten PD., (2007). *Get to Know an Enzyme: CYP1A2*. Pharmacy Times Publications.<http://www.pharmacytimes.com/publications/issue/2007/2007-11/2007-11-8279>
- Harirforoosh S., Jamali F. (2009). Renal Adverse Effects of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. *Expert Opin Drug Saf.* 2009 Nov;8(6):669-81. doi: 10.1517/14740330903311023.
- Jayasekara, T.I., Stevenson, P.C., Belmain, S.R., Farman, D.I., and Hall, D.R. 2002. Identification of Metylsalicylate as The Principal Volatile Component in the Methanol Extract of Root Bark of *Securidaca longipedunculata* Fers. *J. Mass Spec.* 37:577-580.
- Jean, T., Bodinier, M.C., 1994. Mediators Involved in Inflammation: Effects of Daflon 500 mg on Their Release. *Angiology* 45, 554–559.
- Jin M., Yang JH., Lee E., Lu Y., Kwon S., Son KH. (2009). Antiasthmatic activity of Luteolin-7-O-glucoside From *Ailanthus altissima* Through The Downregulation of T-Helper 2 Cytokine Expression and Inhibition of Prostaglandin E2 Production in An Ovalbumin-Induced Asthma Model. *Biol Pharmaceut Bull* 2009; 32: 1500–1503.
- Jung HJ., Kim SG., Nam JH., Park KK., Chung WY., Kim WB., Lee KT., Won JH., Choi JW., Park HJ. (2005) Isolation of Saponins with The Inhibitory Effect on Nitric Oxide, Prostaglandin E2 and Tumor Necrosis Factor- α Production from *Pleurospermum kamtschaticum*. *Biol Pharm Bull*; 28: 1668-1671.
- Katzung BG. (2010) *Farmakologi Dasar dan Klinik* Edisi 10, diterjemahkan oleh Nugroho AW, Rendy L dan Dwijayanthi L. Jakarta: EGC, 2010
- Katzung BG. (2002). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Penerjemah dan Editor: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Erlangga. Edisi VIII. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

- Kim H., Kong H., Choi B., Yang Y., Kim Y., Lim ML., Neckers L, Jung Y. (2005). Metabolic and Pharmacological Properties of Rutin, a Dietary Quercetin Glycoside, for Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Pharmaceutical Research*, Vol. 22, No. 9, September 2005 (# 2005) DOI: 10.1007/s11095-005-6250-z
- Kiraly AJ., Soliman E. Jenkin A., Van Dross RT. (2016) *Apigenin Inhibits COX-2, PGE2, and EP1 and also Initiates Terminal Differentiation in The Epidermis of Tumor Bearing Mice*. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 104 (2016) 44–53.
- Kouranov A., Xie L., De la Cruz J., Chen L., Westbrook J., Bourne PE., Berman HM. (2006). *The RCSB PDB information portal for structural genomics*. *Nucleic Acids Res.*;34(Database issue): D302-5.DOI: 10.1093/nar/gkj120
- Lacroix I., Lapeyre-Mestre M., Bagheri H., Pathak A., Montastruc JL (2004) Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug-Induced liver injury: a case-control study in primary care. *Fundam Clin Pharmacol*. 2004 Apr;18(2):201-6
- Laughton MJ., Evans PJ., Moroney MA., Hoult JRS., Halliwell B. (1991). Inhibition of Mamalian 5-Lipoxygenase and Cyclo-oxygenase by FlavoNoids and Phenolic Dietary Additives: Relationship to Antioxidant Activity and to Iron Ion-Reducing Ability. *Biochemical Pharmacology*. Vol. 42. No. 0. pp. 1673-1681. Elsevier
- Leach A., Shoicet B., Peishoff C. (2006). Docking and Scoreing. *J Med Chem*. 49(20), 5851-5855.
- Lednicer D. (2011) *Steroid chemistry at a glance*. Chichester, West Sussex, U.K: Wiley,
- Liao C., Sitzmann M., Pugliese A., Nicklaus MC., (2011) Software and resources for computational medicinal chemistry. *Future Med Chem*. 2011 June; 3(8): 1057–1085. doi:10.4155/fmc.11.63
- Lin Y., Shi R., Wang X., Shen HM.(2008) Luteolin, a Flavonoid with Potential for Cancer Prevention and Therapy. *Curr Cancer Drug Target* 2008;8(7):634-46.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ (2001). "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings".*Adv. Drug Deliv. Rev.*46 (1-3): 3–26. doi:[10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0). PMID [11259830](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11259830/)
- Manitto P. (2002). *Biosintesis Produk Alami*. Penerjemah dan Editor: Koensoermardiyah., Sudarto B. Semarang: Penerbit IKIP Semarang Press.
- Markham KR., (1989) *Flavones, Flavonol and Their Glycosides*. Chemistry Divison, D.S.I.R., Petone, New Zealand.

- Martel-Pelletier J., Pelletier JP., Fahmi H. (2003) Cyclooxygenase-2 and Prostaglandins in Articular Tissues. *Semin Arthritis Rheum.* 2003 Dec;33(3):155-67. Elsevier
- Mateo C., Palomo JM., Fernandez-Lorente G., Guisan JM., Fernandez-Lafuente R. (2007). *Improvement of Enzyme Activity, Stability and Selectivity Via Immobilization Techniques.* *Enzyme and Microbial Technology* 40 1451–1463. Elsevier
- McGarvey DJ & Croteau R (1995) *Terpenoid Metabolism.* *Plant Cell* 7: 1015–1026
- Moghadam-Kia, S., & Werth, V. P. (2010). Prevention and Treatment of Systemic Glucocorticoid Side Effects. *International Journal of Dermatology*, 49(3), 239–248. <http://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2009.04322.x>
- Mutschler E. (1991). *Arzneimittelwirkungen*, Terjemahan: *Dinamika Obat* oleh: Mathilda B. dan Anna S.R. Bandung: Penerbit ITB.
- Ng, R. (2008). *Drugs: From Discovery to Approval*, 2nd edn. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey.
- Orlando BJ., Malkowski MG. (2016) Substrate-selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by Fenamic Acid Derivatives Is Dependent on Peroxide Tone. *J Biol Chem.* 2016 Jul 15;291(29):15069-81. doi: 10.1074/jbc.M116.725713
- Parhiz H., Roohbakhsh A., Soltani F., Rezaee R., Iranshah M. (2014). REVIEW: Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of the Citrus Flavonoids Hesperidin and Hesperetin: An Updated Review of their Molecular Mechanisms and Experimental Models. *PHYTOTHERAPY RESEARCH Phytother. Res.* (2014) John Wiley & Sons, Ltd.
- Peterson J., Dwyer J. (1998). Flavonoids: Dietary Occurrence and Biochemical Activity. *Nutrition Research*, Vol. 18. No. 12. pp. 1995-2018.1998. Elsevier Science Inc.
- Roy K., Kar S., Das RN. (2015) *Understand Basic of QSAR for Application in Pharmaceutical Science and Risk Assessment.* Academic Press p47-80. Elsevier
- Satoskar RR, Shah SJ, SheNoy SG (1986). Evaluation of Antiinflammatory Property of Curcumin (Diferuloyl Methane) in Patients with Postoperative Inflammation. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol*; 24: 651-654
- Satterfield M. & Brodbelt JS (2001). Structural Characterization of Flavonoid Glycosides by Collisionally Activated Dissociation of Metal Complexes. *J Am Soc Mass Spectrom* 2001, 12, 537–549.
- Setiajidi MA., (2012) *Analisis Dinamika Molekuler Hasil Docking Molekul Kompleks Siklooksigenase-2 dengan Beberapa Senyawa 3-fenil-stiril(3H)-*

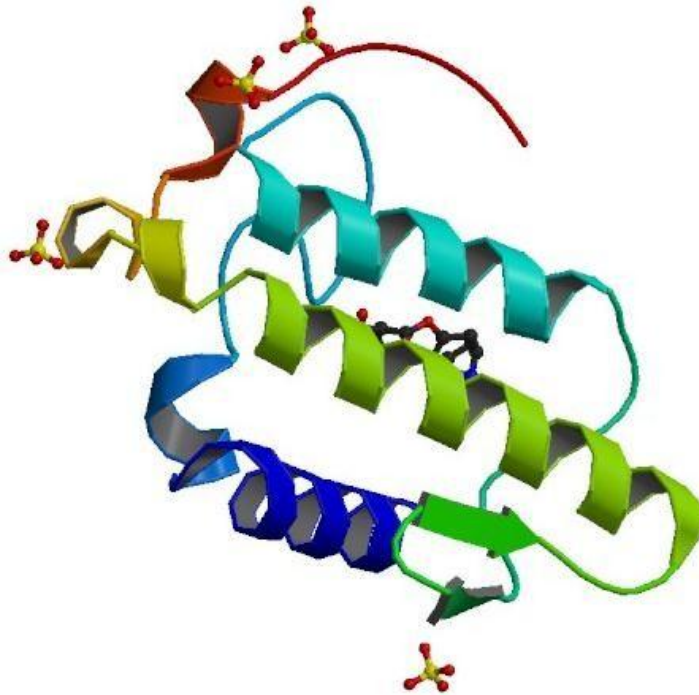
kuinazolinon Tersubstitusi Sulfonamida atau Sulfasetamida. Fakultas MIPA UI. Depok

- Simanjuntak P. (2011) *Strategi Pencarian Senyawa Bioaktif Baru Dari Sumber Bahan Alami Tumbuhan*. Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jagakarsa, Jakarta
- Singh, N., Jabeen, T., Pal, A., Sharma, S., Perbandt, M., Betzel, C., Singh, T.P. (2006) *Crystal Structures of The Complexes of a Group IIA Phospholipase A2 with Two Natural Anti-inflammatory Agents, Anisic acid, and Atropine Reveal a Similar Mode of Binding*. *Proteins* 64: 89-100
- Singh M., Kaur M., Silakari O., (2014). *Flavones: An Important Scaffold for Medicinal Chemistry*. doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.013.
- Singh S., Khar A. (2006) *Biological Effects of Curcumin and Its Role in Cancer Chemoprevention and Therapy*. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 6, 259-270
- Skibola CF, Smith MT. (2000). Potential Health Impacts of Excessive Flavonoid intake. *Free Rad Biol Med* 29:375-383. Blackwell
- Subramanian SS., Nagatwan S., Sulochana N. (1971) Euphorbiaceae: Flavonoid of Some Euphorbiaceous Plants. *Phytochemistry*, Vol. 10, Pergamon Press pp. 2548-2549.
- Syahdi RR. (2009). *Penambatan Molekuler Beberapa Senyawa Analog Kurkumin Turunan Dibenzilidenasikloheksanon pada Siklooksigenase-2*. FMIPA UI. Depok.
- Szucs I., Escobar M., and Grodzinski B,. (2011) *Emerging Roles for Plant Terpenoids*. University of Guelph, Guelph, ON, Canada
- Takano-Ishikawa Y., Goto M., Yamaki K. (2006) *Structure–Activity Relations of Inhibitory Effects of Various Flavonoids on Lipopolysaccharide-Induced Prostaglandin E2 Production in Rat Peritoneal Macrophages: Comparison Between Subclasses of Flavonoids*. *Phytomedicine* 13 page 310–317
- Taylor JB., Kennewel PD., (1993) *Modern Medicinal Chemistry*. Ellis Horwood Series in Pharmaceutical Technology. Chichester. West Sussex. Great Britain
- The PyMOL Molecular Graphics System, Version 1.3, Schrödinger, LLC.
- Thuresson ED., Karen M., Lakkides., Rieke CJ., Sun Y., Wingerd BA., Micielli R., Mulichak AM., Malkowski MG., Garavito RM., Smith WL., (2000) Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-1: The Function of Cyclooxygenase Active Site Residue in the Binding, Positioning and Oxygenation of Arachidonic Acid. *J Biol. Chem* doi:10.1074/jbc.M009377200

- Tjay, T.H., Rahardja, K. (2002). *Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Ukiya, M., Akihisa, T., Yasukawa, K., Tokuda, H., Toriumi, M., Koike, K., Kimura, Y., Nikaido, T., Aoi, W., NishiNo, H., Takido, M., (2002) *J.Nat.Prod.*65,179-183.
- Vinuchakkaravarthy T., Kumaravel KP., Ravichandran S., Velmurugan D. (2011) Active Compound from The Leaves of *Vitex negundo* L. Shows Anti-inflammatory Activity with Evidence of Inhibition for Secretory Phospholipase A2 Through Molecular Docking. [*Bioinformation*. 2011;7\(4\):199-206. Epub 2011 Oct 14.](#)
- Yin D., Wakimoto N., Xing H., Lu D., Huynh T., Wang X., Black KL., Koeffler HP., (2008) Cucurbitacin B Markedly Inhibits Growth and Rapidly Affects The Cytoskeleton in Glioblastoma Multiforme. *Int J Cancer*.**123(6):1364-75. doi:10.1002/ijc.23648.**
- Yuan G., Wahlqvist ML., He G., Yang M., Li D. (2006) Natural Products and Anti-Inflammatory Activity. *Asia Pac J Clin Nutr* ;15 (2): 143-152
- Yulianti, K.S. 2010. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kulit Kacang Tanah (Arachis hypogaea L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Karagenin*. Skripsi. Surakarta: Fakultas Farmasi Muhammadiyah Surakarta.
- Yulistia Budianti Soemarie (2016). Uji Aktivitas Antiinflamasi Kuersetin Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*). *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1(2), 163-172
- Zanger U.M., Schwab M. (2013) *Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism: Regulation of Gene Expression, Enzyme Activities, and Impact of Genetic Variation*. *Pharmacology & Therapeutics* 138 103–141
- Zamri RJ. (2008). *Validasi Metode Penentuan Kadar Apigenin Dalam Ekstrak Seledri Dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi*. Departemen Kimia FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Zhong, J. (2011) *Plant Secondary Metabolites*. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology*, Wiley, Volume 6, pp. 3883–3819

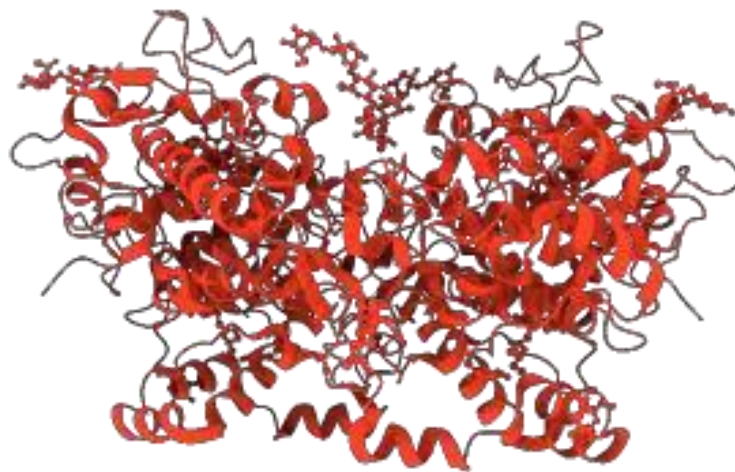
LAMPIRAN

Lampiran 1 Struktur 3D Makromolekul 2ARM (PLA₂), 2OYE (COX-1) dan 5KIR (COX-2)



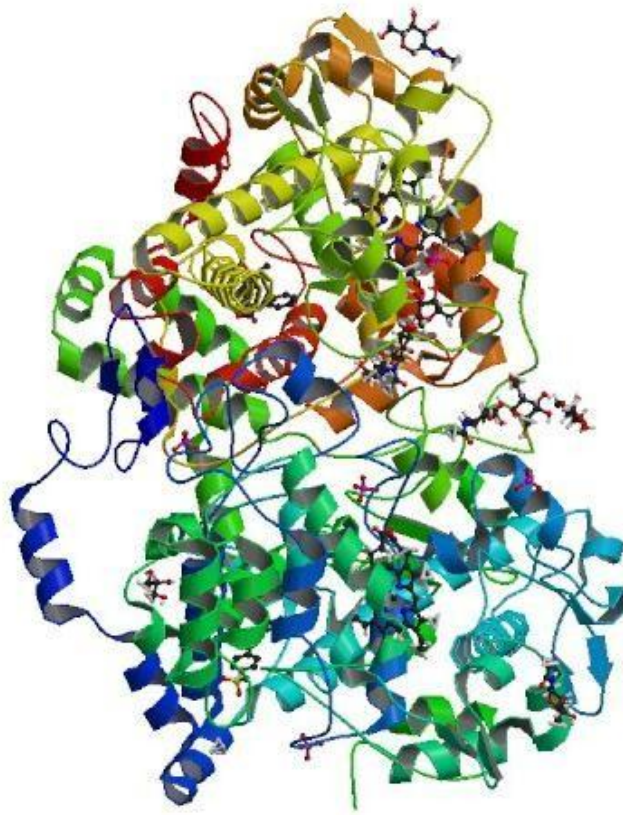
Struktur 3D PLA₂ dengan PDB ID 2ARM

(Sumber : www.rcsb.org)



Struktur 3D COX-1 dengan PDB ID 2OYE

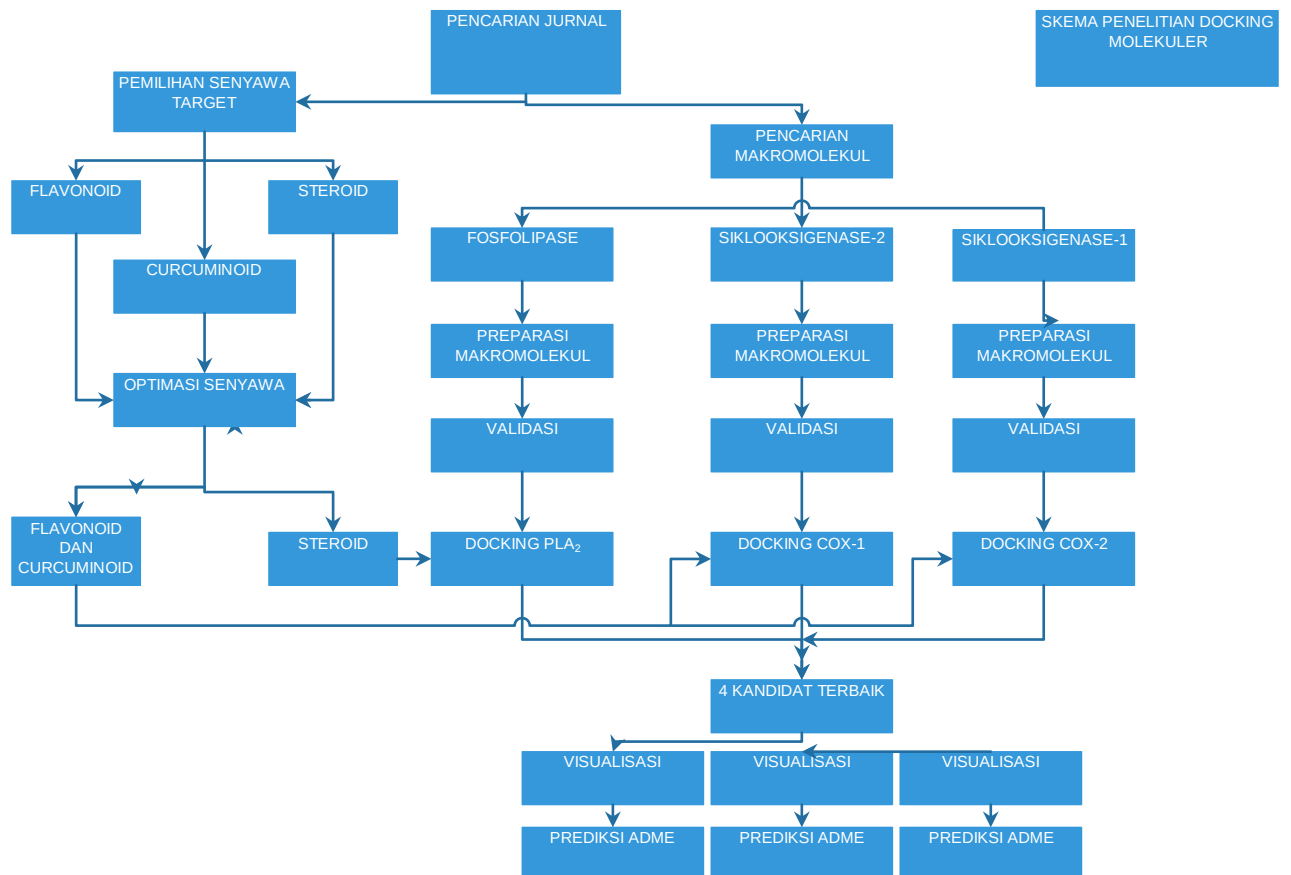
(Sumber : www.rcsb.org)



Struktur 3D COX-2 dengan PDB ID 5KIR

(Sumber : www.rcsb.org)

Lampiran 2 Alur penelitian Molecular Docking



Lampiran 3 Prosedur Kerja *Molecular Docking* dengan PyRx

a. Penyiapan Protein

1. Pengunduhan makromolekul dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Identitas molekul tersebut yaitu 2ARM (PLA₂), 2OYE (COX-1), dan 5KIR (COX-2). Data makromolekul diunduh dalam format .pdb.

The image displays two screenshots of the RCSB PDB website, illustrating the process of downloading protein structures for molecular docking.

Top Screenshot: Protein 2ARM

- Structure:** Crystal Structure of the Complex of Phospholipase A2 with a natural anti-inflammatory agent, anisic acid, and atropine reveal a similar mode of binding.
- DOI:** 10.2210/pdb2arm/pdb
- Classification:** HYDROLASE
- Deposited:** 2005-08-20 **Released:** 2005-09-20
- Deposition author(s):** Singh, N., Pal, A., Jabeen, T., Sharma, S., Perbandt, M., B.
- Organism:** Dabolia russelli
- Experimental Data Snapshot:**
 - Method:** X-RAY DIFFRACTION
 - Resolution:** 1.23 Å
 - R-Value Free:** 0.204
 - R-Value Work:** 0.189
- wwPDB Validation:**
 - Metric:** Clashescore (0.0), Ramachandran outliers (0.0%), Sidechain outliers (4.8%).
- Literature:** Crystal structures of the complexes of a group IIA phospholipase A2 with two natural anti-inflammatory agents, anisic acid, and atropine reveal a similar mode of binding. Singh, N., Jabeen, T., Pal, A., Sharma, S., Perbandt, M., Betzel, C., Singh, T.P.
- Download Files:** A dropdown menu is open, showing options: FASTA Sequence, PDB Format, PDB Format (gz), PDBx/mmCIF Format, PDBx/mmCIF Format (gz), PDBML/XML Format (gz), and Biological Assembly (PDB format - gz) (A).

Bottom Screenshot: Protein 2OYE

- Structure:** Indomethacin-(R)-alpha-ethyl-ethanolamide bound to Cyclooxygenase-1.
- DOI:** 10.2210/pdb2oye/pdb
- Classification:** OXIDOREDUCTASE
- Deposited:** 2007-02-21 **Released:** 2007-07-24
- Deposition author(s):** Harman, C.A., Garavito, R.M.
- Organism:** Ovis aries
- Mutation(s):** 1
- Experimental Data Snapshot:**
 - Method:** X-RAY DIFFRACTION
 - Resolution:** 2.85 Å
 - R-Value Free:** 0.292
 - R-Value Work:** 0.245
- wwPDB Validation:**
 - Metric:** Clashescore (0.0), Ramachandran outliers (7.6%), Sidechain outliers (1.1%), RSRZ outliers (0.0%).
- Literature:** Structural basis of enantioselective inhibition of cyclooxygenase-1 by S-alpha-substituted indomethacin ethanolamides.
- Download Files:** A dropdown menu is open, showing options: FASTA Sequence, PDB Format, PDB Format (gz), PDBx/mmCIF Format, PDBx/mmCIF Format (gz), PDBML/XML Format (gz), Structure Factors (CIF), Structure Factors (CIF - gz), and Biological Assembly (PDB format - gz) (A+S).

RCSB PDB | Deposit | Search | Visualize | Analyze | Download | Learn | More | MyPDB Login

Structure Summary | 3D View | Annotations | Sequence | Sequence Similarity | Structure Similarity | Experiment

5KIR

The Structure of Vioxx Bound to Human COX-2

DOI: 10.2210/pdb5kir/pdb

Classification: **OXIDOREDUCTASE**

Deposited: 2016-06-16 Released: 2016-09-28

Deposition author(s): [Oriando, B.J.](#), [Malkowski, M.G.](#)

Organism: [Homo sapiens](#)

Expression System: [Spodoptera frugiperda](#)

Mutation(s): 1

Experimental Data Snapshot

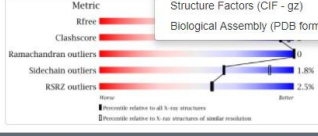
Method: X-RAY DIFFRACTION

Resolution: 2.7 Å

R-Value Free: 0.220

R-Value Work: 0.178

wwPDB Validation

Metric: 

Structure Factors (CIF)

Structure Factors (CIF - gz)

Biological Assembly (PDB format - gz) (A+S)

FASTA Sequence

PDB Format

PDB Format (gz)

PDBx/mmCIF Format

PDBx/mmCIF Format (gz)

PDBML/XML Format (gz)

View in 3D: NGL or JSmol (in Browser)

Standalone Viewers

Simple Viewer Protein Workshop

Ligand Explorer Kiosk Viewer

Protein Symmetry: Cyclic - C2 (View in 3D)

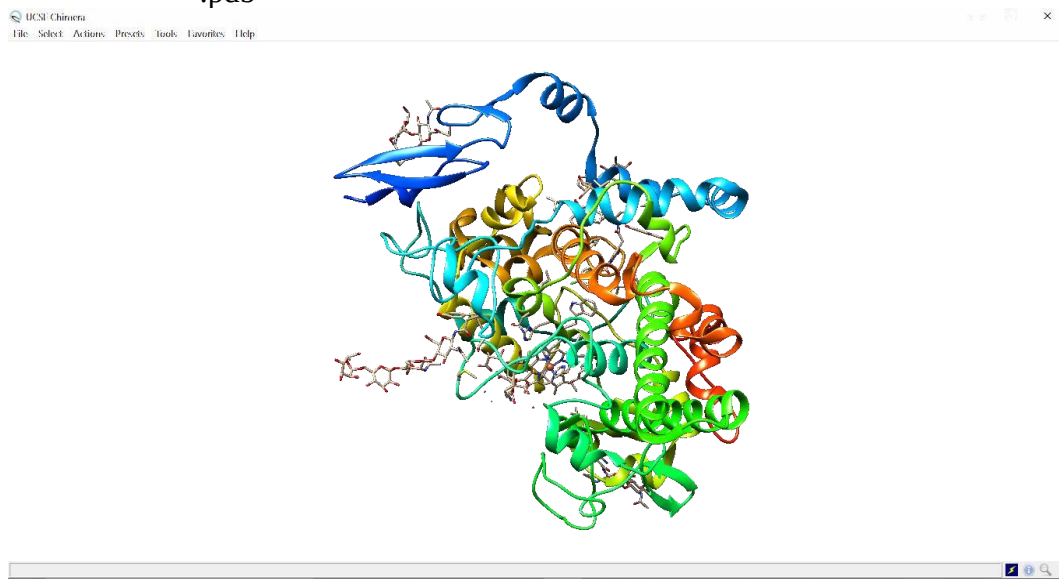
<https://files.rcsb.org/download/5KIR.pdb>

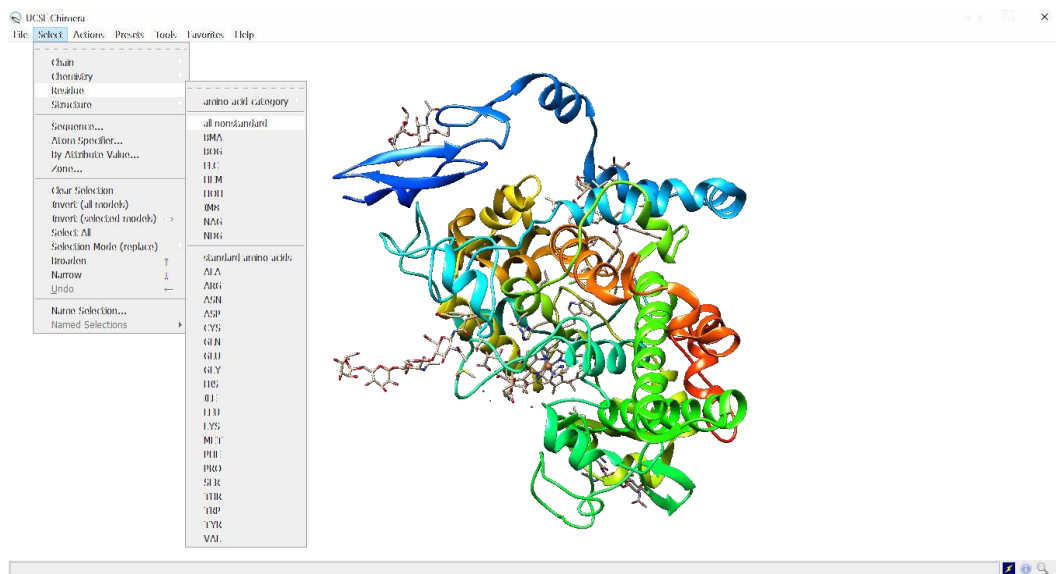
Literature

Download Primary Citation

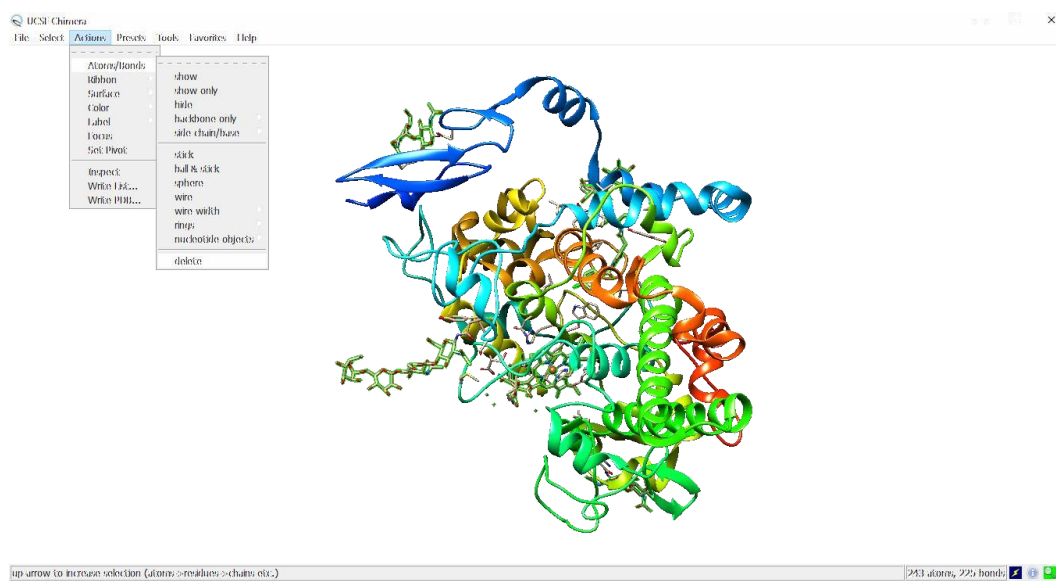
Crystal structure of rofecoxib bound to human cyclooxygenase-2.

2. Pemisahan makromolekul protein dari pelarut dan ligan atau residu non standar dengan chimera. Disimpan dalam format .pdb





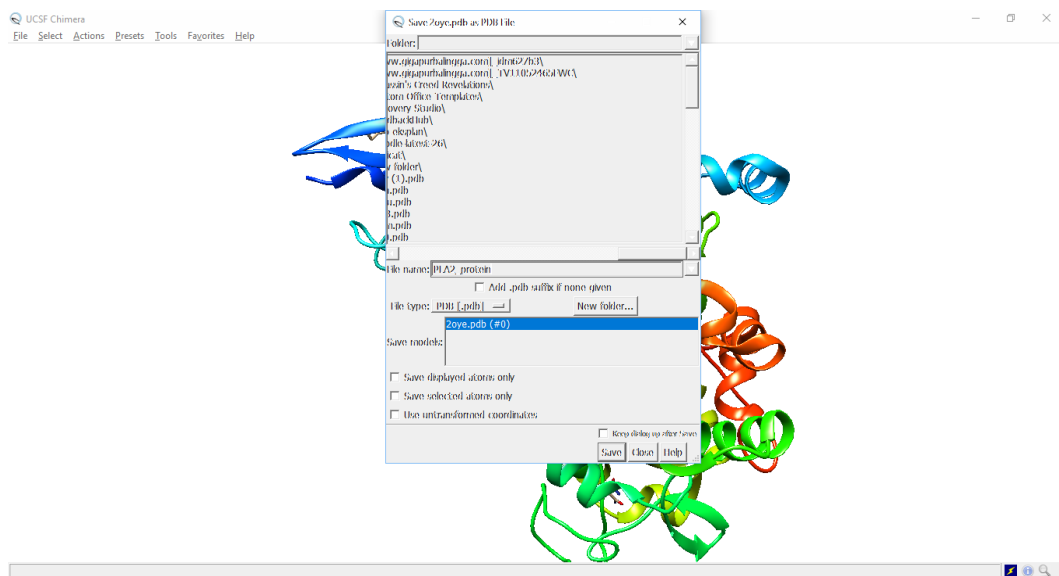
pilih Select ➔ Residue ➔ all nonstandard



pilih _Actions' ➔ Atoms/bonds ➔ delete

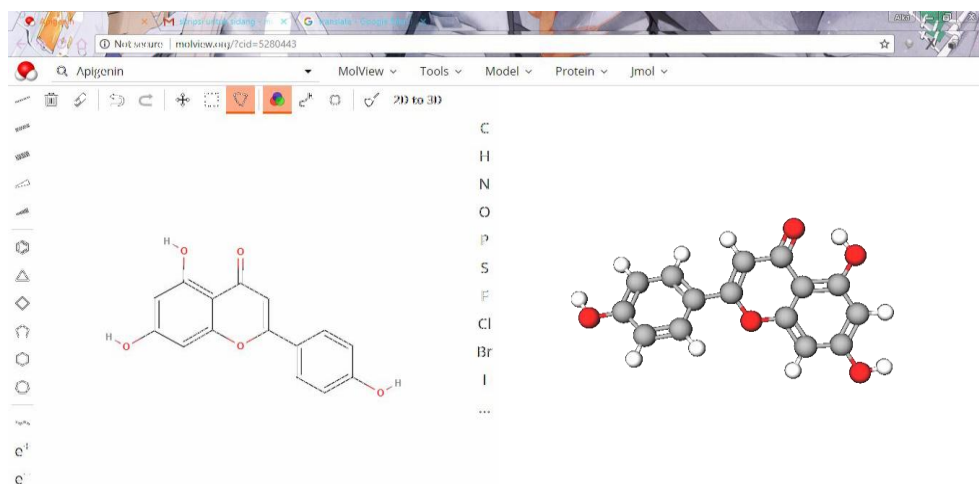


pilih 'File' → Save PDB

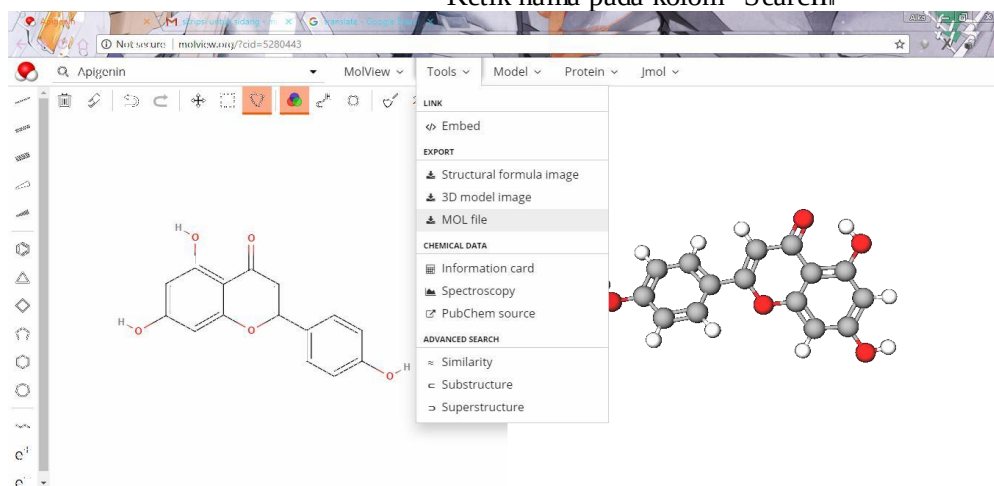


Save As -PLA2 protein.pdb

- b. Penyiapan ligan
 1. Pengunduhan struktur ligan dari situs <http://molview.org> dengan format MOL file.

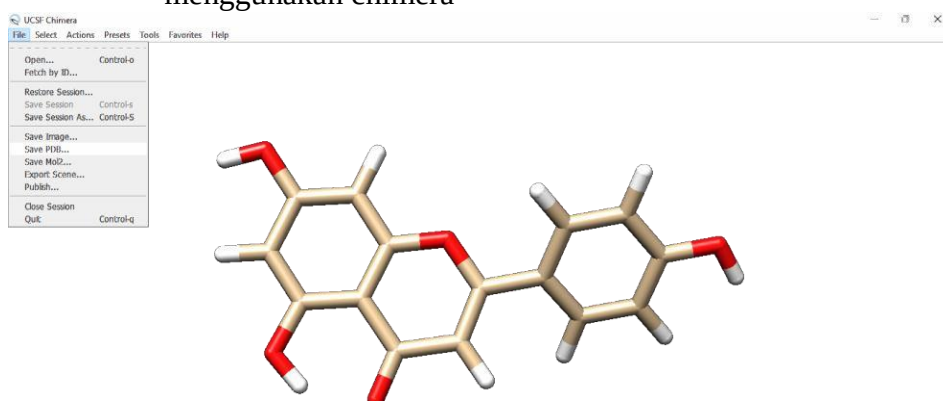


Ketik nama pada kolom -SearchI



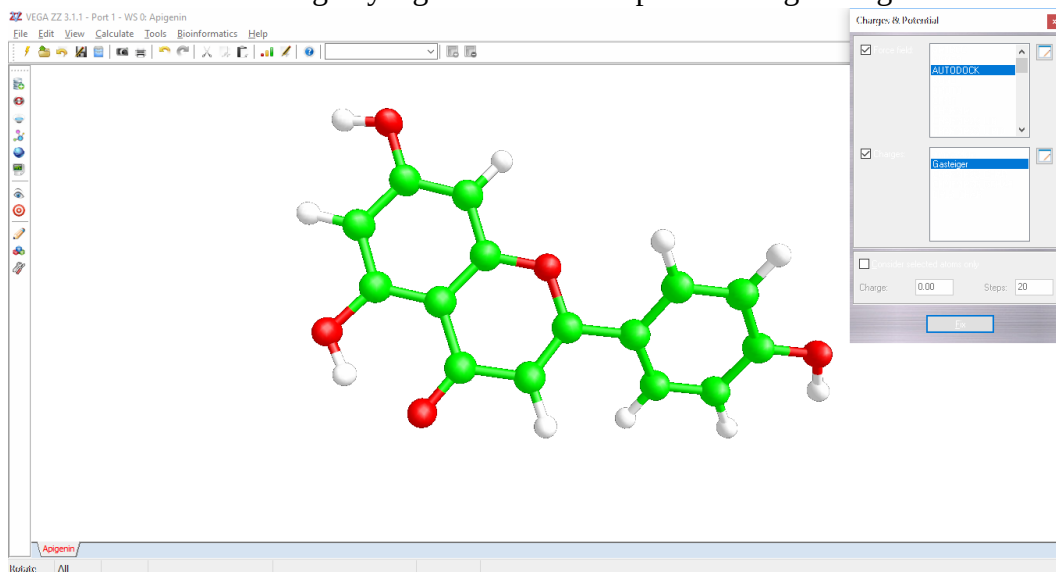
Save as MOL file

2. Format ligan-ligan tersebut diubah menjadi .pdb dengan menggunakan chimera

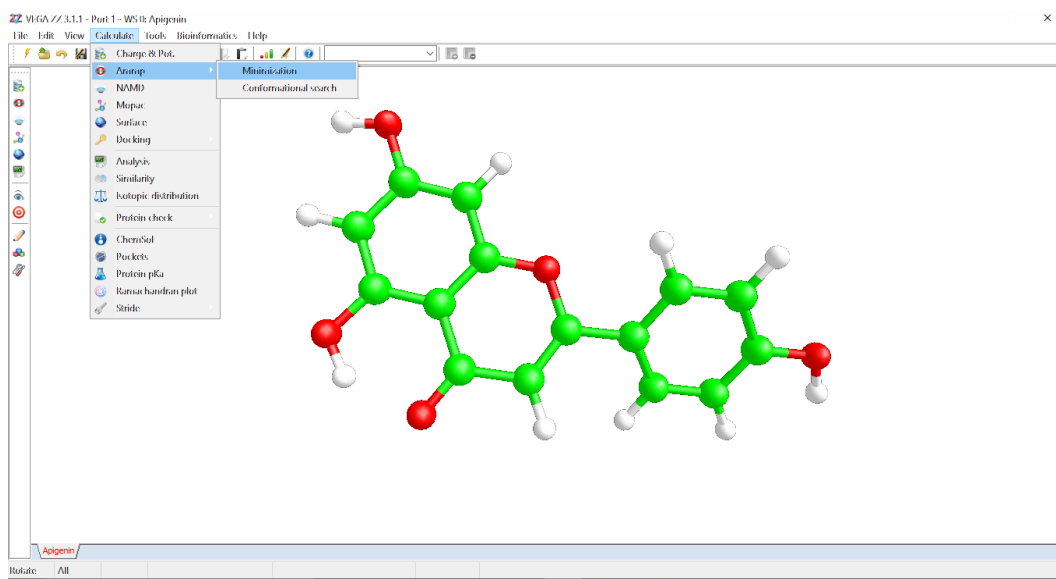


pilih '_File' → Save PDB

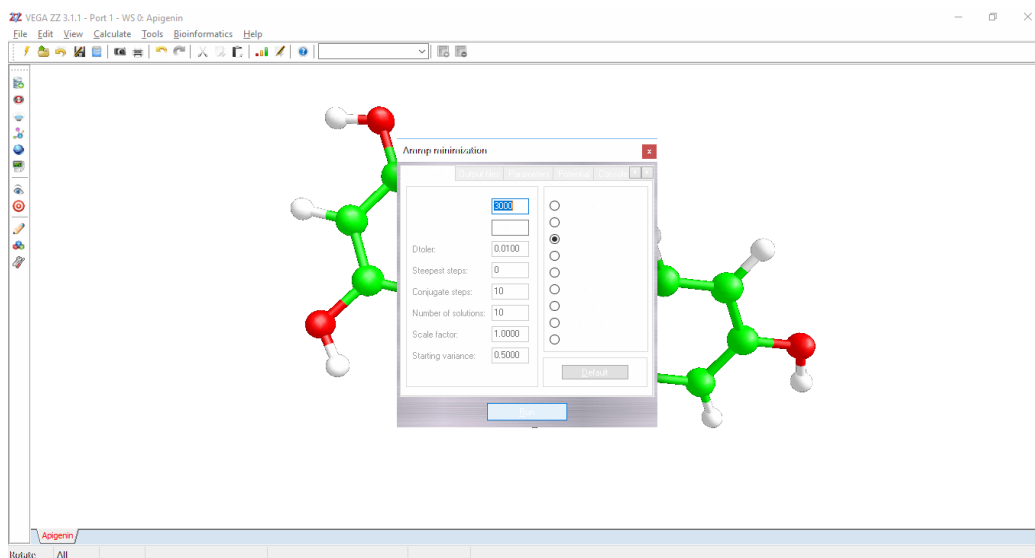
3. Struktur ligan yang telah dibuat dioptimasi dengan VegaZZ



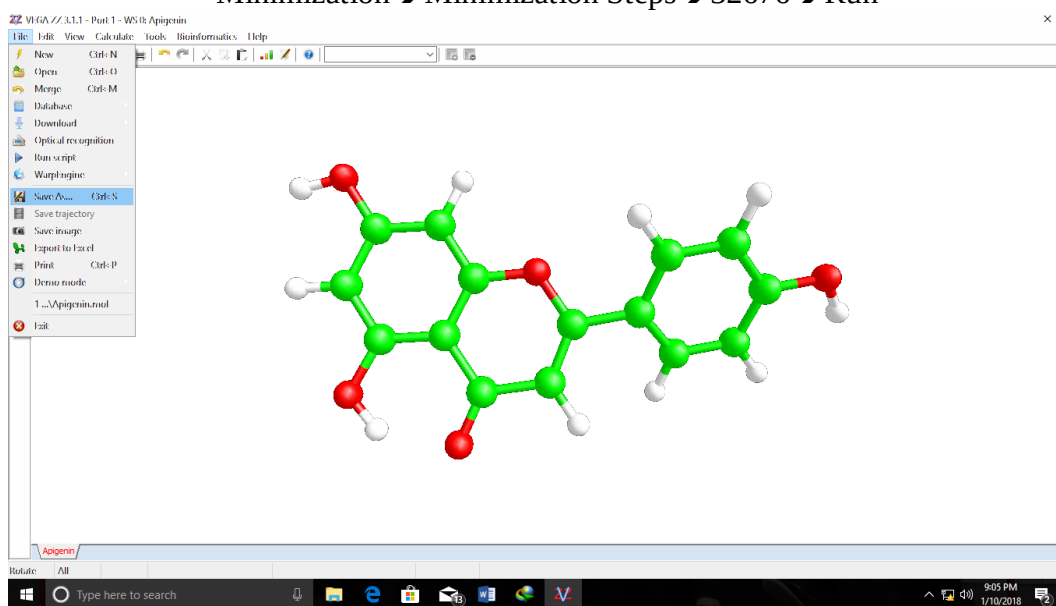
Pilih -Calculate → Charge & Pot. → Pilih forcefield
AUTODOCK → Charge Geisteger → Fix



Pilih -Calculate → Ammp → Minimization



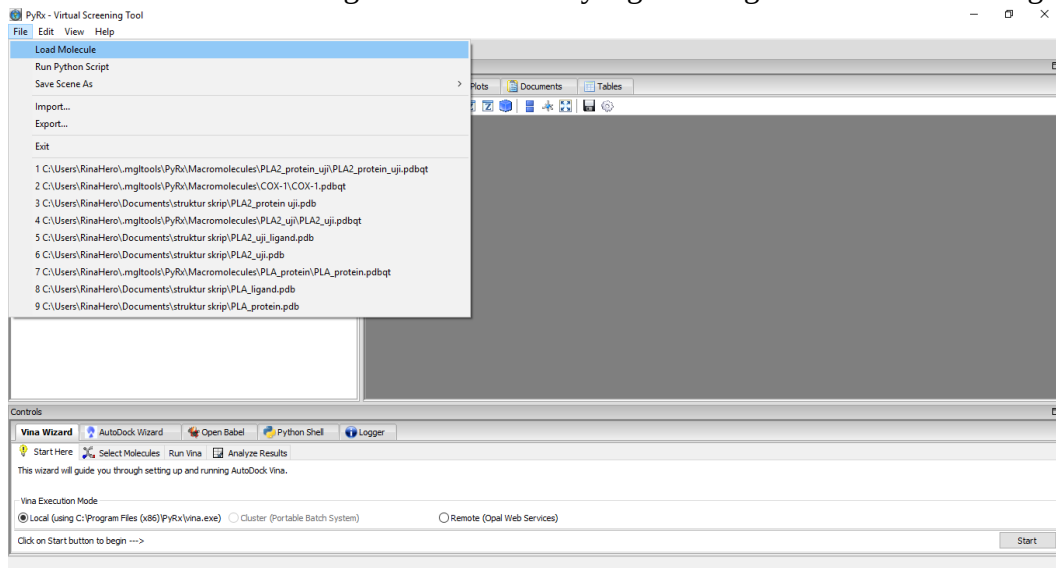
Minimization → Minimization Steps → 32676 → Run



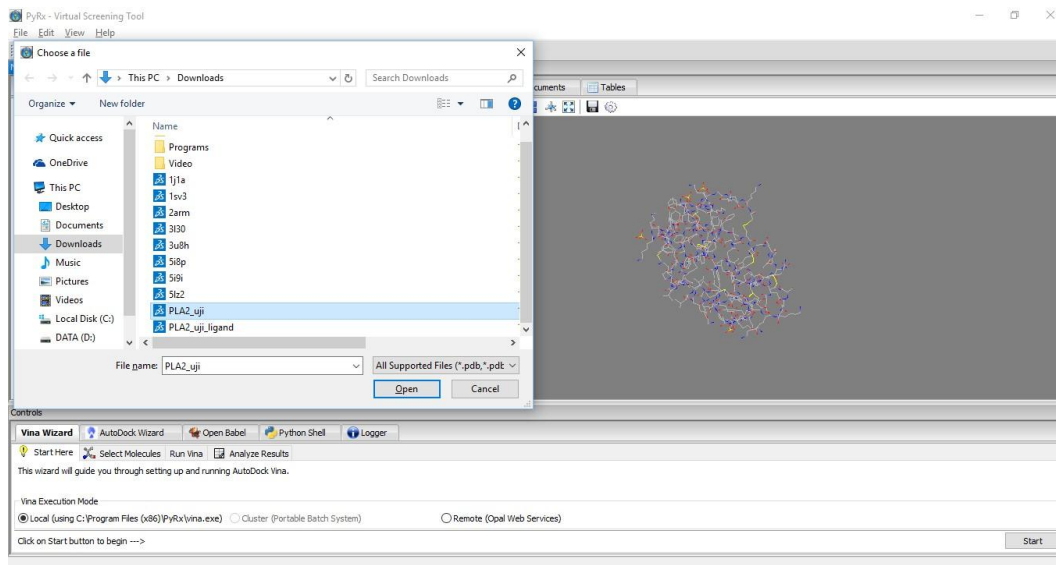
File → Save As - nama file

c. Validasi metode

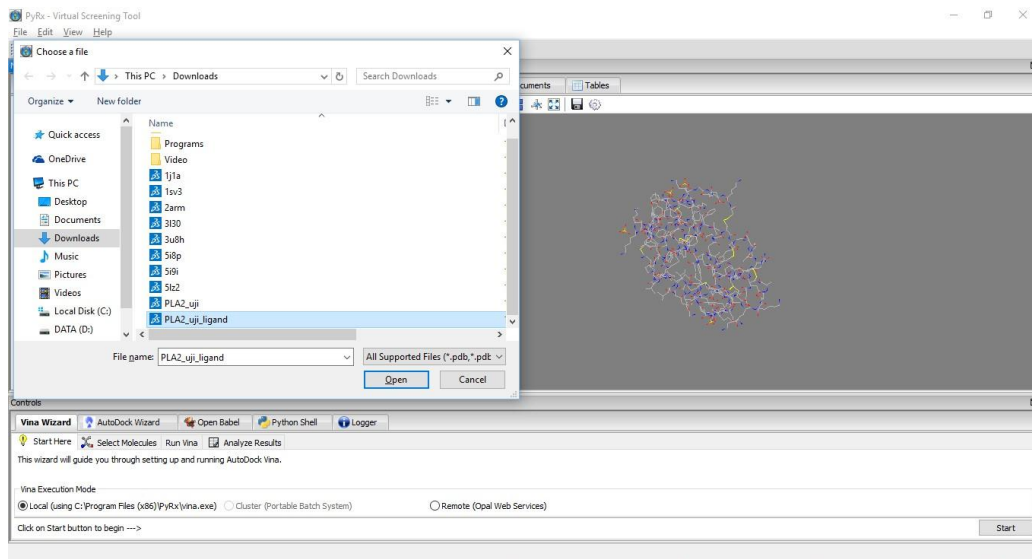
1. Buka File Ligand dan molekul yang akan digunakan untuk docking



Pilih File → Load Molekul

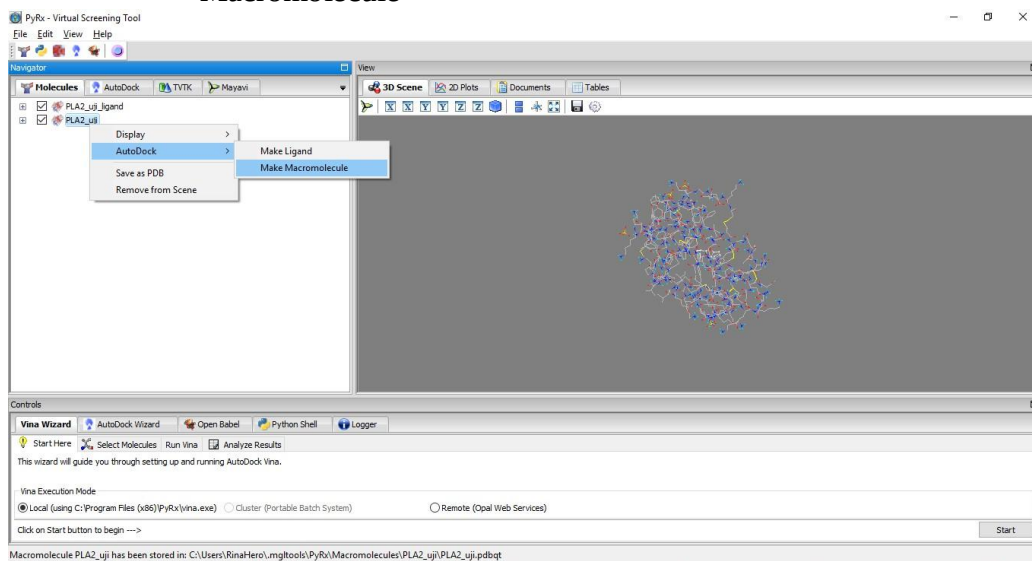


Choose File → makromolekul (PLA_uji) → Open

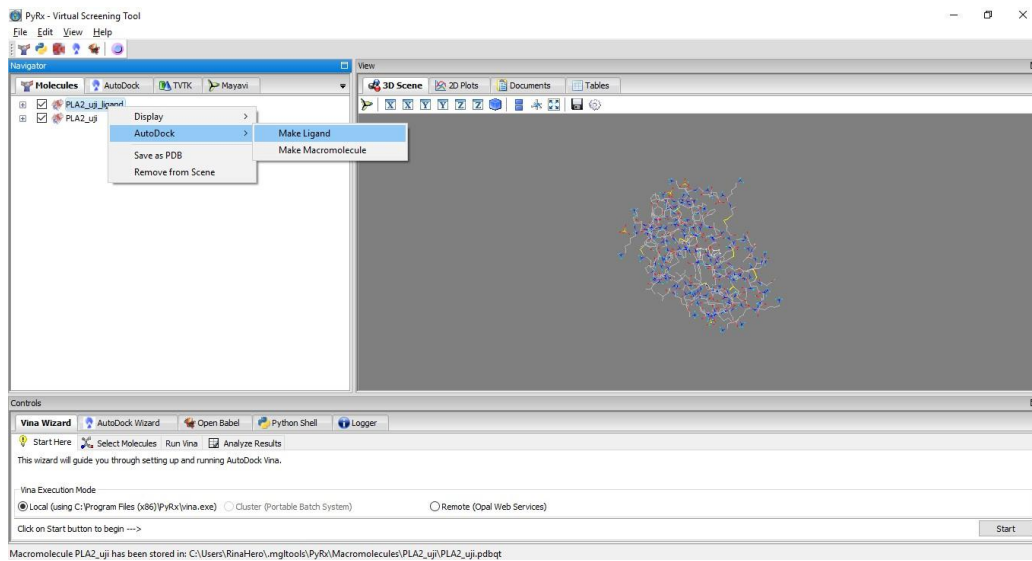


Choose File → ligand (PLA_uji_ligand) → Open

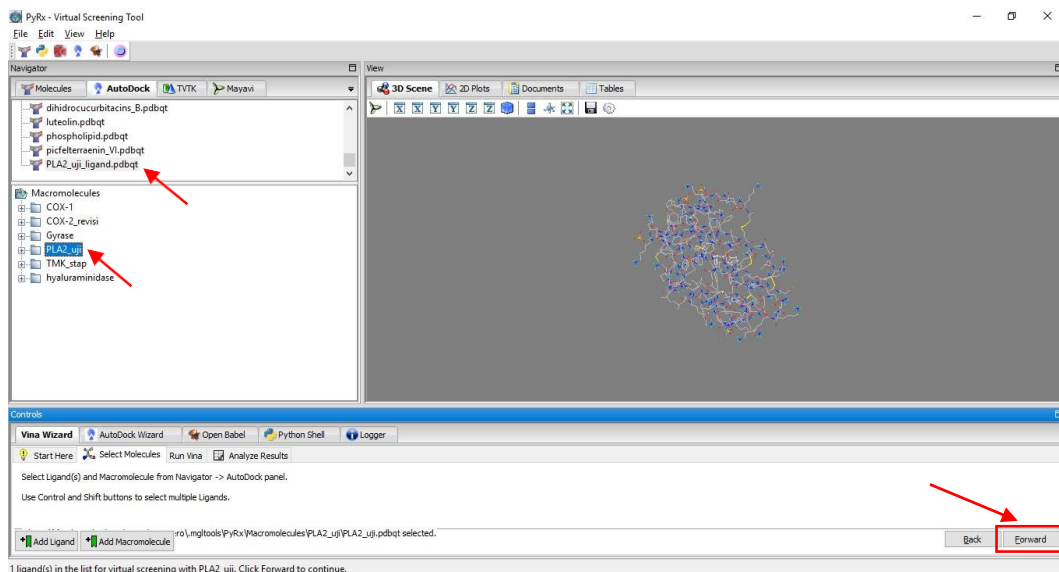
2. Atur Molekul yang muncul pada kotak molekul dan tempatkan senyawa pada posisi ligand dan target docking pada posisi Macromolecule



Klik Kanan File → AutoDock → Make Macromolecule (Makromolekul)

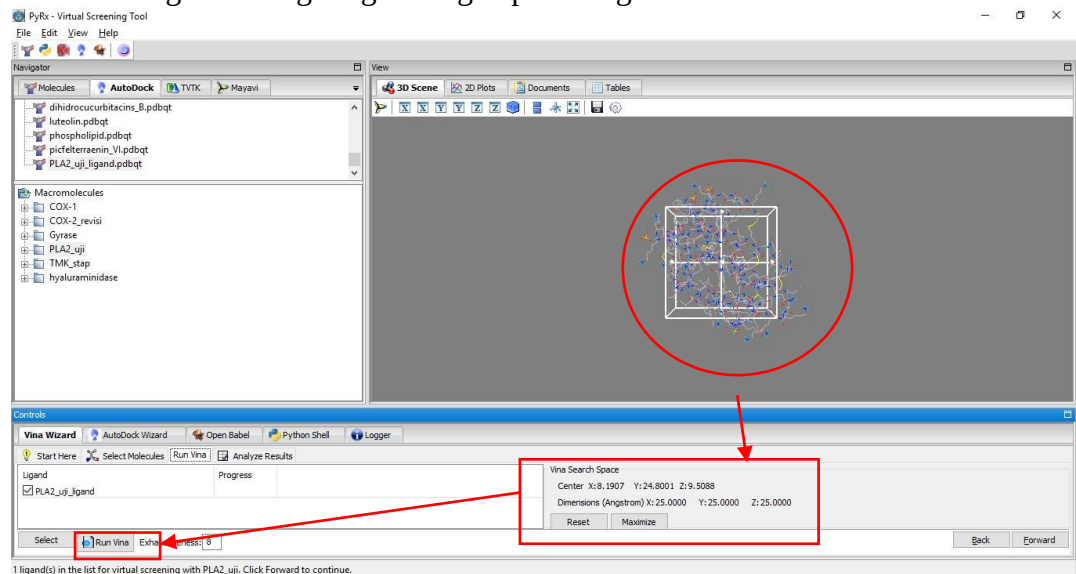


Klik Kanan File → AutoDock → Make Ligand (untuk ligand)



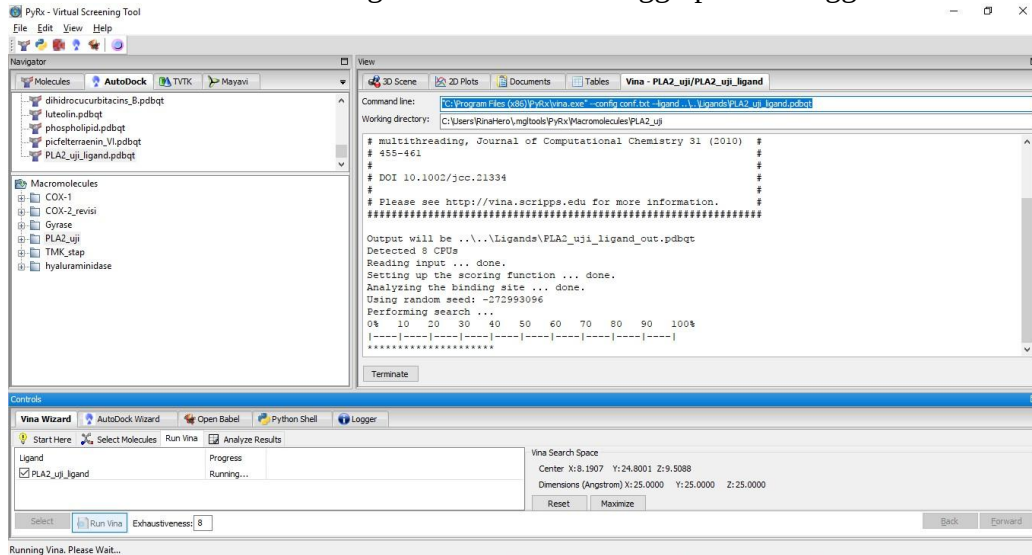
Select Molecule → pilih ligand & macromolecule → Forward

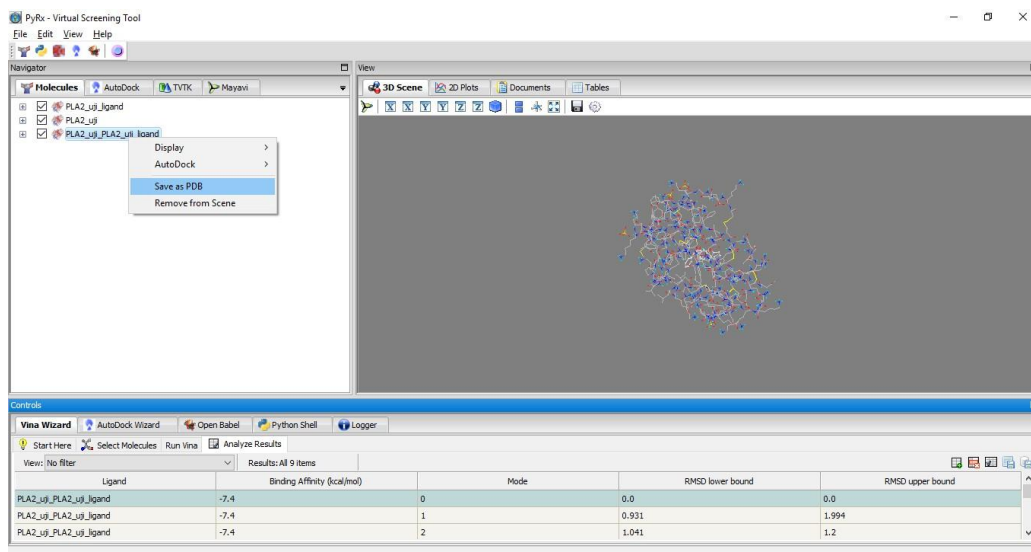
3. Mengatur ruang bergerak ligand pada target



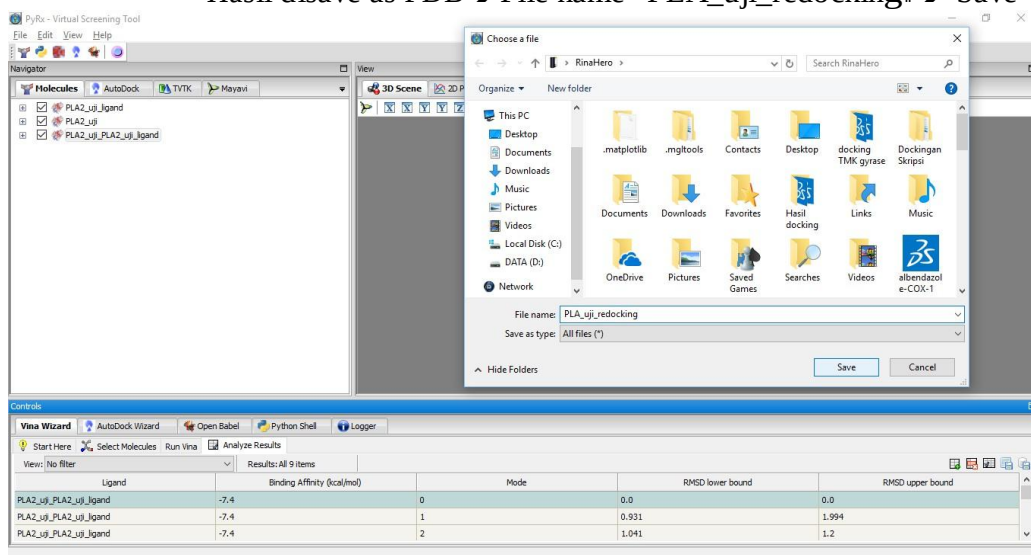
Atur ukuran Gridbox → sesuaikan ukuran dengan melihat
Vina Search
Space → Run
Vina

4. Proses Docking dimulai dan menunggu proses hingga selesai

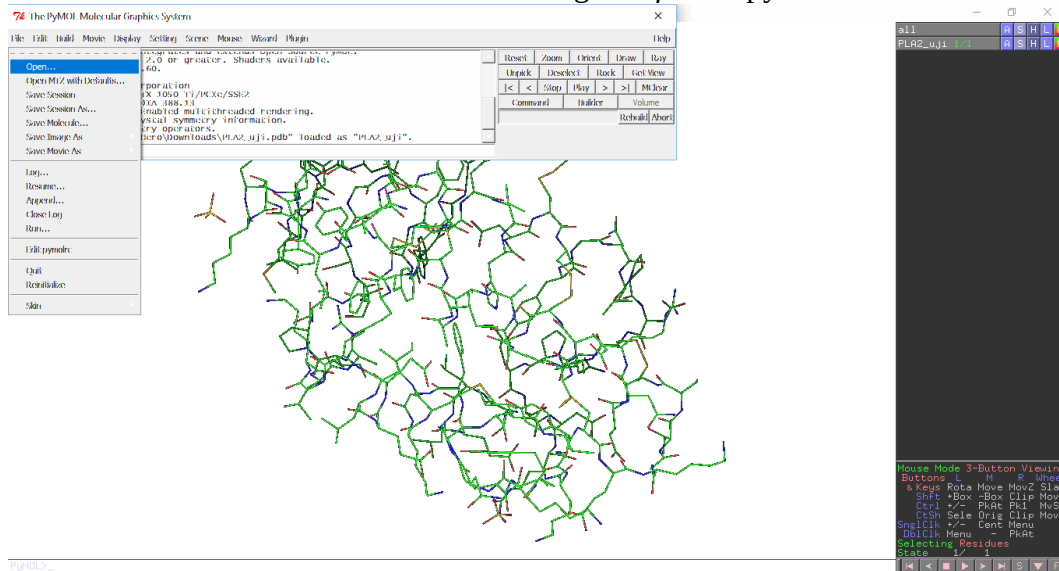




Hasil disave as PDB → File name -PLA_uji_redocking → Save

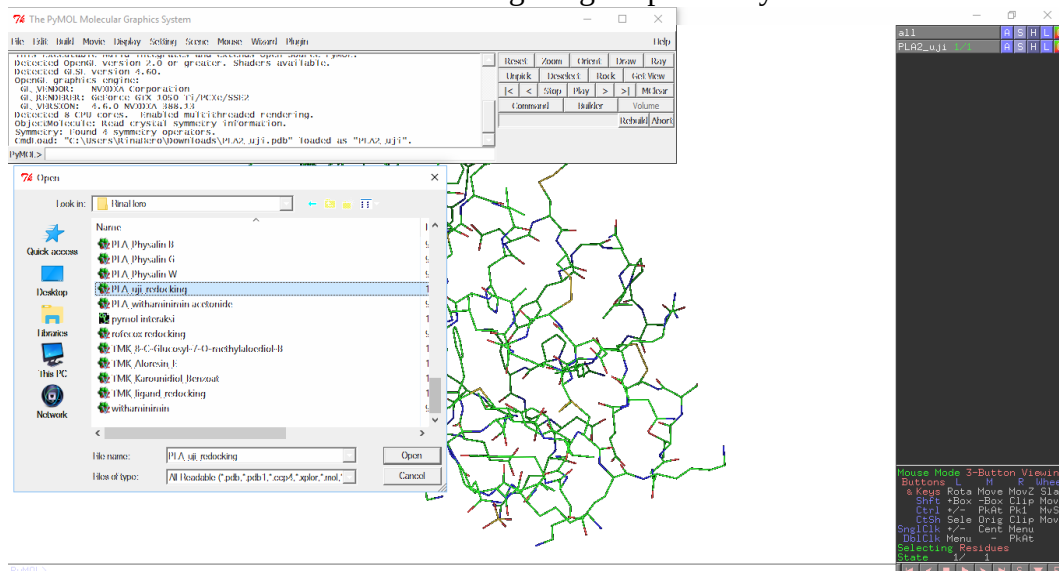


1. Untuk validasi metode dengan software pymol

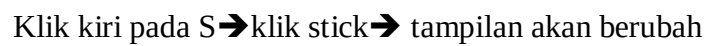


Pilih File → open (untuk mencari ligan untuk membandingkan)

2. Buka file hasil docking dengan aplikasi PyRx

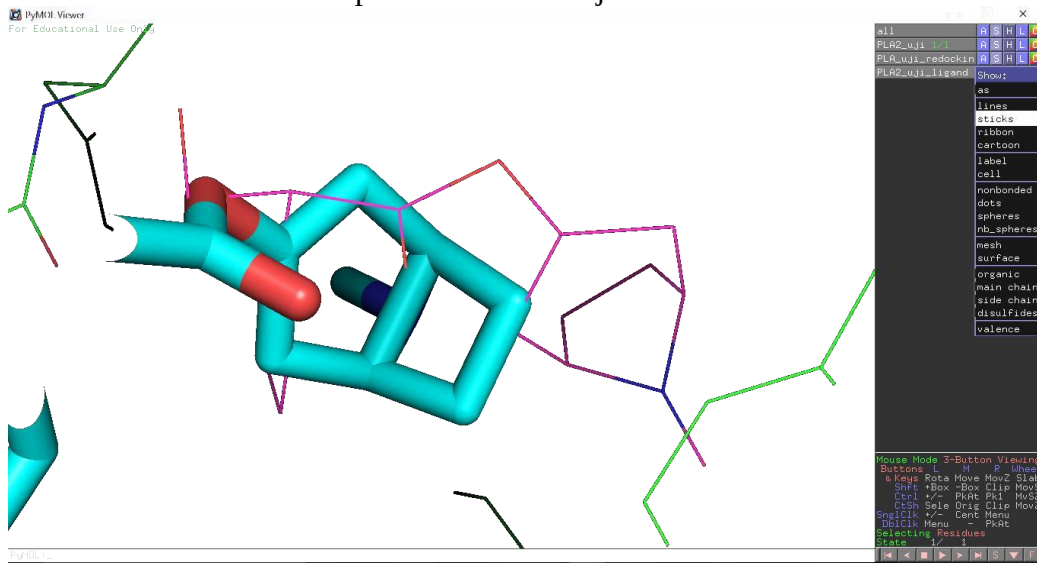


Pilih File → open → PLA_uji_redocking → open



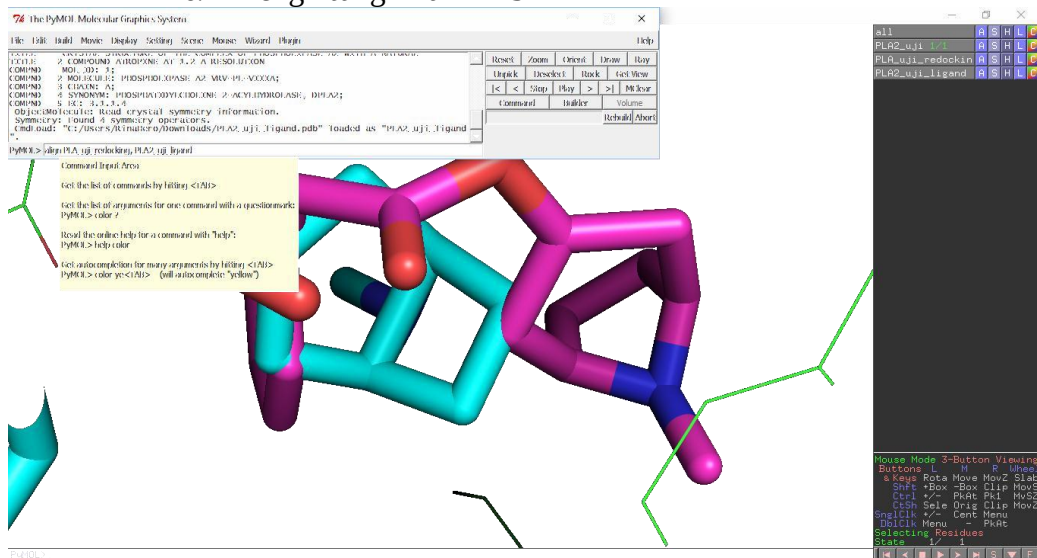
Pilih File→open→PLA2_uji_ligand→open

5. Ubah tampilan dari *line* menjadi *sticks*



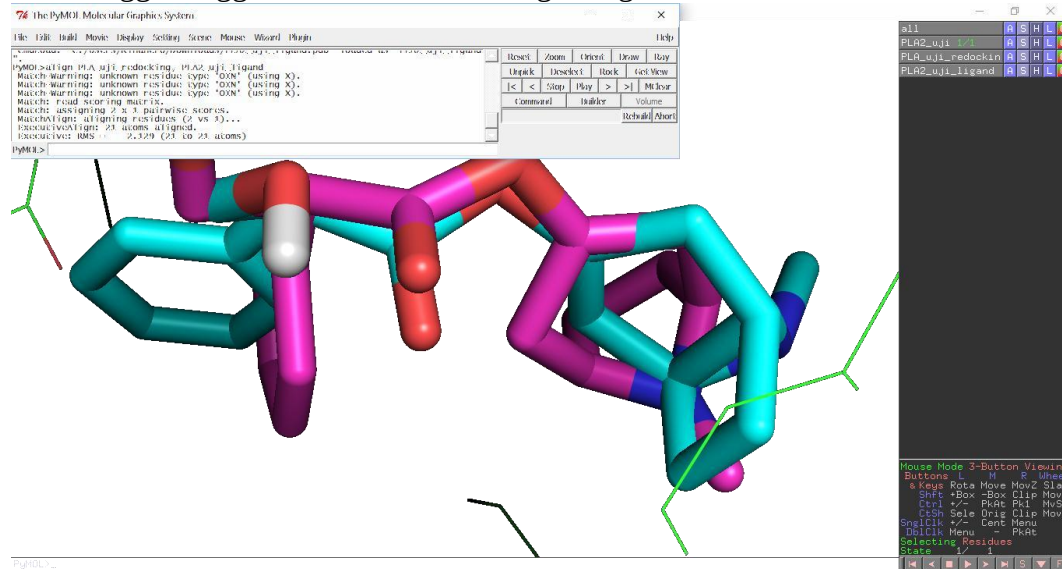
Klik kiri pada S → klik stick → tampilan akan berubah

6. Menghitung nilai RMSD



Pada kolom command ketikan → PyMOL> → align
PLA_uji_redocking, PLA2_uji_ligand

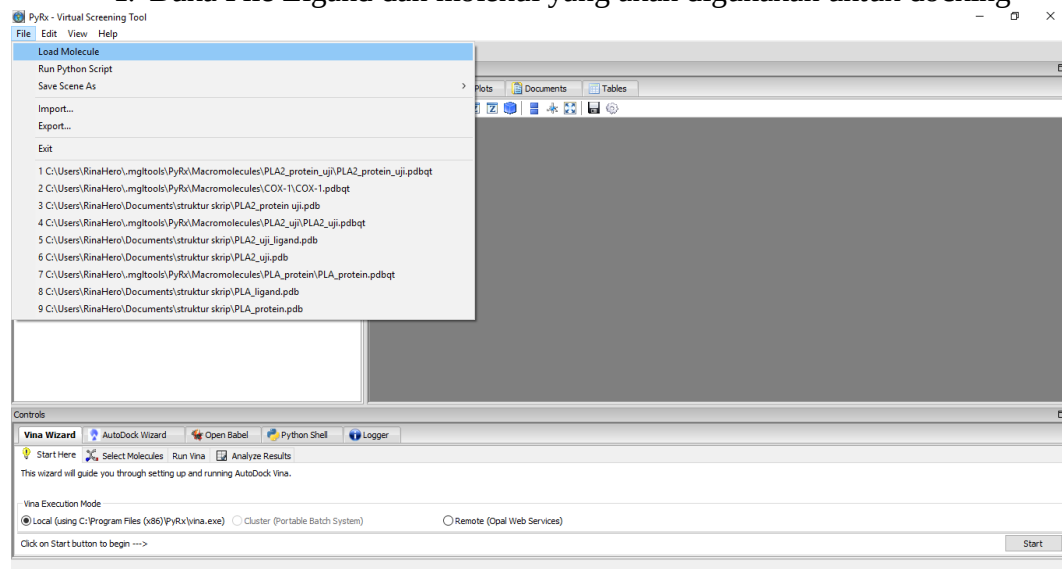
7. Tunggu hingga software selesai menghitung RMSD



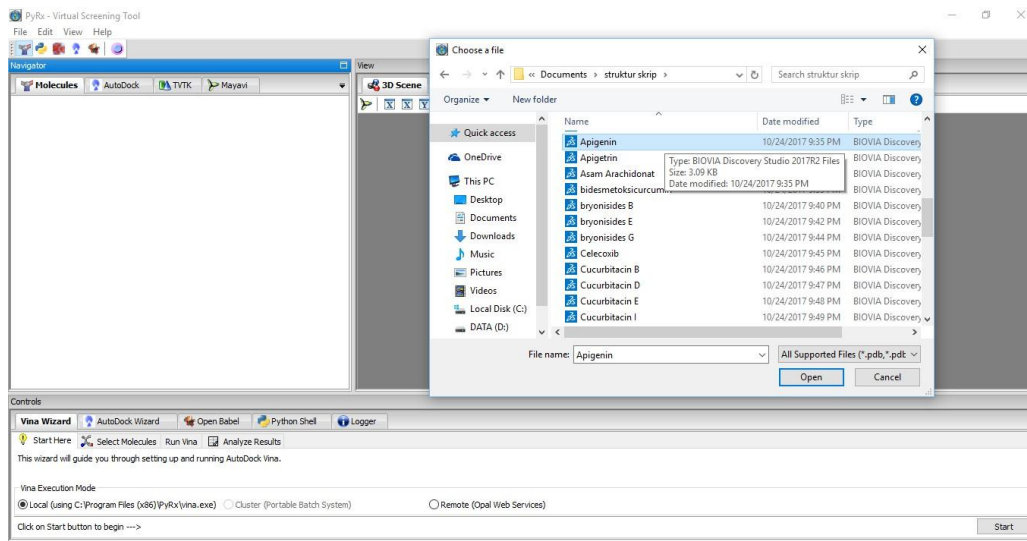
Tampilan saat RMSD selesai dihitung

d. Docking molekul dengan PyRx

1. Buka File Ligand dan molekul yang akan digunakan untuk docking

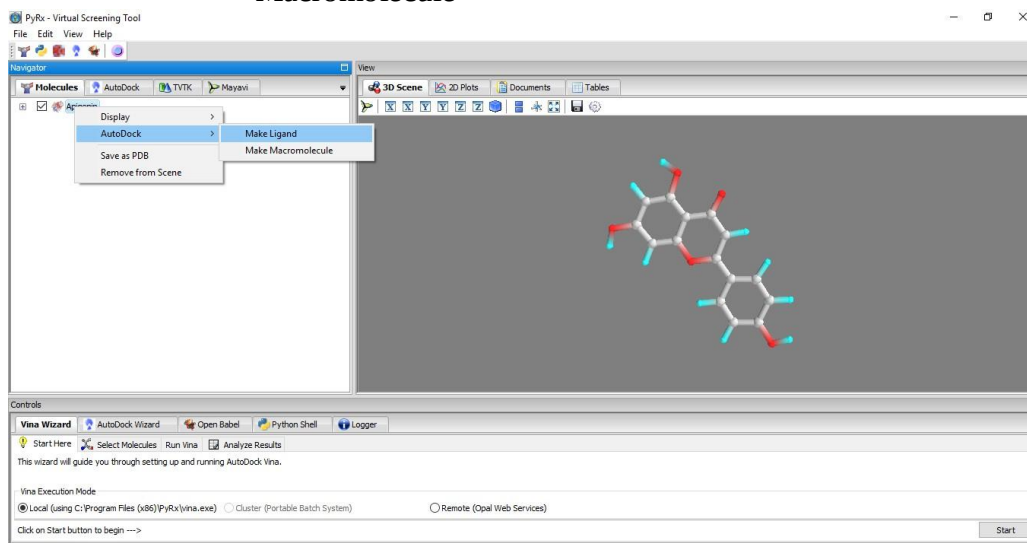


Pilih File → Load
Molekul

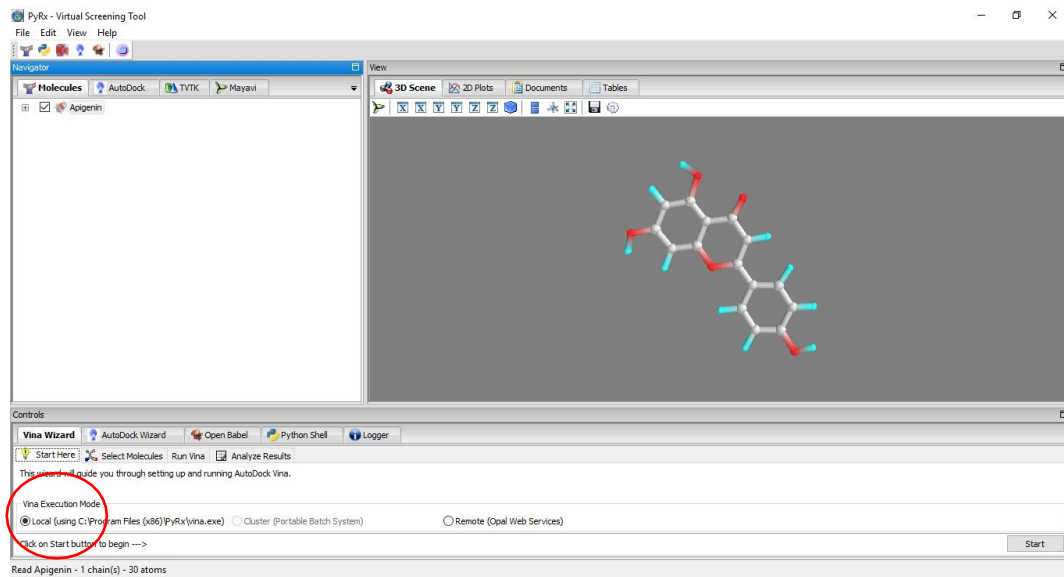


Choose
File→Open

2. Atur Molekul yang muncul pada kotak molekul dan tempatkan senyawa pada posisi ligand dan target docking pada posisi Macromolecule



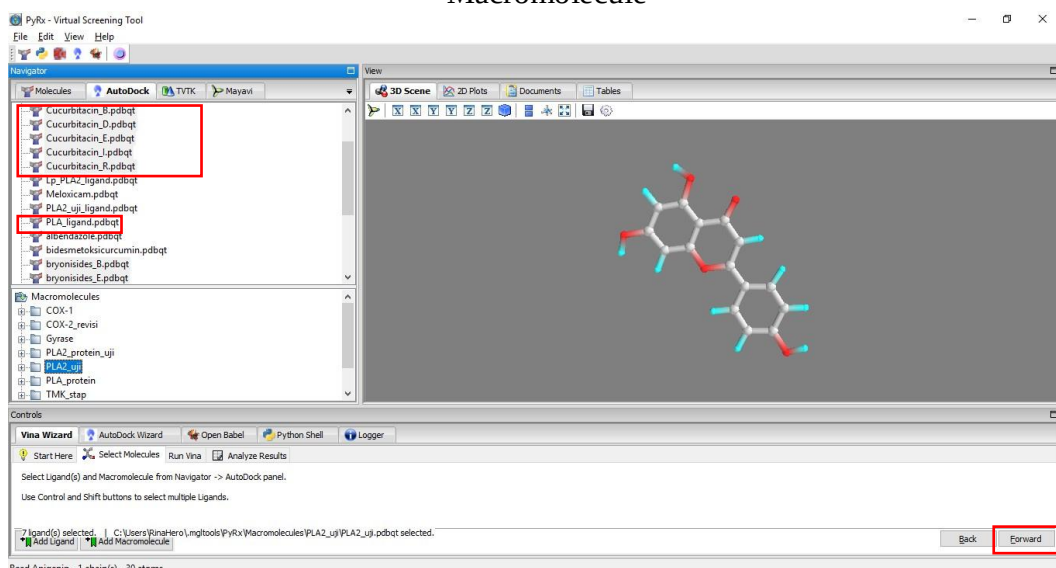
Klik Kanan File→AutoDock→Make Ligand (untuk ligand)/
Make Macromolecule (Makromolekul)



Klik Vina Wizard → Start Here → Start

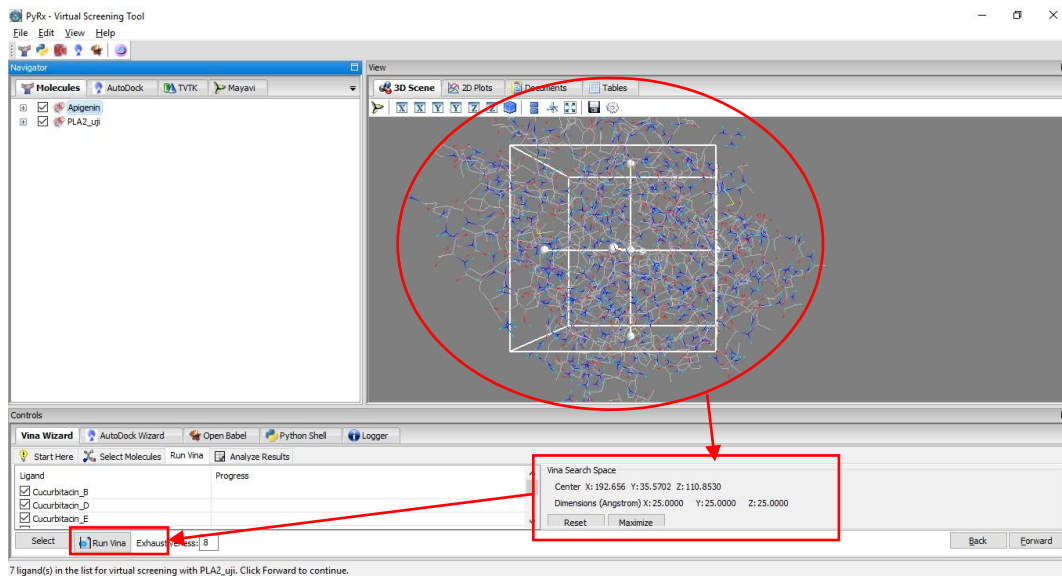
3. Ligand yang telah terkumpul di pilih dengan Ctrl+klik kiri dan atur target pada

Macromolecule



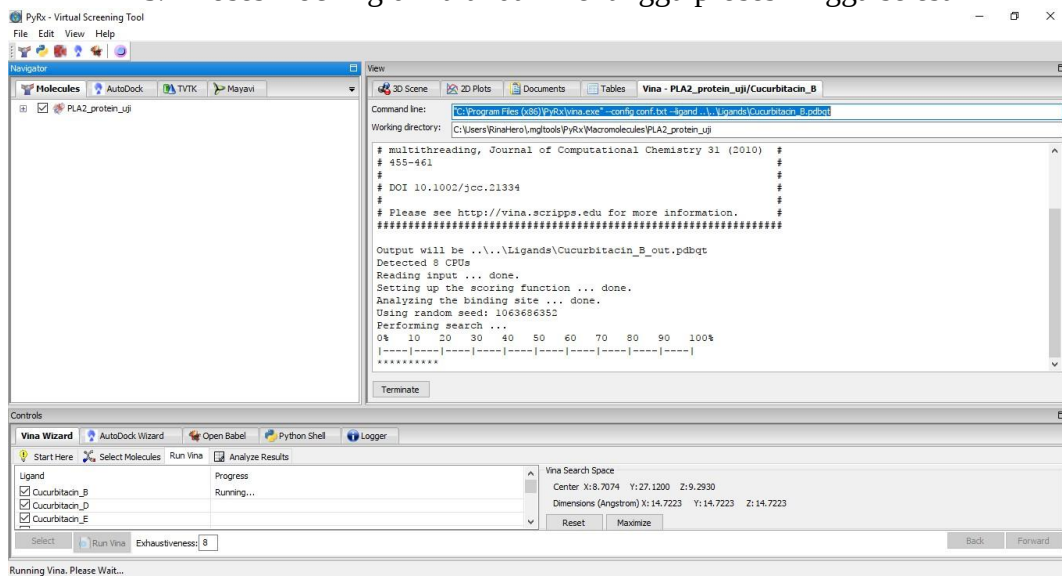
Select Molecule → pilih ligand & macromolecule → Forward

4. Mengatur ruang bergerak ligan pada target



Atur ukuran Gridbox → sesuaikan ukuran dengan melihat
Vina Search Space → Run Vina

5. Proses Docking dimulai dan menunggu proses hingga selesai



Memulai proses docking → proses selesai ketika sudah 100%

8. Hasil docking selesai dan hasil dapat dilihat dibagian Table

PyRx - Virtual Screening Tool

Navigator

Molecules

- dihydrocucurbitacins_B.pdbqt
- luteolin.pdbqt
- phospholipid.pdbqt
- picifelterraen_VI.pdbqt
- PLA2_uj_ligand.pdbqt

Macromolecules

- COX-1
- COX-2_revisi
- Gyrase
- PLA2_uj
- TMK_stap
- hyaluronidase

View

3D Scene 2D Plots Documents **Tables**

Controls

Vina Wizard AutoDock Wizard Open Babel Python Shell Logger

Start Here Select Molecules Run Vina Analyze Results

View: No filter Results: All 91 items

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	0	0.0	0.0
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	1	0.931	1.994
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	2	1.041	1.2

Hasil docking
selesai

e. Analisis dan visualisasi

1. Hasil kalkulasi docking disimpan

PyRx - Virtual Screening Tool

Navigator

Molecules

- dihydrocucurbitacins_B.pdbqt
- luteolin.pdbqt
- phospholipid.pdbqt
- picifelterraen_VI.pdbqt
- PLA2_uj_ligand.pdbqt

Macromolecules

- COX-1
- COX-2_revisi
- Gyrase
- PLA2_uj
- TMK_stap
- hyaluronidase

View

3D Scene 2D Plots Documents Tables

Controls

Vina Wizard AutoDock Wizard Open Babel Python Shell Logger

Start Here Select Molecules Run Vina Analyze Results

View: No filter Results: All 91 items

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	0	0.0	0.0
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	1	0.931	1.994
PLA2_uj_PLA2_uj_ligand	-7.4	2	1.041	1.2

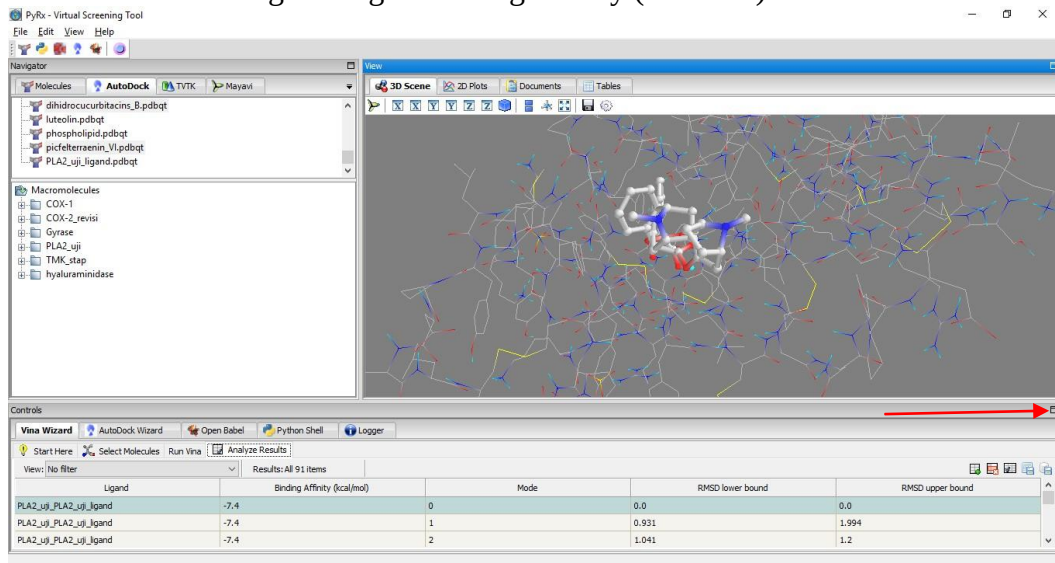
Save as CSV

File name: RinaHero

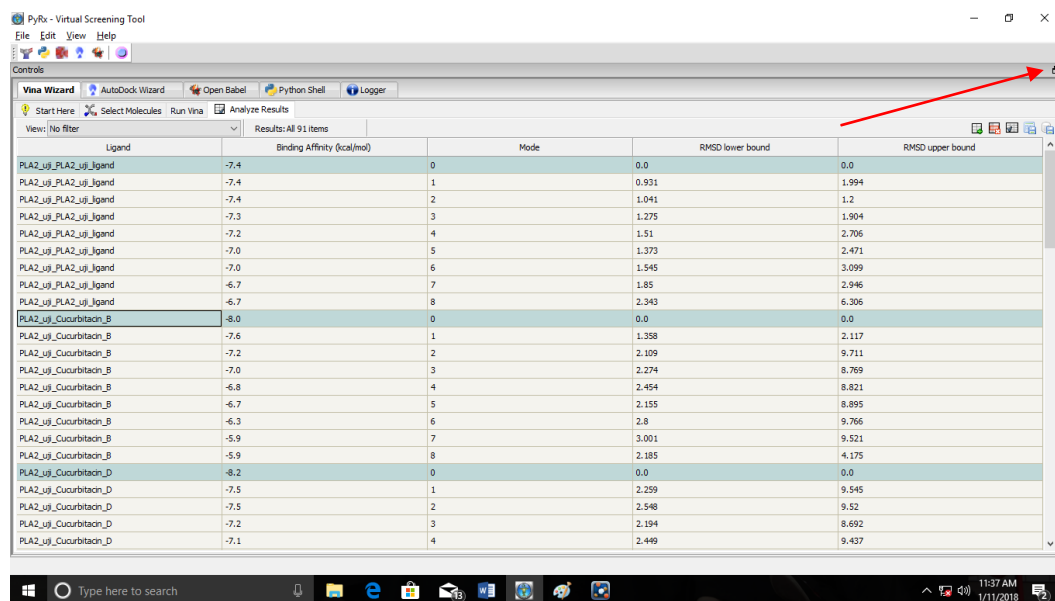
Save as type: Comma Separated Values (*.csv)

Save Cancel

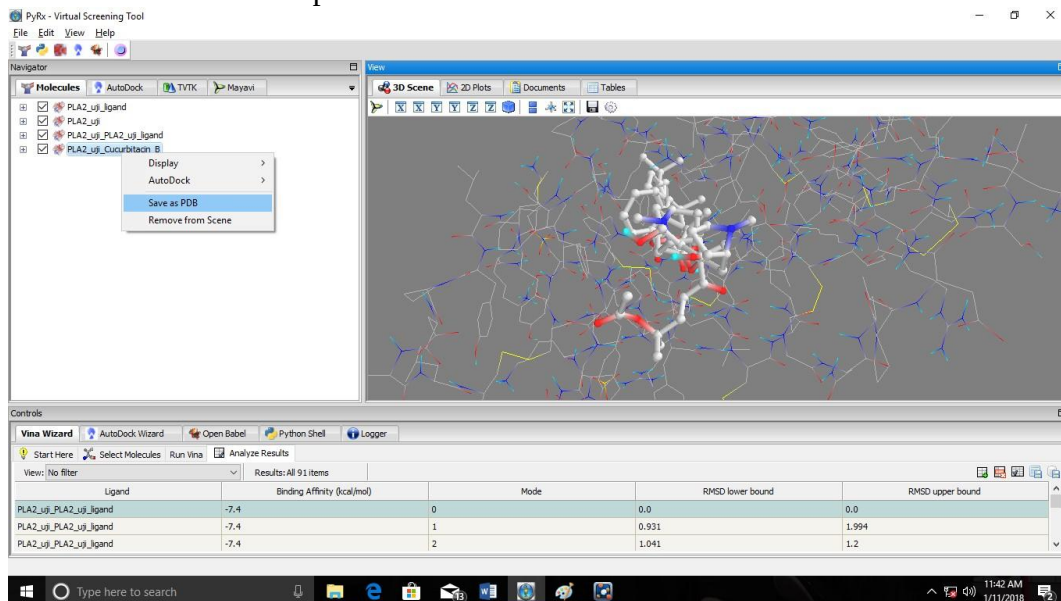
2. Pilih ligan dengan Binding Afinity (kcal/mol) terkecil



Maximize hasil → pilih masing ligan dengan *binding affinity* terkecil → minimize

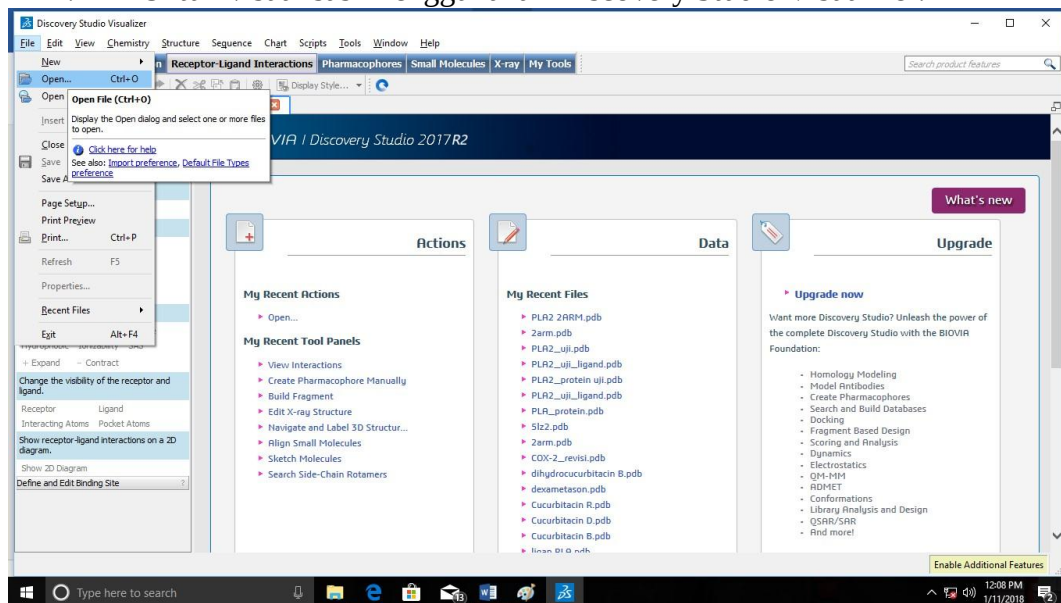


3. Simpan Hasil dalam bentuk PDB file untuk divisualisasikan



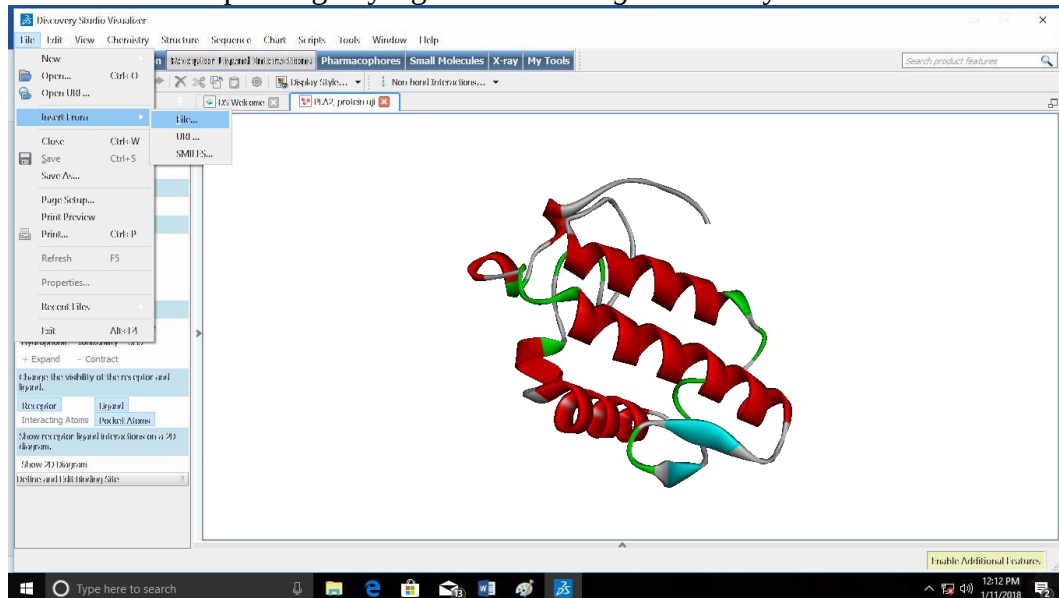
Arahkan kursor pada ligan → klik kanan → save as PDB

4. Untuk visualisasi menggunakan Discovery Studio Visualizer.



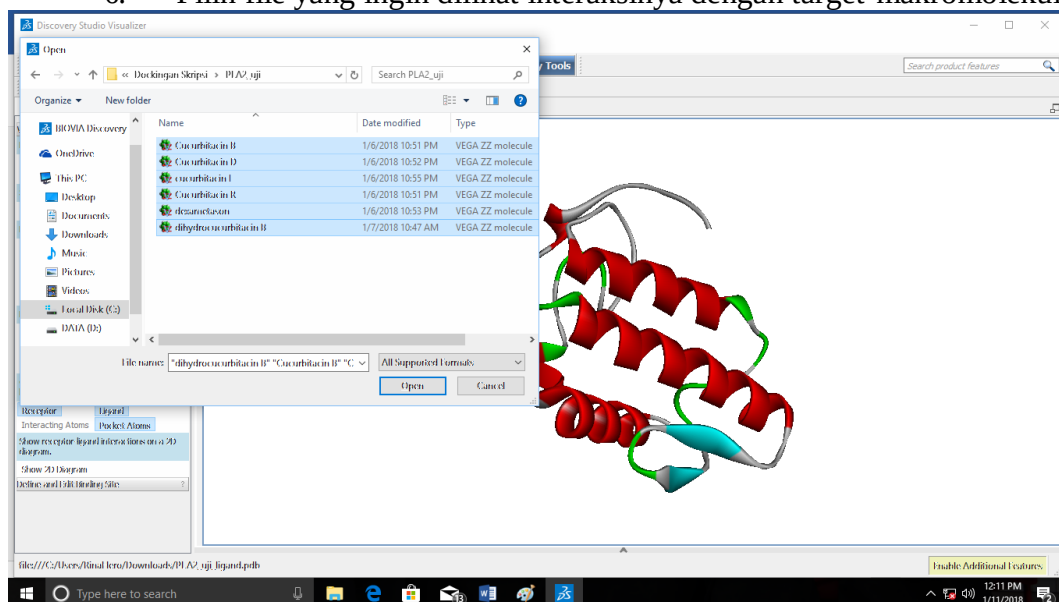
Arahkan kursor pada file → open → makromolekul yang digunakan untuk docking

5. Sisipkan ligan yang telah didocking sebelumnya



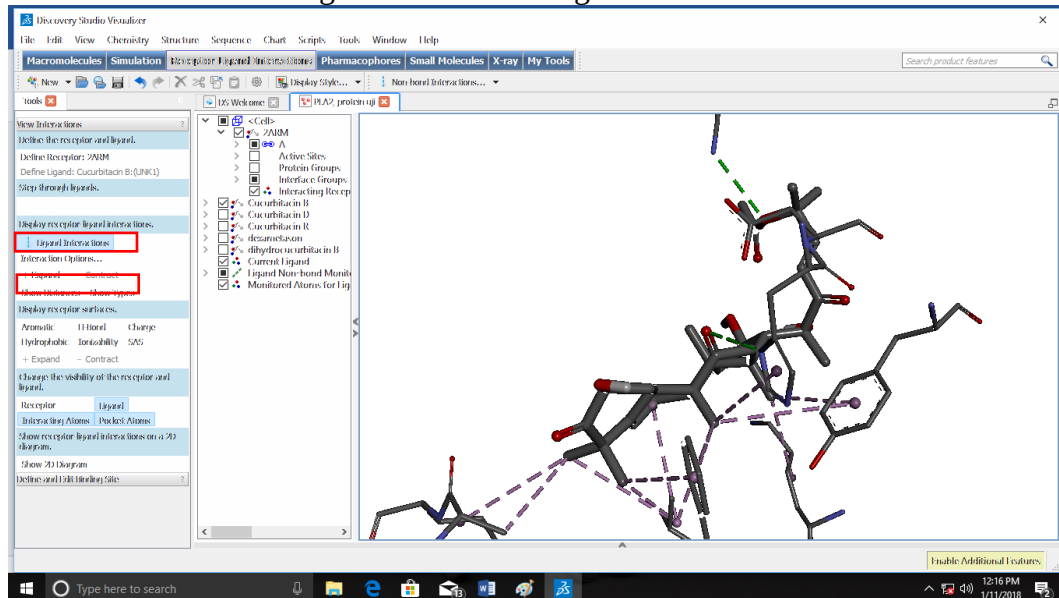
Arahkan kursor pada **_file** → **insert from** → **file...** (senyawa yang dipilih)

6. Pilih file yang ingin dilihat interaksinya dengan target makromolekul



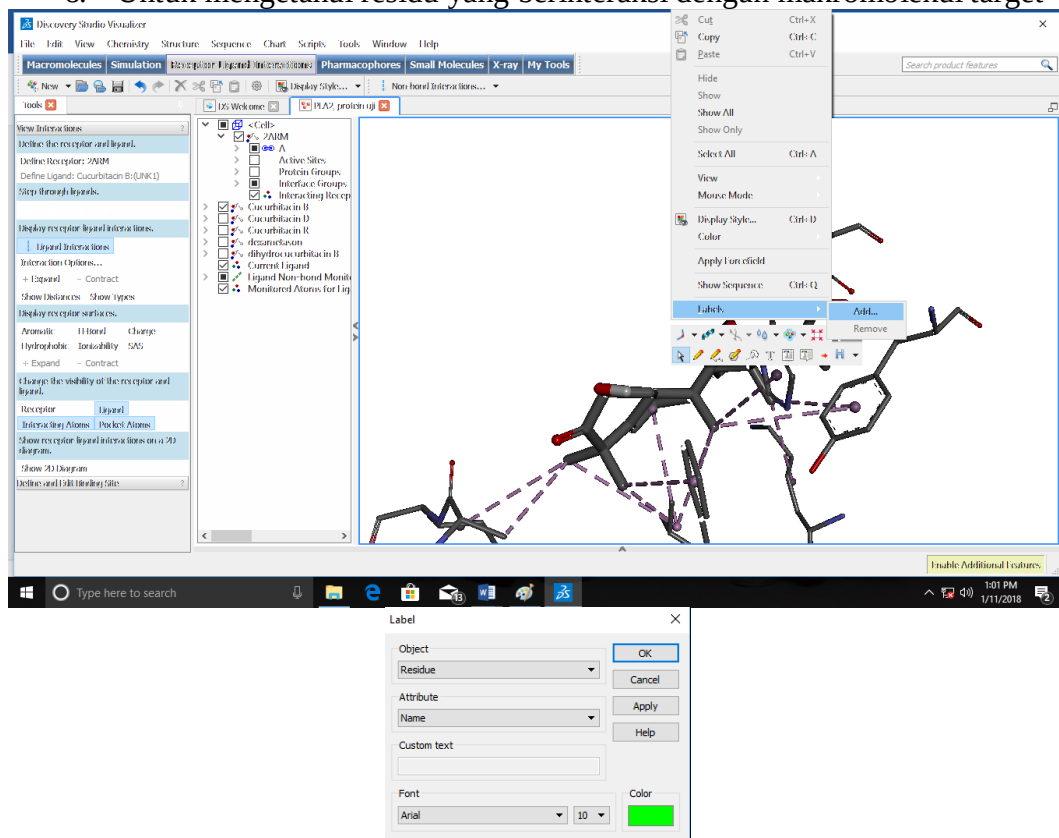
Blok file yang diinginkan → **open**

7. Interaksi ligan dan molekul target



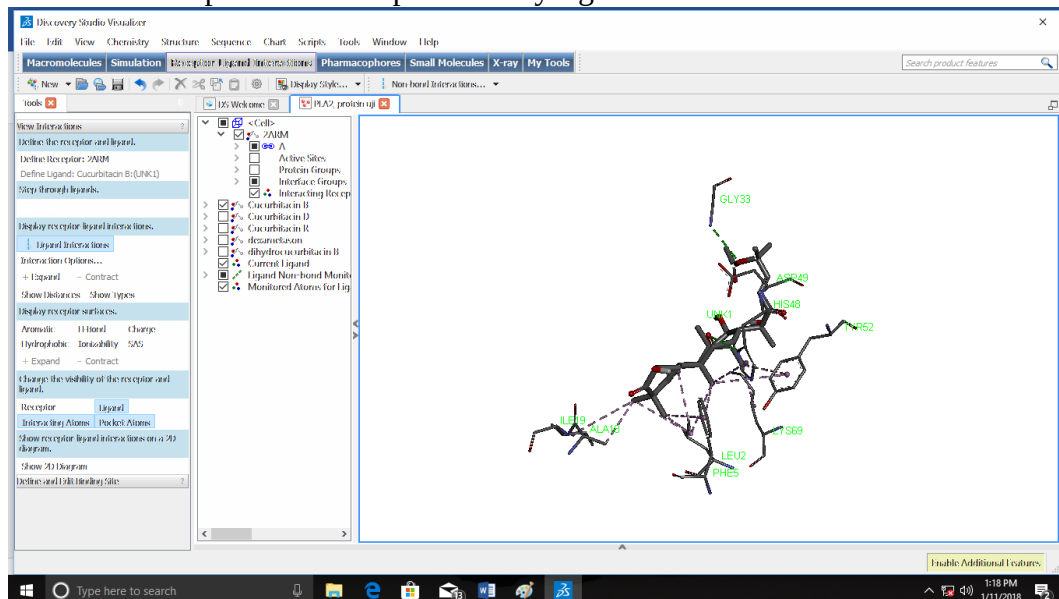
Klik pada -Ligand Interaction|| ➔ geser anak panah untuk memilih interaksi dari ligan tertentu

8. Untuk mengetahui residu yang berinteraksi dengan makromolekul target

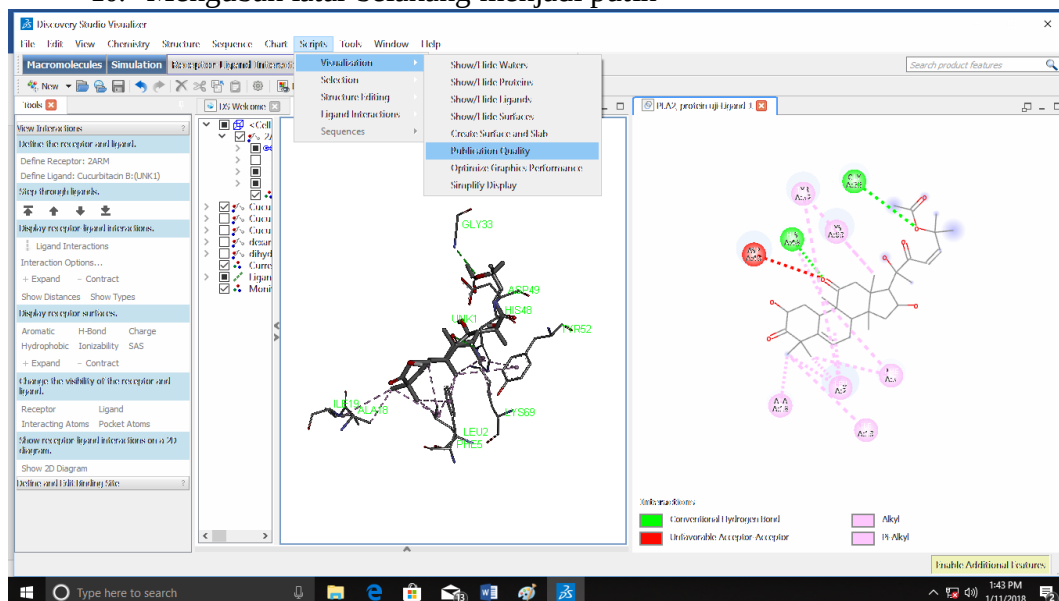


Klik kanan pada visualisasi ➔ Labels ➔ add ➔ object ➔ residue ➔ font 14 ➔ ok

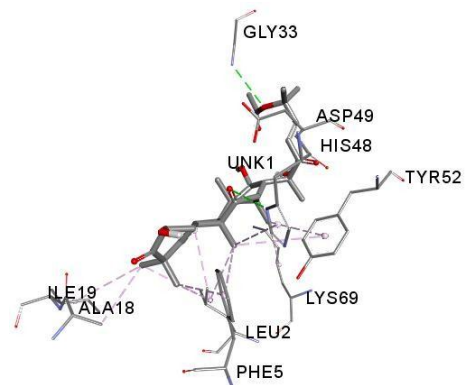
9. Tampilan akan tampak residu yang berinteraksi



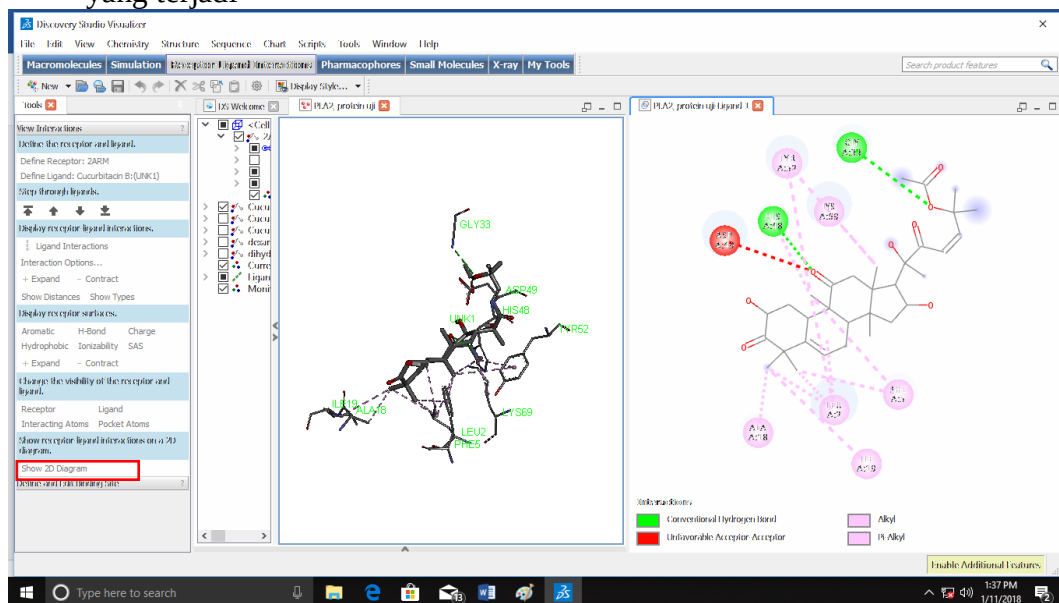
10. Mengubah latar belakang menjadi putih



Pilih scripts → Visualization → Publication Quality

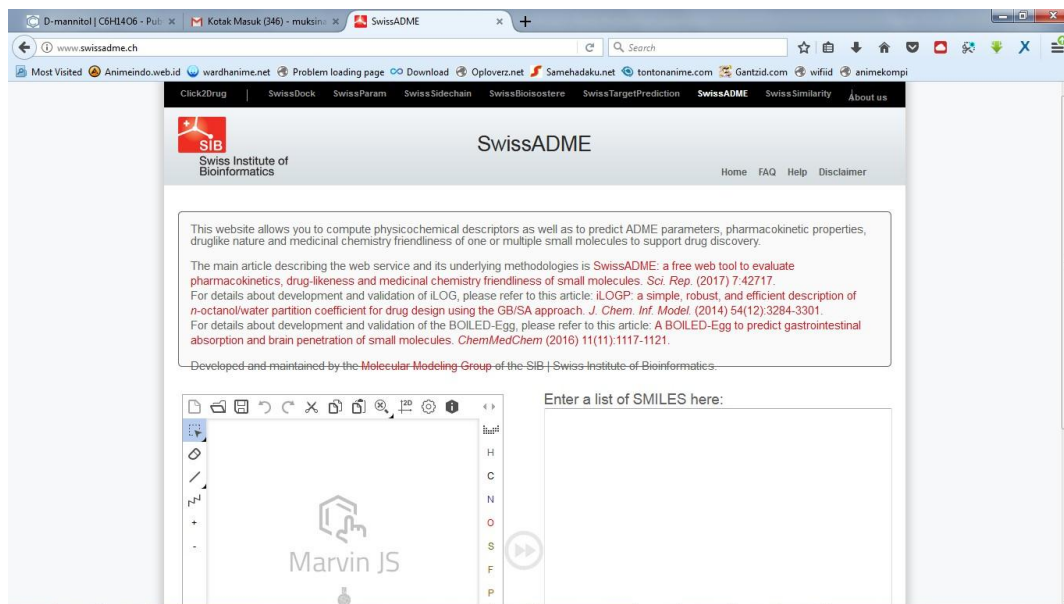


11. Visualisasi dapat dilakukan secara 2D untuk mengetahui ikatan yang terjadi

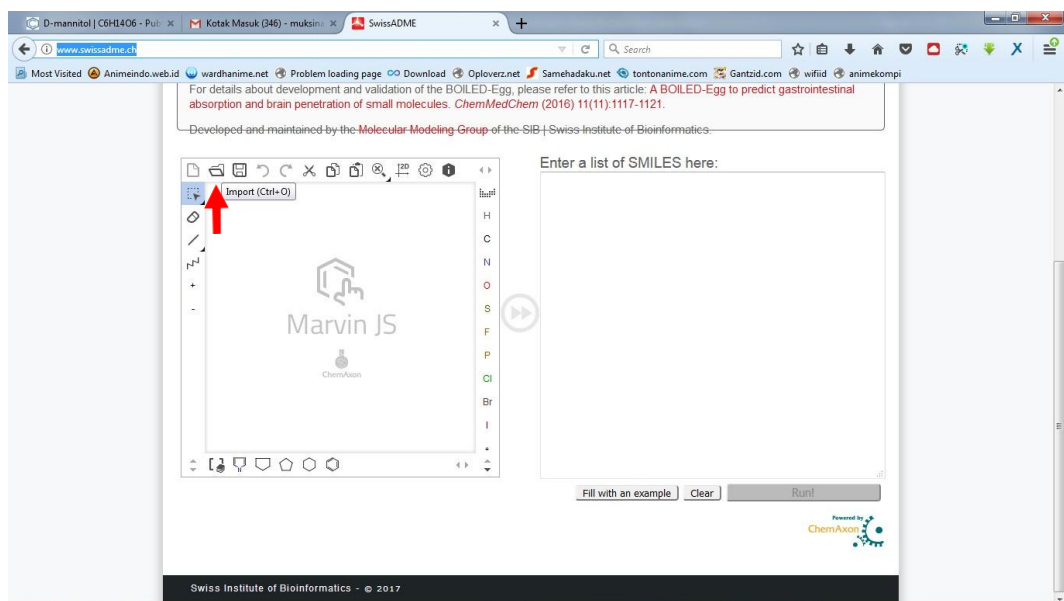


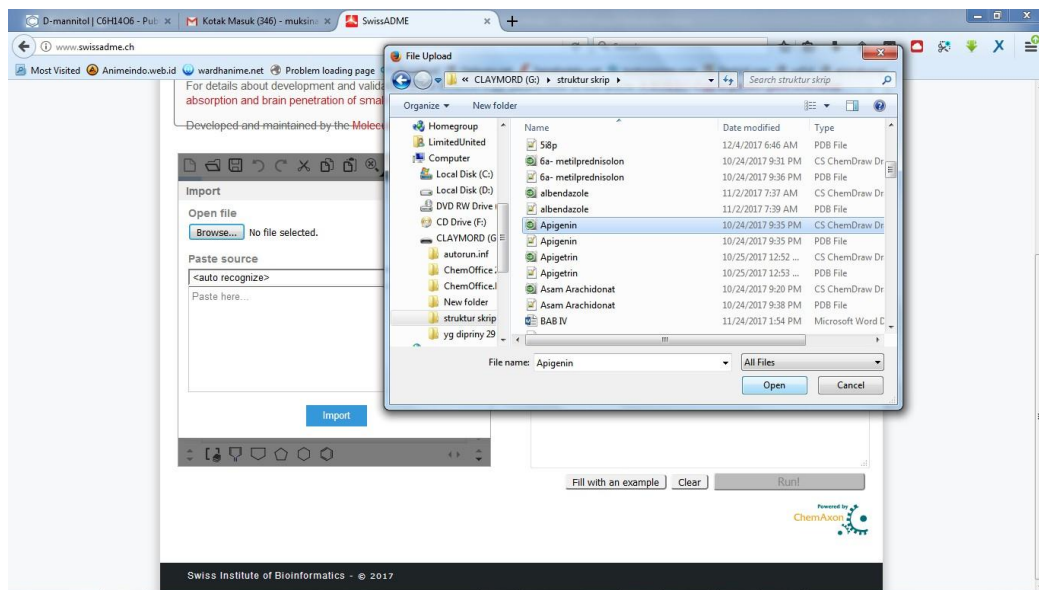
Klik show 2D Diagram → muncul 2D interaksi dan jenis ikatan yang terjadi

- f. Prediksi ADMET menggunakan swissADME
 1. Masuk pada website <http://www.swissadme.ch/>



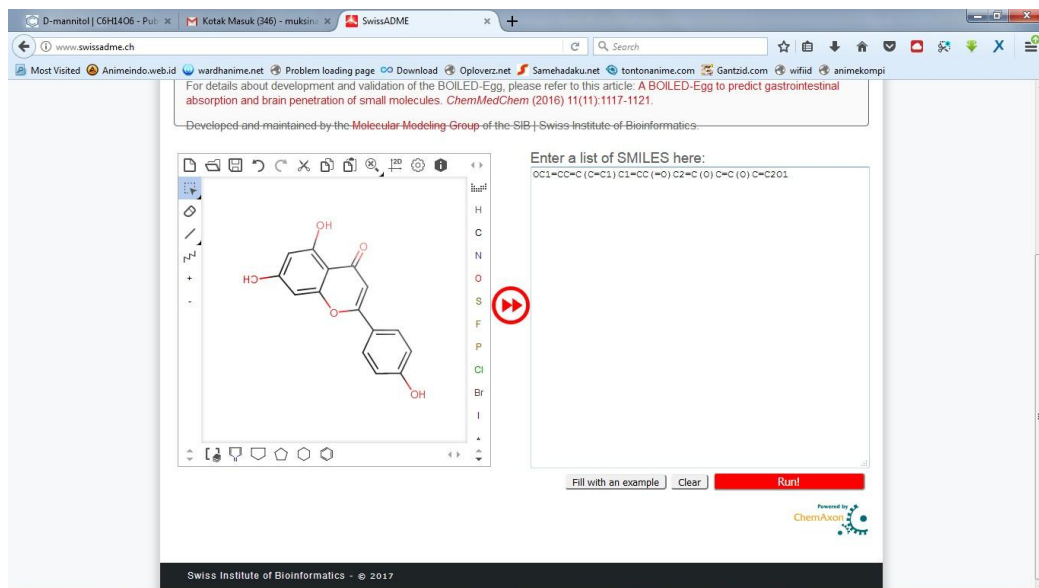
2. Upload senyawa yang ingin diprediksi





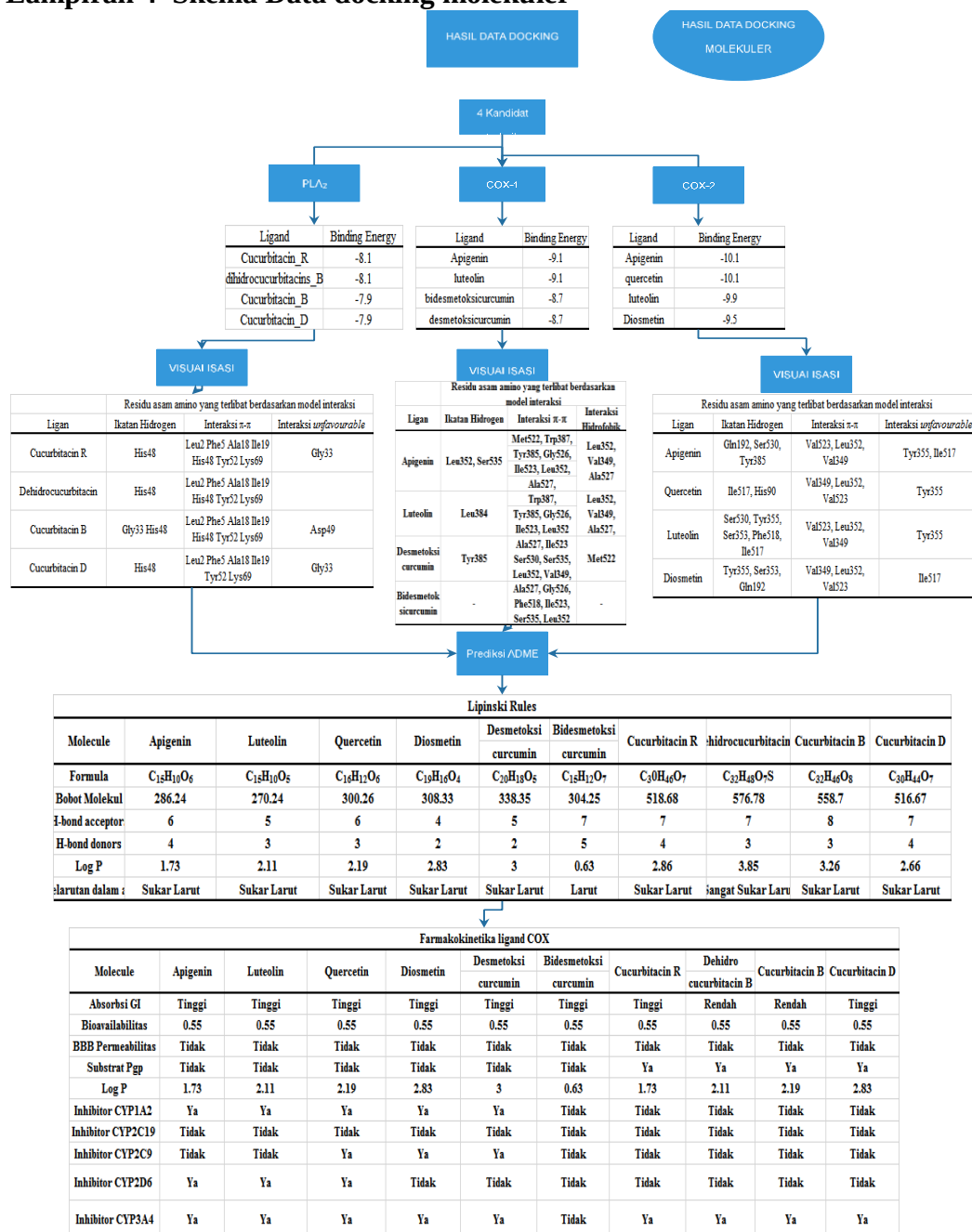
Open→browse→pilih file→open→import

3. Data diprediksi dalam bentuk SMILES



Data yang muncul di klik RUN!

Lampiran 4 Skema Data docking molekuler



Lampiran 5 Data hasil *docking* Autodock Vina

1. Data uji docking PLA₂

a. Hasil pembanding dexametason

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_dexametason	-7.2	0	0
PLA2_uji_dexametason	-7.1	7.096	1.634
PLA2_uji_dexametason	-7.1	6.973	2.203
PLA2_uji_dexametason	-6.9	7.003	1.958
PLA2_uji_dexametason	-6.6	6.886	1.968
PLA2_uji_dexametason	-6.5	2.757	1.925
PLA2_uji_dexametason	-6.3	6.843	2.333
PLA2_uji_dexametason	-6	3.281	2.239
PLA2_uji_dexametason	-5.8	4.768	2.702

b. Hasil Cucurbitacin R

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-8.1	0	0
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-7.1	9.56	2.223
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-7	9.363	2.029
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-6.7	8.762	2.009
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-6.6	9.438	2.568
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-6.5	4.418	2.478
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-6.1	8.85	2.471
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-5.9	5.778	3.251
PLA2_uji_Cucurbitacin_R	-5.7	9.446	3.052

c. Hasil Dehidrocucurbitacin B

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-8.1	0	0
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-7.4	9.945	3.552
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-6.3	10.165	3.382
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-6	9.149	2.647
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-6	2.104	1.578
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-5.9	10.177	3.026
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-5.8	9.584	3.732
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-5.5	8.745	2.708
PLA2_uji_dihidrocucurbitacins_B	-5.3	4.904	3.155

d. Hasil Cucurbitacin B

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-7.9	0	0
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-7.6	2.117	1.358
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-7.2	9.711	2.109
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-7	8.769	2.274
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-6.8	8.821	2.454
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-6.7	8.895	2.155
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-6.3	9.766	2.8
PLA2_uji_Cucurbitacin_B	-5.9	9.521	3.001

e. Hasil Cucurbitacin D

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7.9	0	0
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7.5	9.545	2.259
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7.5	9.52	2.548
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7.2	8.692	2.194
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7.1	9.437	2.449
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-7	8.698	2.577
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-6.8	9.464	3.171
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-5.6	5.971	2.905
PLA2_uji_Cucurbitacin_D	-5.5	3.581	1.901

f. Hasil Cucurbitacin I

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-6.3	0	0
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-5.6	7.942	2.365
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-5.5	3.44	2.24
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-5.5	3.193	1.775
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-5.2	3.833	2.034
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-4.6	2.173	1.522
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-4.6	3.477	2.163
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-3.4	8.294	2.634
PLA2_uji_Cucurbitacin_I	-2.2	9.13	2.076

g. Hasil Cucurbitacin E

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-6.2	0	0
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-5.5	8.423	2.61
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-5.4	2.191	1.517
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-5.4	4.128	2.113
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-5.1	3.619	2.41
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-4.5	9.266	2.458
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-4.5	3.087	1.776
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-3.5	8.664	2.055
PLA2_uji_Cucurbitacin_E	-2.2	6.063	2.93

h. Hasil Bryonisides B

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_bryonisides_B	-5.1	0	0
PLA2_uji_bryonisides_B	-4.8	5.831	2.65
PLA2_uji_bryonisides_B	-4.8	10.632	3.135
PLA2_uji_bryonisides_B	-3.7	10.914	2.873
PLA2_uji_bryonisides_B	-3.5	10.617	3.118
PLA2_uji_bryonisides_B	-2.1	5.4	3.023
PLA2_uji_bryonisides_B	-1.2	10.151	3.374

i. Hasil Bryonisides E

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_bryonisides_E	-5.2	0	0
PLA2_uji_bryonisides_E	-4.8	9.028	2.709
PLA2_uji_bryonisides_E	-4.5	3.48	2.241
PLA2_uji_bryonisides_E	-3.1	4.032	2.197
PLA2_uji_bryonisides_E	-3	4.736	2.467
PLA2_uji_bryonisides_E	-2.8	10.261	2.737

j. Hasil Bryonisides G

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_bryonisides_G	-4.7	0	0
PLA2_uji_bryonisides_G	-2.7	3.718	2.172
PLA2_uji_bryonisides_G	-2.6	3.403	1.928

k. Hasil Picfelterraenin VI

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
PLA2_uji_picfelterraenin_VI	-3.8	0	0
PLA2_uji_picfelterraenin_VI	-2	2.969	1.954
PLA2_uji_picfelterraenin_VI	-0.5	3.872	2.424

2. Data uji docking COX-1

a. Hasil pembanding meloxicam

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_Meloxicam	-8.8	0	0
COX-1_Meloxicam	-8.7	17.736	14.316
COX-1_Meloxicam	-7.8	2.919	1.807
COX-1_Meloxicam	-7.7	7.163	1.868
COX-1_Meloxicam	-7.4	19.93	16.721
COX-1_Meloxicam	-7.4	6.831	2.618
COX-1_Meloxicam	-7	18.632	14.909
COX-1_Meloxicam	-6.8	21.385	16.242
COX-1_Meloxicam	-6.8	5.911	3.716

b. Hasil Apigenin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_Apigenin	-9.1	0	0
COX-1_Apigenin	-9	14.8	13.104
COX-1_Apigenin	-8.9	1.217	0.664
COX-1_Apigenin	-8.9	2.821	1.275
COX-1_Apigenin	-8.8	6.653	2.502
COX-1_Apigenin	-8.6	6.242	2.028
COX-1_Apigenin	-8.5	6.521	1.521
COX-1_Apigenin	-8.4	2.311	1.895
COX-1_Apigenin	-8.4	16.368	13.556

c. Hasil Luteolin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_luteolin	-9.1	0	0
COX-1_luteolin	-9	14.924	13.109
COX-1_luteolin	-9	2.786	1.252
COX-1_luteolin	-8.8	16.331	13.553
COX-1_luteolin	-8.6	6.952	2.573
COX-1_luteolin	-8.5	6.469	1.938
COX-1_luteolin	-8.4	6.769	1.398
COX-1_luteolin	-8.3	6.552	3.028
COX-1_luteolin	-8.1	6.382	3.383

d. Hasil Desmetoksicurcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_desmetoksicurcumin	-8.8	0	0
COX-1_desmetoksicurcumin	-8.7	1.962	1.095
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.7	19.471	14.437
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.4	18.825	14.463
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.4	18.319	14.867
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.3	4.924	1.961
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.3	18.696	14.89
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.2	18.824	15.064
COX-1_desmetoksicurcumin	-7.2	18.55	14.781

e. Hasil Bidesmetoksicurcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-8.7	0	0
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-8.7	5.208	0.042
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-8.5	6.876	2.059
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-8.3	2.519	1.519
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-8	6.219	1.537
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-7.4	18.636	14.882
COX-1 bidesmetoksicurcumin	-7.4	19.83	14.855

f. Hasil Kuersetin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_kuersetin	-8.4	0	0
COX-1_kuersetin	-8.3	6.588	1.419
COX-1_kuersetin	-8	6.471	1.957
COX-1_kuersetin	-7.8	3.257	1.974
COX-1_kuersetin	-7.6	3.172	1.513
COX-1_kuersetin	-7.6	6.325	3.422
COX-1_kuersetin	-7.5	4.357	2.553
COX-1_kuersetin	-7.1	5.588	3.762
COX-1_kuersetin	-6.9	7.294	2.533

g. Hasil Curcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_curcumin	-8.4	0	0
COX-1_curcumin	-8	5.666	1.528
COX-1_curcumin	-7.9	6.878	1.514
COX-1_curcumin	-7.9	7.391	3.59
COX-1_curcumin	-7.9	6.42	3.505
COX-1_curcumin	-7.8	2.414	1.39
COX-1_curcumin	-7.8	7.649	3.488
COX-1_curcumin	-7.8	7.103	3.636
COX-1_curcumin	-7.4	6.549	3.507

h. Hasil Diosmetin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_DIOSMETIN	-8.4	0	0
COX-1_DIOSMETIN	-8.3	6.612	3.841
COX-1_DIOSMETIN	-8.1	6.064	4.419
COX-1_DIOSMETIN	-8	7.436	1.384
COX-1_DIOSMETIN	-7.9	6.636	4.396
COX-1_DIOSMETIN	-7.5	2.7	1.239
COX-1_DIOSMETIN	-7.2	7.055	1.211
COX-1_DIOSMETIN	-7.2	7.307	1.686
COX-1_DIOSMETIN	-7.1	4.906	3.312

i. Hasil Apigetrin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_Apigetrin	-8.1	0	0
COX-1_Apigetrin	-7.7	2.266	1.639
COX-1_Apigetrin	-7	2.504	1.629
COX-1_Apigetrin	-6.7	8.374	1.641
COX-1_Apigetrin	-6.5	8.435	2.033
COX-1_Apigetrin	-6.2	8.395	1.574
COX-1_Apigetrin	-6	2.228	1.064

j. Hasil Rutin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_rutin	-7.7	0	0
COX-1_rutin	-7.5	2.308	1.521
COX-1_rutin	-7.2	8.03	2.368
COX-1_rutin	-7	4.737	1.324
COX-1_rutin	-6.2	5.124	1.679

k. Hasil Diosmin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_diosmin	-7.3	0	0
COX-1_diosmin	-7.2	3.385	2.533
COX-1_diosmin	-6.2	8.341	2.501

l. Hasil Hesperidin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-1_Hesperidine	-7	0	0
COX-1_Hesperidine	-6.9	6.166	1.537
COX-1_Hesperidine	-6.8	6.043	1.532
COX-1_Hesperidine	-6.4	5.928	1.627
COX-1_Hesperidine	-6.1	3.409	2.038
COX-1_Hesperidine	-5.9	6.099	1.529
COX-1_Hesperidine	-5.8	5.922	1.653
COX-1_Hesperidine	-5.8	6.154	3.098
COX-1_Hesperidine	-4.8	6.117	1.939

3. Data uji docking COX-2

a. Hasil pembanding Celecoxib

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_Celecoxib	-12.1	0	0
COX-2_revisi_Celecoxib	-11	5.88	3.778

b. Hasil Apigenin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_Apigenin	-10.1	0	0
COX-2_revisi_Apigenin	-8.8	6.479	1.675
COX-2_revisi_Apigenin	-8.8	6.639	2.711
COX-2_revisi_Apigenin	-8.6	17.27	13.461
COX-2_revisi_Apigenin	-8.6	6.404	1.551
COX-2_revisi_Apigenin	-8.2	16.389	13.721
COX-2_revisi_Apigenin	-8.2	6.677	1.647
COX-2_revisi_Apigenin	-7.6	6.53	3.553

c. Hasil kuersetin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_kuersetin	-10.1	0	0
COX-2_revisi_kuersetin	-8.6	6.698	1.542
COX-2_revisi_kuersetin	-8.3	6.525	1.198
COX-2_revisi_kuersetin	-8.1	15.502	13.496
COX-2_revisi_kuersetin	-8	16.891	13.165
COX-2_revisi_kuersetin	-7.9	15.899	13.488
COX-2_revisi_kuersetin	-7.6	6.863	2.376
COX-2_revisi_kuersetin	-7.3	19.241	14.731
COX-2_revisi_kuersetin	-7.2	18.264	14.694

d. Hasil Luteolin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_luteolin	-9.8	0	0
COX-2_revisi_luteolin	-9	6.58	1.455
COX-2_revisi_luteolin	-8.6	16.354	13.571
COX-2_revisi_luteolin	-8.6	17.061	13.351
COX-2_revisi_luteolin	-8.5	6.811	1.429
COX-2_revisi_luteolin	-8.4	17.521	14.724
COX-2_revisi_luteolin	-8.3	15.542	13.473
COX-2_revisi_luteolin	-8.2	16.388	13.521
COX-2_revisi_luteolin	-8	16.616	14.125

e. Hasil Diosmetin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_Diosmetin	-9.5	0	0
COX-2_revisi_Diosmetin	-8.6	16.459	13.428
COX-2_revisi_Diosmetin	-8.2	17.07	13.063
COX-2_revisi_Diosmetin	-8.2	7.365	1.937
COX-2_revisi_Diosmetin	-7.9	7.023	1.586
COX-2_revisi_Diosmetin	-7.7	7.223	1.461
COX-2_revisi_Diosmetin	-7.4	17.669	13.274
COX-2_revisi_Diosmetin	-7.2	21.607	16.552
COX-2_revisi_Diosmetin	-7	6.965	3.589

f. Hasil Bidesmetoksicurcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-8.4	0	0
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-8.3	4.736	1.742
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-8.3	6.506	1.741
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-8.2	5.522	0.126
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-7.7	18.726	15.091
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-7.6	19.584	14.671
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-7.5	18.339	14.709
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-7.5	18.359	14.121
COX-2_revisi_bidesmetoksicurcumin	-7.4	17.467	14.76

g. Hasil Curcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_curcumin	-8.4	0	0
COX-2_revisi_curcumin	-8.2	7.303	0.981
COX-2_revisi_curcumin	-8.2	6.074	1.763
COX-2_revisi_curcumin	-8.1	18.843	15.02
COX-2_revisi_curcumin	-8.1	7.425	1.768
COX-2_revisi_curcumin	-8	8.663	4.057
COX-2_revisi_curcumin	-8	19.05	15.147
COX-2_revisi_curcumin	-7.8	8.153	2.628
COX-2_revisi_curcumin	-7.7	8.542	3.852

h. Hasil Desmetoksicurcumin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-8.4	0	0
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-8.4	6.191	1.231
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-8.1	20.027	15.815
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-8	19.36	16.141
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-8	18.927	15.262
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-7.9	20.509	16.139
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-7.7	6.602	1.592
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-7.7	19.398	15.787
COX-2_revisi_desmetoksicurcumin	-7.6	20.363	15.964

i. Hasil Hesperidin

Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_Hesperidine	-7.0	0	0
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.9	4.96	3.223
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.9	23.074	20.476
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.9	6.268	3.909
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.3	4.431	2.41
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.3	22.479	19.835
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.2	2.564	1.852
COX-2_revisi_Hesperidine	-6.2	5.839	3.746
COX-2_revisi_Hesperidine	-5.3	6.217	3.938

j. Hasil diosmin

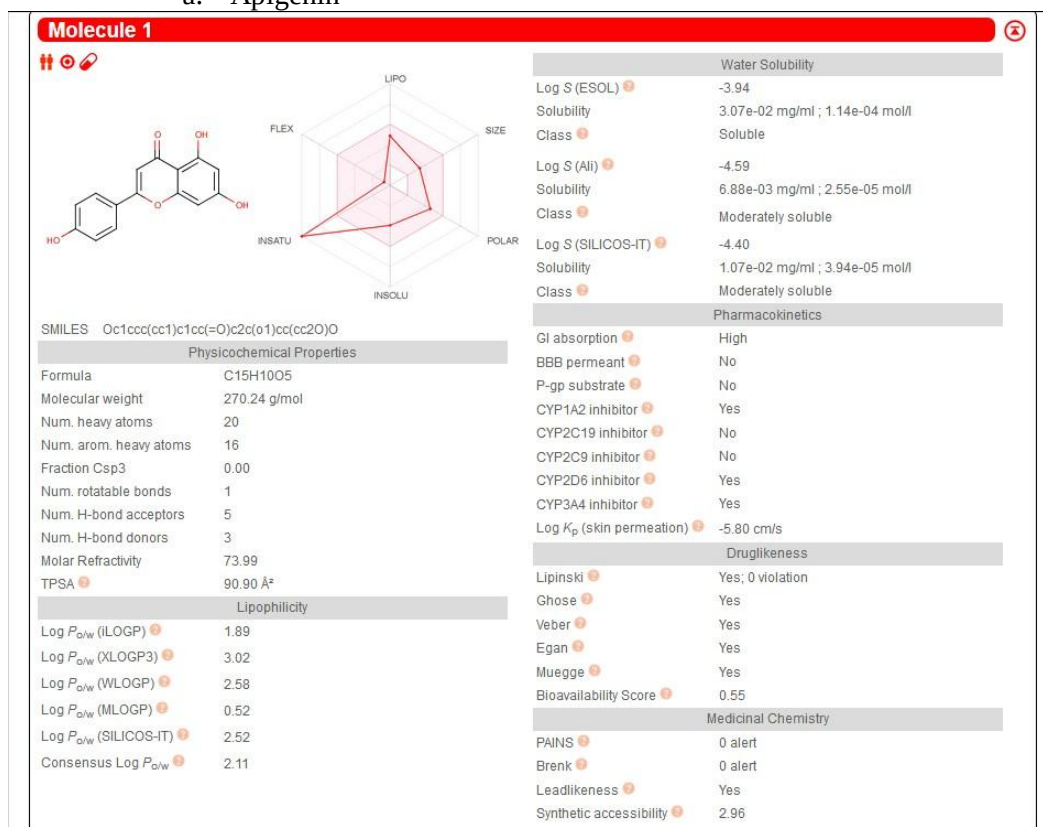
Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_rutin	-3.4	0	0
COX-2_revisi_rutin	-2.6	3.046	1.973
COX-2_revisi_rutin	-2.3	4.817	1.586
COX-2_revisi_rutin	-2.3	4.64	1.811

j. Hasil Apigetrin

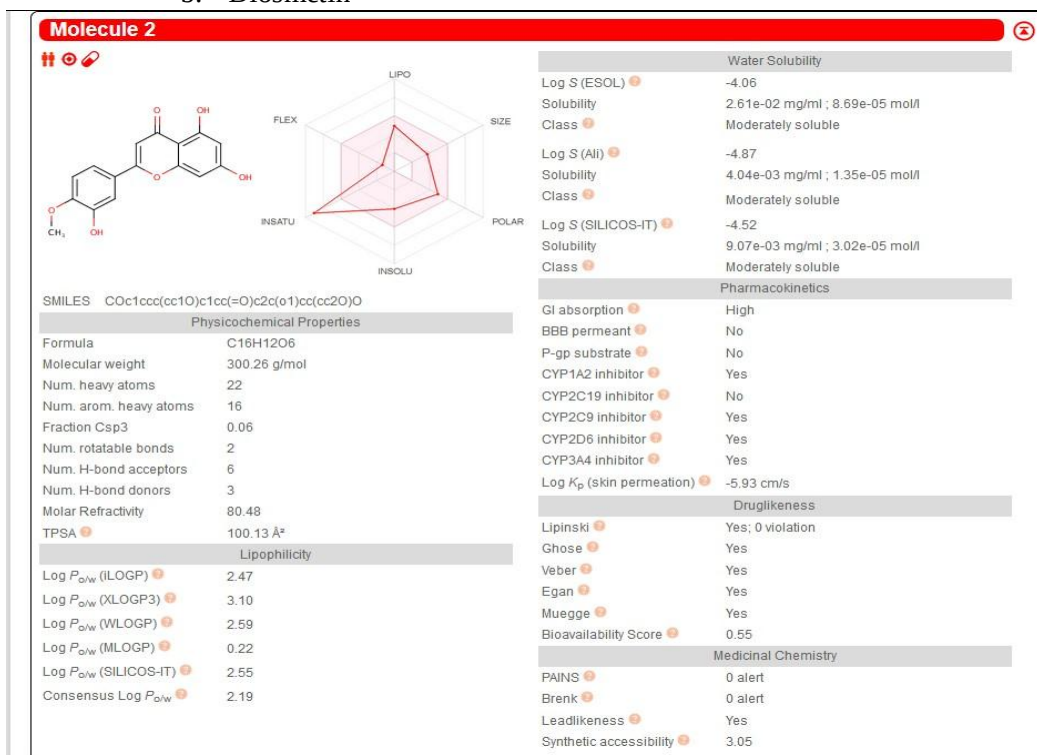
Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_Apigetrin	-3.1	0	0
COX-2_revisi_Apigetrin	-2.9	2.096	1.076
COX-2_revisi_Apigetrin	-1.5	2.192	1.42
COX-2_revisi_Apigetrin	-1.4	2.493	1.478
COX-2_revisi_Apigetrin	-0.7	5.655	3.444
COX-2_revisi_Apigetrin	-0.7	5.675	3.485
COX-2_revisi_Apigetrin	0.5	4.823	2.899
COX-2_revisi_Apigetrin	1.4	4.44	2.243
COX-2_revisi_Apigetrin	1.6	4.599	2.49

k. Hasil diosmin

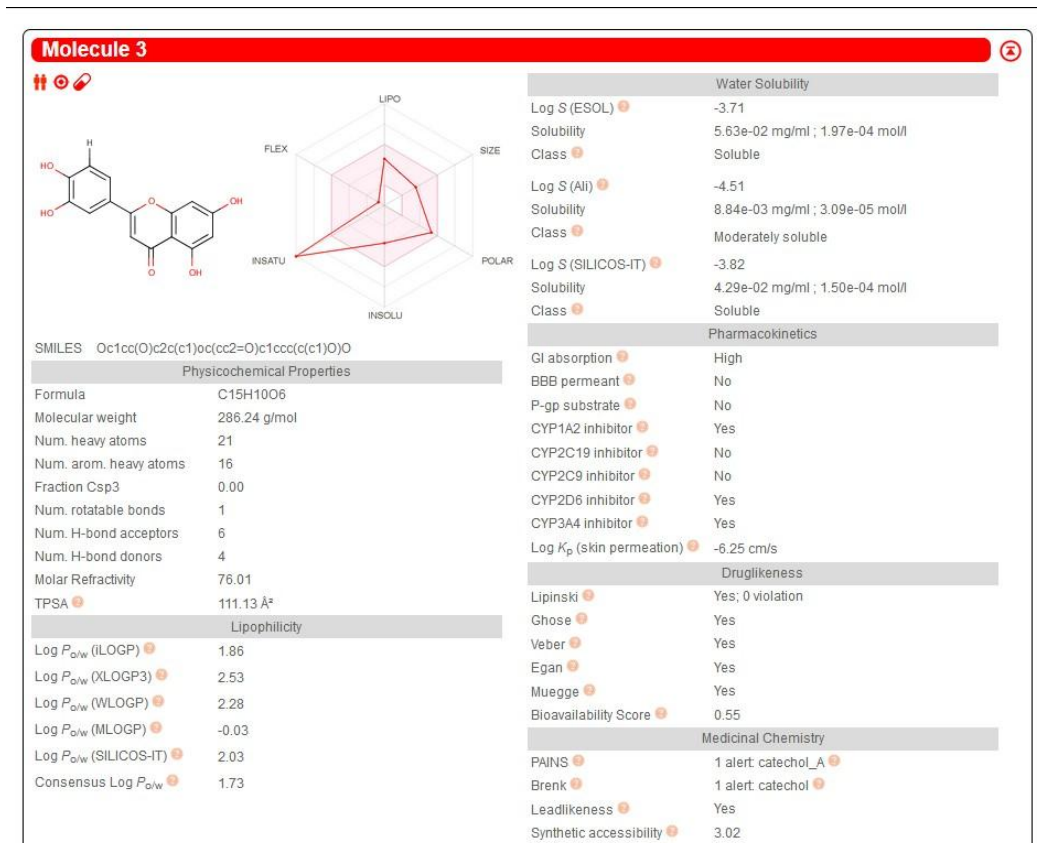
Ligand	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
COX-2_revisi_diosmin	1.3	0	0
COX-2_revisi_diosmin	5.2	5.996	3.789

4. Data Prediksi ADMET Flavonoid**a. Apigenin**

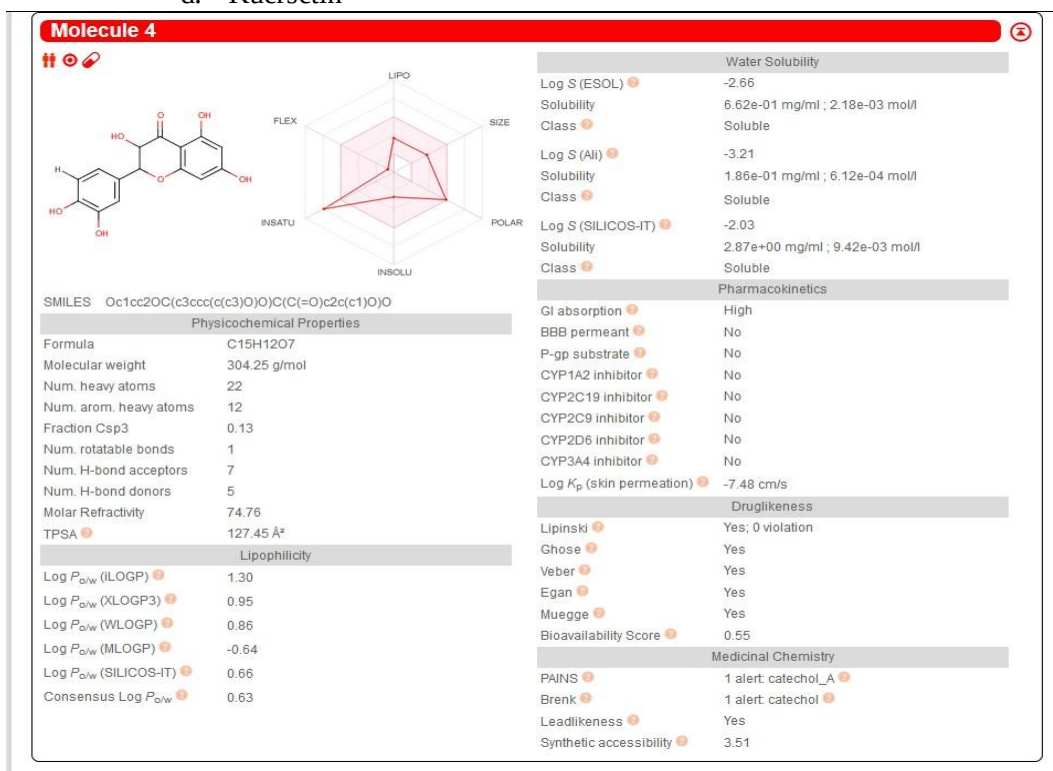
b. Diosmetin



c. Luteolin

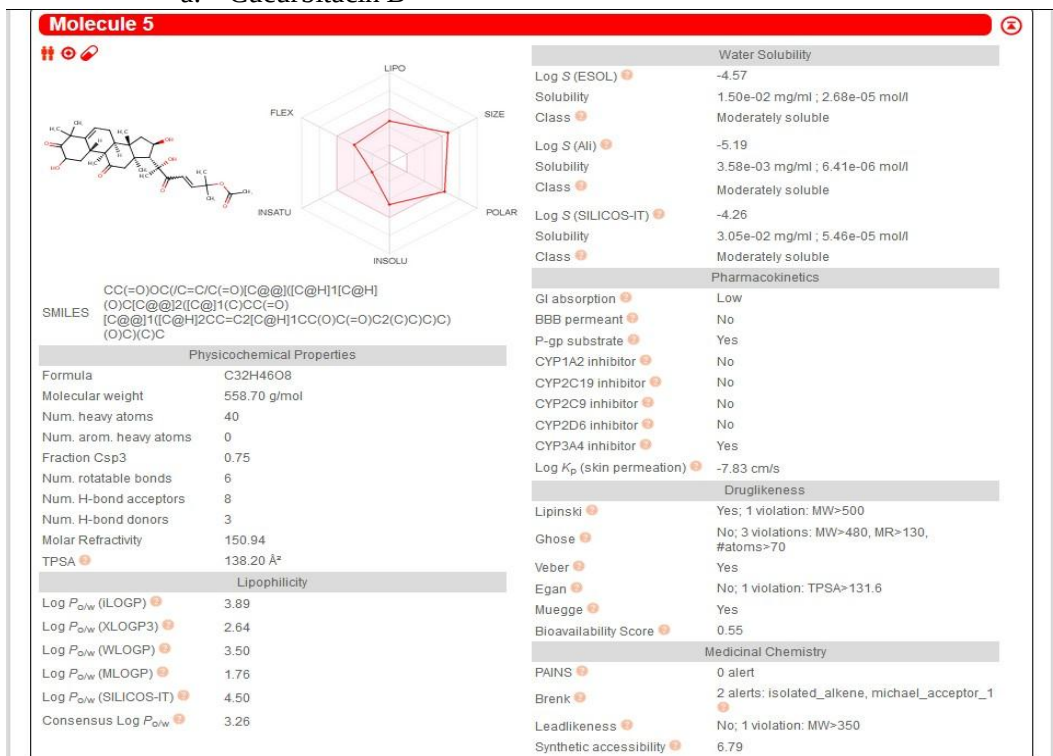


d. Kuersetin

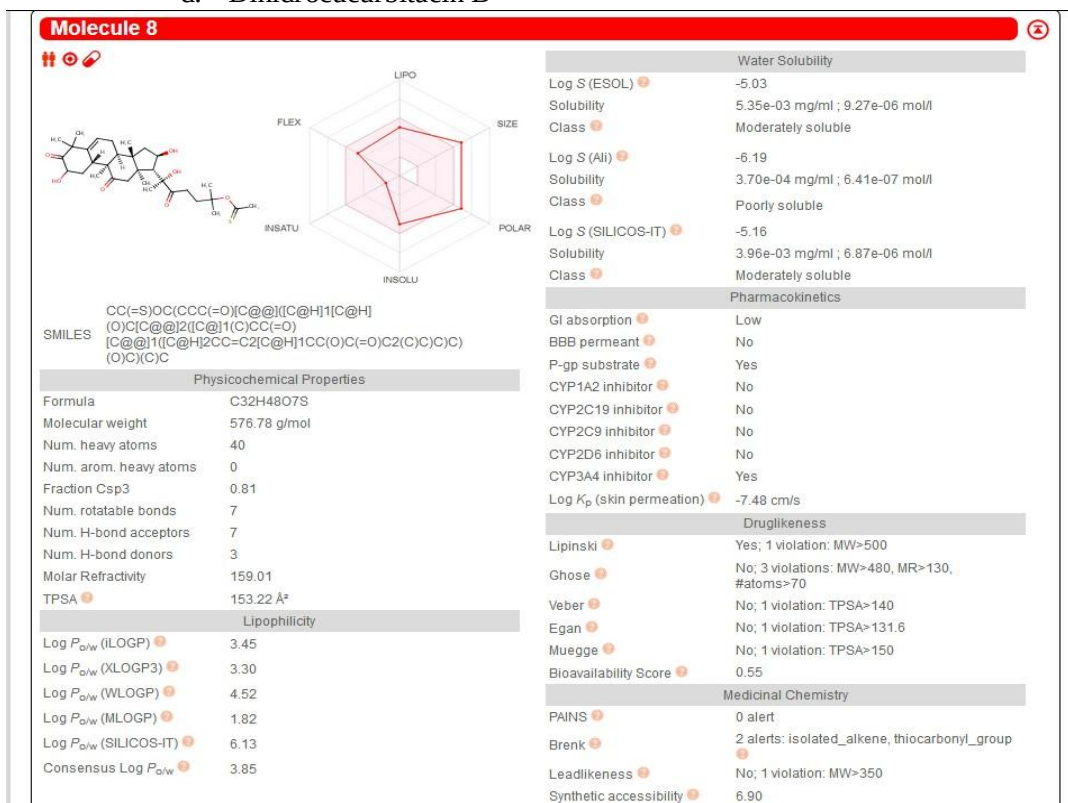


5. Data Prediksi ADMET Steroid

a. Cucurbitacin B

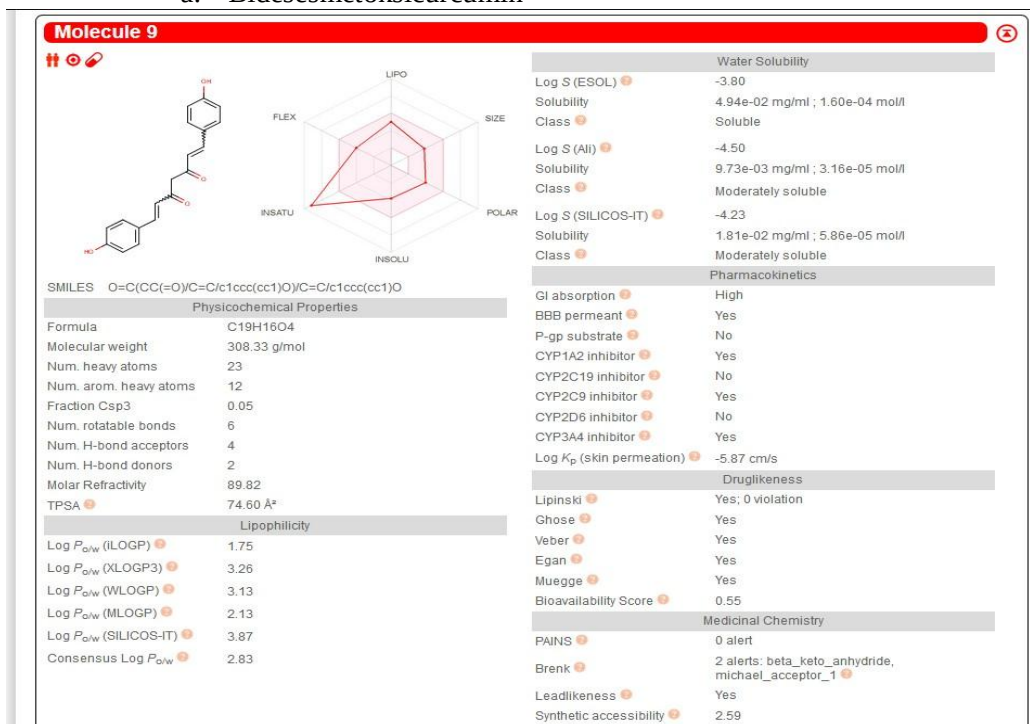


d. Dihidrocucurbitacin B



6. Data Prediksi ADMET Curcuminoid

a. Bidesesmetoksicurcumin



b. Desmetoksicurcumin

