Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology
Journal Homepage : http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/
Research Article

IN SILICO STUDY OF JAVA WOOD (*Lannea coromadelica*) AS ANTI-INFLAMMATORY IN TNF-α AND COX-2 MEDIATORS

Andi Muflihunna[1] , Sukmawati Sukmawati[1]*

[1]Department of Pharmaceutical Analysis Chemistry, Faculty of Pharmacy,Universitas Muslim Indonesia

Submitted 27 March 2023; Revised 25 May 2023; Accepted 11 June 2023; Published 31 July 2023
*Corresponding author: sukmawati.syarif@umi.ac.id

Abstract

Java wood (*Lannea coromandelica*) is a plant that is widely used empirically by people in South Sulawesi as a traditional medicine because it has pharmacological effects such as anti-inflammatory which is a normal protective response to various physiological processes in the body as well as having biological effects that can work on molecules target. Inflammation is a normal protective response to tissue injury caused by physical trauma, noxious chemicals, or microbiological agents. The purpose of this study was to find out which chemical compounds in the *Lannea coromandelica* have the potential as an anti-inflammatory by inhibiting TNF-α and COX-2 receptors. This research method is molecular docking method with Autodock, Lipinski rules of five, and ADMET Prediction. Results of this study, the compound 3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone against COX-2 and the morin test compound against TNF-α have potential as anti-inflammatories with lower ability compared to natural ligand to binding the active site on receptors.

Keywords: Anti-inflammatory, COX-2, Lannea coromandelica , TNF-α

STUDY *IN SILICO* KAYU JAWA (*Lannea coromadelica*) SEBAGAI ANTIINFLAMASI PADA MEDIATOR TNF-α DAN COX-2

Abstrak

Kayu jawa (*Lannea coromandelica*) merupakan salah satu tanaman yang banyak digunakan secara empiris oleh masyarakat di Sulawesi Selatan sebagai obat tradisional karena memiliki efek farmakologis seperti antiinflamasi yang merupakan respon protektif normal terhadap berbagai proses fisiologis di dalam tubuh serta memiliki efek biologis yang dapat bekerja pada target molekul. Inflamasi adalah respon perlindungan normal terhadap cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia berbahaya, atau agen mikrobiologi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia apakah pada tanaman Kayu jawa (*Lannea coromandelica*) yang berpotensi sebagai antiinflamasi dengan mekanisme penghambatan reseptor TNF-α dan COX-2. Metode penelitian ini adalah metode molecular docking dengan perangkat lunak Autodock, Lipinski rule of five, dan Prediksi ADMET. Hasil dari penelitian ini, senyawa 3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone terhadap COX-2 dan senyawa uji morin terhadap TNF-α berpotensi sebagai antiinflamasi dengan kemampuan lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami untuk berkaitan dengan sisi aktif pada reseptor.

Kata Kunci: Antiinflamasi, COX-2, Kayu Jawa, TNF-α

1. Pendahuluan

Peradangan (inflamasi) merupakan respon protektif normal terhadap cedera jaringan yang melibatkan berbagai proses fisiologis di dalam tubuh seperti aktivasi enzim, pelepasan mediator, diapedesis atau pergerakan sel darah putih melalui kapiler ke daerah peradangan, migrasi sel, kerusakan dan perbaikan jaringan[1]. Faktor yang dapat menyebabkan cedera pada jaringan, yang kemudian diikuti oleh inflamasi adalah patogen, iritan kimia (asam dan basa kuat, fenol, dan racun), dan iritan fisika (trauma, benda asing, dingin, arus listrik, dan radiasi). Inflamasi adalah upaya perlindungan tubuh untuk menghilangkan rangsangan merugikan serta memulai proses penyembuhan pada jaringan. Namun, jika peradangan tidak diobati dapat menyebabkan timbulnya penyakit seperti rinitis vasomotor, rematoid artritis, dan aterosklerosis[2,29].

Pada umumnya pengobatan yang digunakan untuk mengatasi terjadinya inflamasi adalah obat modern dari golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) dan golongan steroid yang berguna untuk mengurangi pembengkakan dan rasa sakit akibat peradangan. Tetapi dalam penggunaannya obat-obat ini mempunyai risiko toksisitas gastrointestinal, toksisitas jantung, dan lainnya dalam penggunaan jangka panjang. Untuk alasan ini, ada kebutuhan untuk memiliki obat antiinflamasi dengan efek samping yang lebih ringan saat digunakan. Oleh karena itu, tumbuhan lebih banyak dipilih sebagai alternatif yang alami untuk pengobatan berbagai penyakit, tetapi masih kurangnya bukti ilmiah untuk khasiat tersebut[3,30].

Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) adalah salah satu tanaman obat tradisional yang masih sering digunakan oleh masyarakat di Sulawesi Selatan (khususnya) sampai sekarang ini karena khasiatnya yang dipercaya sangat ampuh untuk mengobati luka dalam dan luka luar seperti muntah darah dan mempercepat penyembuhan luka. Selain itu, masyarakat sering menggunakan tanaman ini untuk mengobati jerawat dan bisul. Cara penggunaan tanaman ini berbeda-beda tergantung tujuan penggunaannya, misalnya untuk mengobati muntah darah masyarakat merebus kulit batang tumbuhan ini kemudian air rebusannya diminum atau kulit batang diperas kemudian air perasannya diminum. Lain halnya dengan untuk mengobati jerawat dan bisul, masyarakat menggunakan cairan yang keluar dari penampang ranting tumbuhan ini. Sedangkan untuk mempercepat penyembuhan luka, masyarakat biasanya langsung menggunakan kulit batang dengan menempelkannya ke bagian luka. Berdasarkan studi fitokimia, kulit batang tanaman Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) telah dilaporkan mengandung senyawa golongan karbohidrat, steroid, alkaloid, glikosida jantung, terpenoid, tanin, dan flavonoid[4,5] melaporkan kulit batang *Lannea coromandelica* memiliki potensi antikanker. Beberapa studi farmakologi juga telah dilaporkan oleh peneliti-peneliti dari India dan Bangladesh bahwa ekstrak metanol kulit batang Kayu Jawa memiliki aktivitas biologis seperti antibakteri, antioksidan, analgesik, aktivitas hipotensi, aktivitas penyembuhan luka[6]. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kimia dari kayu jawa (*Lannea coromandelica*) yang berpotensi sebagai antiinflamasi secara *in silico* serta Untuk menentukan aktivitas dari senyawa kayu jawa (*Lannea coromandelica*) yang berpotensi sebagai inhibitor TNF-α dan COX-2 secara *in silico* berdasarkan nilai energi bebas ikatan (ΔG) dengan menggunakan program Autodock. Berdasarkan beberapa referensi kayu jawa sebagai antiinflamasi menggunakan reseptor iNOS belum dilaporkan[7].

2. Metode

2.1. Bahan

Protein target atau reseptor TNF-α dengan kode PDB ID 3EWJ berikatan dengan ligan (*1S,3R,6S)-4-oxo-6-{4-[(2-phenylquinolin-4-yl)methoxy]phenyl}-5-azaspiro[2.4]heptane-1-carboxylic acid,* dan COX-2 PDB ID 3NT1 yang berikatan dengan ligan Nafroxen. Ligan Uji Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) yaitu *3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone*.

2.2. Alat

Database Protein Data Bank (PDB) (https://www.rcsb.org/), *database* KnapSack *Family* (http://www.knapsackfamily.com/KNApSAcK/), *database* PubChem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/), *Autodock* vina, *Discovery Studio,* dan PYMOL.

2.3. Prosedur

2.3.1. Penyiapan Reseptor

Penyiapan model molekul target (reseptor) dilakukan dengan cara mengunduh model makromolekul dari situs PDB dengan resolusi 1,8 Å. Makromolekul diunduh dalam format (.pdb). Selanjutnya makromolekul dipreparasi dengan memisahkan ligan alami dan menghilangkan molekul air atau residu non standar serta menganalisis adanya *missing* residu menggunakan program PyMOL. Struktur hasil pemisahan ini kemudian disimpan dengan format (.pdb).

2.3.2. Penyiapan Struktur Ligan

Data senyawa kimia hasil isolasi dari Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) diperoleh dari *database* KNApSAcK Family digunakan sebagai ligan uji. Jumlah ligan uji dari kayu jawa diperoleh 3 senyawa. Penyiapan struktur ligan uji dilakukan dengan mengunduh struktur 2D dan 3D pada *database* PubChem dengan struktur 3D disimpan dalam bentuk *file* (.sdf) dan sturktur 3D

2.3.3. Optimasi Ligan Uji

Optimasi ligan uji dilakukan dengan menggunakan Open Babel yang ada dalam perangkat lunak Autodock, dengan cara memasukkan struktur 3D *file* (.sdf) kedalam program kemudian dilakukan minimisasi energy dengan memilih minimize energy dengan menggunakan metode force field. Kemudian file diubah dari *file* (.sdf) menjadi *file* (.pdbqt) dengan memilih *convert to docking ligand* (.pdbqt).

2.3.4. Docking menggunakan *Autodock*

Docking molekul menggunakan program *autodock* vina. Proses *docking* dilakukan dengan pilih Vina *Wizard* dan *autodock* pada *navigator*, kemudian klik tombol start dan masukkan struktur 3D dari protein target *file* .pdb yang sudah dipreparasi dengan klik "*Add Macromolecule*", maka protein akan divisualisasikan di program *Autodock*. Dan masukkan senyawa kontrol dengan cara klik "*add ligan*". Kemudian buka program *open babel* untuk masukkan senyawa uji dengan melakukan optimasi terlebih dahulu. Maka senyawa uji akan muncul pada *navigator autodock* dengan *file* .pdbqt.

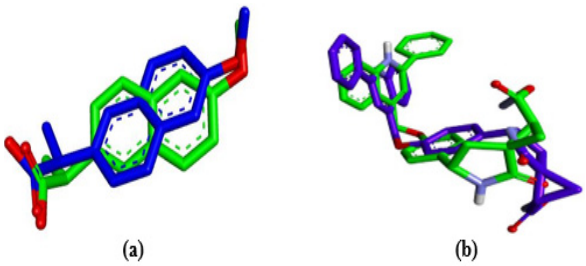
Proses *docking* dapat dimulai dengan memilih protein target dan senyawa uji pada *navigator autodock* dan klik *Forward*. Selanjutnya penentuan sisi pengikatan (*binding site*). Jika protein target sudah berikatan dengan ligan pada PDB, maka *grid box* disesuaikan dengan posisi sisi pengikatan dan dianalisis menggunakan perangkat lunak *discovery studio* dengan memasukkan struktur PDB ID *file* (.pdb) dan pilih *define* and *edit binding site* dan diperoleh pusat kordinat *grid box* yaitu untuk COX-2 x = -0.699; y = -51.5; z = -22.4, dan untuk TNF-α x = 48.875; y = 30.308; z = 44.389 dengan *grid box* = 40x40x40 dengan spasi 0,375 Ă. Proses *docking* dapat dilanjutkan dengan menekan tombol *forward*. Proses *docking* dimulai, tunggu sampai proses *running* selesai. Hasil *docking* akan muncul setelah proses *running* selesai dan akan muncul nilai *binding affinity* (ΔG) kkal/mol. Untuk menyimpan kompleks *docking* pada kolom *navigator*, klik kanan dan simpan dalam format pdb (*Save as* PDB).

2.3.5. Visualisasi dengan *Discovery Studio*

Analisis hasil *docking* untuk melihat interaksi antara reseptor dan ligan dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio*. Analisis dilakukan dengan memasukkan kompleks *docking file* (.pdb) dan diamati interaksi residu asam amino, ikatan hidrogen, jarak ikatan, dan interkasi hidrofobik yang terjadi.

2.3.6. Analisis Data

Data hasil penelitian akan dianalisis senyawa kimia *inhibitor* dari Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*) dengan melihat nilai ΔG sebagai hasil dari *docking* melaui metode skrining *in silico* menggunakan perangkat



Gambar 1. (a) posisi ligan hasil docking (biru) dan ligan alami (hijau) (b) posisi ligan hasil docking (hijau) dan ligan alami (biru)

lunak dan visualisasi menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio*. Dimana *binding affinity* atau energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan dalam *docking* menghitung energi ikatan antara ligan dan reseptor, makin rendah nilai ΔG mendeskripsikan bahwa makin baik afinitas yang terjadi antara ligan dengan reseptor.

3. Hasil

Hasil validasi metode *docking* pada reseptor COX-2 dengan (ligan alami naproxen, RMSD 0.987 Å) dapat dilihat pada gambar 1a dan reseptor TNF-α (ligan alami *(1S,3R,6S)-4-oxo-6-{4-[(2-phenylquinolin-4-yl)methoxy]phenyl}-5-azaspiro [2.4]heptane-1-carboxylic acid*, RMSD 0.856 Å) pada gambar 1b dengan *Autodock* vina.

4. Pembahasan

4.1. Hukum 5 Lipinski

Lipinski et al.(1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *World Drugs Index* dan menyimpulkan bahwa apabila berat molekulnya lebih besar 500 maka senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar +5; mempunyai ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5; dan mempunyai ikatan-H akseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10. Analisis tersebut dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima[12].

Hukum 5 lipinski yang pertama yaitu berat molekul. Dimana berat molekul terendah yaitu 302.000 g/mol dan berat molekul tertinggi yaitu sebesar 332.000 g/mol sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa yang diujikan menunjukkan berat molekul kurang dari 500 g/mol. Berat molekul yang lebih dari 500 mg/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel.

Hukum Lipinski yang kedua yakni nilai Log P. Senyawa yang diujikan memiliki nilai log P terendah yaitu 1.7923 dan nilai log P tertinggi yaitu 2.3897. Data yang diperoleh secara keseluruhan menunjukkan bahwa senyawa yang diujikan memenuhi hukum 5 lipinski nilai Log P yang tidak lebih dari +5. Semakin besar nilai log P maka molekul tersebut akan semakin hidrofobik. Jika molekul memiliki sifat yang terlalu hidrofobik maka akan cenderung memilki tingkat toksisitas yang tinggi. Hal ini disebabkan karena molekul akan tertahan lebih lama pada *lipid bilayer* dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh yang menyebabkan selektifitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Sedangkan nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena dapat mengakibatkan molekul tidak dapat melewati membran *lipid bilayer*.

Sifat fisikokimia ketiga dari hukum 5 lipinski yaitu jumlah hidrogen donor dan jumlah hidrogen akseptor. Semua senyawa uji sudah memenuhi kriteria dari hukum 5 lipinski untuk jumlah hidrogen donor dan jumlah hidrogen akseptor dimana jumlah hidrogen donor tidak lebih dari 5 dan jumlah hidrogen akseptor tidak tidak lebih dari 10[14].

4.2. Prediksi ADMET

Senyawa dapat terabsorpsi dengan baik jika nilai absorpsinya >80% dan absorpsinya

Tabel 1. Hukum Lima Lipinski

Nama Ligan	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	Persyaratan Hukum 5 Lipinski
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone	330.000	2.3897	6	1	Ya
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethixyflavanone	332.000	1.7923	7	3	Ya
Morin	302.000	2.0190	7	5	Ya

Tabel 2. Prediksi *in silico* sifat farmakokinetik (ADME) dan toksisitas ligan uji menggunakan pkcsm *online tool*

Nama Ligan	*Intestinal absorption (%)*	*Skin Permeability (log Kp)*	*VDss (logL/k)*	*BBB (log BB)*	*CYP2D6 substrate*	*CYP2D6 inhibitor*	*Total Clearance (log/ml/ min/kg)*	*Renal OCT Substrate*	*Ames Toxiciy*	*LD_{50} (mg/ kg)*
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxy flavanone	97.43	-2.82	-0.22	-0.41	Tidak	Tidak	0.23	Tidak	Ya	1.890
3,3',5-Trihydroxy -4',7-dimethixy flavanone	77.18	-2.73	-0.06	-0.99	Tidak	Tidak	0.19	Tidak	Ya	1.942
Morin	61.07	-2.73	0.23	-1.63	Tidak	Tidak	0.64	Tidak	Tidak	2.536

dikatakan buruk jika nilai absorpsinya <30%. Dapat dilihat pada tabel 2 dimana ligan uji 2 dan 3 memiliki nilai absorpsi <80% yaitu 61.07% dan 77.18% sedangkan ligan uji 1 memiliki nilai absorpsi >80% yaitu 97.43 sehingga dapat diprediksi bahwa sebagian ligan uji dapat terabsorpsi dengan baik di dalam tubuh[15].

Senyawa dapat dikatakan mempunyai permeabilitas kulit yang relative rendah jika nilai log Kp >-2.5. Pada tabel 2 diperoleh data nilai log Kp ligan uji -2.73 dan -2.82 dimana dapat dikatakan bahwa ligan uji memiliki nilai permeabilitas yang baik[16].

Volume distribusi (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VD, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada plasma. Senyawa dikatakan memiliki nilai volume distribusi rendah jika nilai log VD nya< -0.15 dan nilai volume distribusi tinggi jika >0.45. Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa nilai VDss ligan uji berkisar antara -0.06 sampai 0.23 dimana ligan uji 2 memiliki nilai VD < -0.15 sehingga dapat diprediksi bahwa hampir semua ligan uji dapat terdistribusikan secara merata dalam memberikan konsentrasi yang sama seperti plasma darah[17].

BBB (*Blood Brain Barrier*) yaitu kemampuan obat untuk menembus sawar otak merupakan parameter yang harus dipertimbangkan dalam mengurangi efek samping dan juga toksisitas dalam meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologinya ada di dalam otak. Senyawa dikatakan mampu menembus sawar otak dengan baik jika memiliki nilai Log BB >0.3 dan tidak dapat terdistribusi dengan baik jika Log BB <-1. Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa ligan uji memiliki nilai Log BB berkisar antara -0.41 hingga 1.63 dimana dapat nila tersebut lebih besar dari -1 sehingga dapat diprediksi bahwa semua ligan uji mampu menembus sawar otak secara moderat[18].

Sebagian besar reaksi metabolik akan melibatkan proses oksidasi. Sitokrom P450 merupakan enzim detoksifikasi yang penting di dalam tubuh yang ditemukan di hati dimana enzin ini bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing termasuk obat dan memfasilitasi ekskresi senyawa tersebut. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450, yang dalam penelitian ini diwakili oleh isoform sitokrom P2D6 (CYP2D6). Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa semua ligan uji tidak mempengaruhi ataupun menghambat enzim tersebut.

Dalam memprediksi eksresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT) dan *Renal Organic Cation Transporter* 2 (OCT2) *substrate*. CLTOT merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan renal clearance (ekskresi melalui ginjal). Hal ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis dalam mencapai konsentrasi *steady-state.* Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa nilai CLTOT dari semua ligan uji berkisar antara 0.19 sampai 0.64 dimana dari data tersebut dapat diprediksi kecepatan eksresi senyawa.

Organic Cation Transporter 2 adalah *transporter* pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan *clearance* obat-

Tabel 3. Hasil *docking* ligan uji dengan reseptor COX-2 dan TNF-α menggunakan *Autodock* Vina

Nama Ligan	Konstanta Inhibisi (ki) µM	Energi Ikatan (ΔG) kcal/mol	Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino
Naproxen (COX-2)	189.77	-9.17	1	14
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone	1.07	-8.14	1	14
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethixyflavanone	1.93	-7.80	2	14
Morin	2.37	-7.67	5	5
1S,3R,6S (TNF-α)	6.69	-15.25	2	6
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone	442.14	-8.67	1	9
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethixyflavanone	259.49	-8.98	4	10
Morin	245.59	-9.02	4	6

obatan dan senyawa endogen. OCT2 juga berpotensi menimbulkan interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan *inhibitor* OCT2. Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa semua ligan uji tidak mempengaruhi substrat OCT2 sehingga dapat diprediksi bahwa semua ligan uji bukan termasuk substrat OCT2.

Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu dapat bertindak sebagai karsinogen. Dapat dilihat pada tabel 2 bahwa senyawa uji 1 dan 2 bertindak sebagai karsinogen sedangkan senyawa uji 3 tidak bertindak sebagai karsinogen[19].

LD_{50} adalah dosis yang secara statik dapat membunuh 50% dari hewan coba. LD_{50} diklasifikasikan menjadi 6 kelas, yaitu kelas 1 besrsifat supertoksik (< 5 mg/kg), kelas 2 bersifat amat sangat toksik (5-50 mg/kg), kelas 3 bersifat sangat toksik (50-500 mg/kg), kelas 4 bersifat toksisitas sedang (0,5-5 g/kg), kelas 5 bersifat toksisitas ringan (5-15 g/kg), dan kelas 6 bersifat praktis tidak toksik (>15 g). Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa nilai LD50 beriksar antara 1.890 hingga 2.536 sehingga ligan uji masuk ke dalam kelas 6 bersifat praktis tidak toksik[20].

4.3. Validasi Metode

Parameter yang digunakan adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dimana ini merupakan suatu parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah dilakukannya *docking*. Metode dapat dikatakan valid apabila nilai RMSD nya sebesar ≤ 2 Å. Berdasarkan hasil proses validasi reseptor COX2 menunjukkan bahwa bentuk *overlay* ligan hasil validasi dengan ligan alami memiliki keidentikan yang ditunjukkan dengan nilai RMSD 0.987 Å. Sedangkan nilai RMSD dari hasil validasi reseptor TNF-α yaitu 0.856 Å[21-22].

4.4. Hasil Penambatan Molekul

Berdasarkan data yang diperoleh dapat dilihat bahwa semua energi ikatan dari ligan uji memiliki nilai negative sehingga memiliki aktivitas sebagai *inhibitor* reseptor COX-2 dan TNF-α namun afinitas dari ligan uji lebih rendah jika dibandingkan dengan ligan alami dimana nilai energi ikatan ligan alami naproxen sebesar -9.17 kcal/mol sedangkan ligan alami *(1S,3R,6S)-4-oxo-6-{4-[(2-phenylquinolin-4-yl)methoxy]phenyl}-5-azaspiro[2.4]heptane-1-carboxylic acid* sebesar -15.25 kcal/mol.

Sedangkan *3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone* sebagai ligan uji memiliki ikatan sisi aktif dari reseptor COX-2 dan memiliki potensi hambat yang lebih baik karena memiliki nilai energi ikatan dan nilai konstanta inhibisi yang paling rendah dari senyawa uji lainnya. Semakin rendah nilai energi ikatan maka ikatan antara protein dan ligan semakin stabil. Sedangkan konstanta inhibisi merupakan kekuatan suatu senyawa dalam menghambat reseptor target. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi maka semakin besar daya hambatnya terhadap reseptor target[23-24].

Ligan alami naproxen pada reseptor COX-2 menghasilkan 14 residu asam amino dengan 1 ikatan hidrogen. Ligan alami menghasilkan 6 residu asam amino dengan 4

Tabel 4. Interaksi COX-2 dan TNF-α dengan asam amino menggunakan *Discovery Studio*

Nama Ligan	Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain	Jarak Ikatan Hidrogen (Å)
Naproxen (COX-2)	TYR355	VAL116, ARG120, VAL349,LEU352, LUE359, VAL523, ALA527, ALA526 LEU531, PHE381, LEU384, TYR385, TRP387	1.87
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone	SER530	LEU93, VAL116, TYR348, VAL349, LEU352, TYR355, TYR385, TRP387, PHE518 MET522, VAL523, GLY526 ALA527,	2.005
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethixyflavanone	ARG120, TYR355	MET113, VAL116, ILE345, VAL349, LEU359, TRP387, LEU352, LEU359, VAL523, GLY526, ALA527, LEU531	2.136, 1.786
Morin	ARG120, TYR355, MET522, VAL523, SER530	VAL349, PHE518, GLY526, ALA527, LEU531	2.6, 1.765, 2.83, 2.624, 2.95
1S,3R,6S (TNF-α)	HIS405, GLU406	LEU401, VAL402, LYS432, ALA439	2.62, 2.025
3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone	LYS432	VAL402, HIS405, GLU406, HIS415, ILE438, ALA439, SER441, HIS444	2.86
3,3',5-Trihydroxy-4',7-dimethixyflavanone	GLY349, LEU401, GLU406, ASN447	LEU348, VAL402, HIS405, LYS432, VAL434, ALA439,	2.531, 2.2, 1.867, 1.91
Morin	GLU398, TYR433 VAL440, ASN447	LEU401, ALA439	2.165, 1.84, 2.97, 2.79

ikatan hidrogen. Ligan uji *3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone* menghasilkan 14 residu asam amino dengan 1 ikatan hidrogen pada reseptor COX-2 sedangkan ligan uji morin menghasilkan 6 residu asam amino dengan 4 ikatan hidrogen pada reseptor TNF-α. (dapat dilihat pada tabel 3.

Interaksi residu asam amino akan menggambarkan tempat dimana ligan akan berikatan dengan protein dimana semakin banyak jumlah ikatan hidrogen dan residu asam amino yang terbentuk maka akan semakin stabil ikatan antara ligan denganresptor tersebut. Hal ini dikarenakan kestabilan suau struktur protein dipengaruhi oleh ikatan hidrogen. Residu asam amino yang terbentuk memungkinkan adanya interaksi antara ligan dengan reseptor sehingga memiliki aktivitas sebagai penghambat.

Ikatan hidrogen yang terbentuk pada senyawa uji *3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone* pada COX-2 yaitu SER530 dengan jarak sebesar 2.005 Å. Sedangkan ikatan hidrogen yang terbentuk pada ligan alami dengan COX-2 yaitu TYR355 dengan jarak ikatan sebesar 1.8 dimana ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan alami dengan COX-2 lebih kuat dibandingkan dengan ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan uji dengan COX-2[25].

Ikatan hidrogen senyawa uji morin pada TNF-α yaitu GLU398, TYR433 VAL440, ASN447 dengan *range* jarak ikatan 1.84-2.97 Å. sedangkan ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan alami dengan TNF-α yaitu GLU406 dan HIS405 dengan jarak ikatan 2.02 dan 2.6. Sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk pada ligan uji dengan TNF-α yaitu GLU398 dan TYR433 memiliki ikatan hidrogen yang lebih kuat dibandingkan ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan alami dengan TNF-α. Hal ini menunjukkan bahwa jarak ikatan hidrogen dimana interaksi tersebut kuat karena yang terbentuk antara ligan dengan asam amino pada protein berjarak antara 3.0-5.0 Å[26].

Parameter konformasi ikatan menunjukkan ikatan asam amino yang dibentuk oleh ligan dan reseptor. Hasil pose terbaik dari penambatan molekuler adalah ikatan hidrogen pada gugus hidroksil dengan asam amino ARG68 dan ikatan karbon-hidrogen dengan asam amino SER530. Senyawa uji yang diamati mengandung setidaknya 1 asam amino yang sama dengan residu ligan alam, sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa uji juga berpotensi untuk berikatan dengan situs reseptor COX-2 dan TNF-α. Berdasarkan hasil yang diperoleh diketahui bahwa senyawa *3-hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanone* yang berasal dari tanaman kayu jawa memiliki energi ikatan paling kecil dibandingkan dengan senyawa uji lainnya (Tabel 3 dan 4). Semakin banyak ligan yang mengikat asam amino reseptor maka semakin dekat jarak antara mereka dan semakin stabil. Adanya hidrogen dapat mempengaruhi sifat kimia-fisika suatu obat

sehingga berperan penting dalam aktivitas biologis obat tersebut[31].

5. Kesimpulan

Dapat disimpulkan bahwa senyawa *3-hydroxy- 4',5,7-trimethoxyflavanone* terhadap COX-2 dan senyawa uji morin terhadap TNF-α berpotensi sebagai antiinflamasi dengan kemampuan lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami untuk berikatan dengan sisi aktif pada reseptor target.

Daftar Pustaka

1. Kumar V, Zulfiqar A. B, Dinesh K, N.A Khan, I.A Chashoo, M Y Shah. 2012. Evaluation of Anti-Inflamatory Potensial of Petal Extracs of Crocus sativus "Cashmerianus". International Journal of Phytopharmacology. 3(1); 27-31
2. Ilakkiya R, Neelvizhi K, Tamil S, et al. A Comparative Study of Anti-Inflammatory Activities of Certain Herbal Leaf Extracts. Int J Pharm Integr Life Sci 2013; 1: 67–77.
3. Madhavi P, Maruthi R, Kamala V, Habibur Rahman, M. Chinna E. 2012. Evaluation of Antiinflamatory Activity of Citrullus lanatus Seed Oil by Invivo and In-vitro Models. International Research Journal of Pharmaceutical and Applied Sciences. 2(4); 104-108
4. Manik, M.A. Wahid, S.M.A. Islam, A. Pal, K.T. Ahmed. 2013. A Comparative Study of the Antioxidant, Antimicrobial and Thrombolytic Activity of the Bark and Leaves of lannea coromandelica (Anacardiaceae). International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. Vol. 4(7): 2609-2614. E-ISSN: 0975-8232; P-ISSN: 2320-5148.
5. Venkata s. S. N. Kantamreddi, Y. Nagendra Lakshmi and V. V. V. Satyanarayana Kasapu. 2013. Preliminary phytochemical analysis of some important Indian plant species. International Journal of Pharma and Bio Sciences.
6. Alam Badrul, Hossain Sarowar, Habib Razibul, Rea Julia, dan Islam Anwarul. 2012. Antioxidant and Analgesic Activities of Lannea coromandelica Linn. Bark Extract. International Journal of Pharmacology 8 (4): 224-233. ISSN 1811-7775. Bangladesh.
7. Abdelazeem AH, Abdelatef SA, El-Saadi MT, et al. Novel pyrazolopyrimidine derivatives targeting COXs and iNOS enzymes; Design, synthesis and biological evaluation as potential anti-inflammatory agents. Eur J Pharm Sci 2014; 62: 197–211
8. J, Rositama MR, Alias N, et al. Discovering COX-2 inhibitors from flavonoids and diterpenoids. J Appl Pharm Sci 2017; 7: 103–110.
9. Shah K, Mujwar S, Gupta JK, et al. Molecular Docking and in Silico Cogitation Validate Mefenamic Acid Prodrugs as Human Cyclooxygenase-2 Inhibitor. Assay Drug Dev Technol 2019; 17: 285–291.
10. Yatam S, Jadav SS, Gundla KP, et al. 2-Mercapto Benzthiazole Coupled Benzyl Triazoles as New COX-2 Inhibitors: Design, Synthesis, Biological Testing and Molecular Modeling Studies. ChemistrySelect 2019; 4: 11081–11092.
11. Zhang Q, Zhang J, Xia P, et al. Anti-inflammatory activities of gentiopicroside against iNOS and COX-2 targets. Chinese Herb Med 2019; 11: 108–112.
12. C. A. Lipinski, "Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability," J. Pharmacol. Toxicol. Methods, vol. 44, no. 1, pp. 235–249, 2000.
13. R. Daneman and A. Prat, "The bloodbrain barrier," Cold Spring Harb. Perspect. Biol., vol. 7, no. 1, pp. a020412–a020412, Jan. 2015.
14. Syahputra G. Peran Bioinformatika Dalam Desain Kandidat Molekul Obat. Biotrends 2015; 6: 26–27.
15. Mahaman, Y. A. R., Huang, F., Wu, M., Wang, Y., Wei, Z., Bao, J., Salissou, M. T. M., Ke, D., Wang, Q., Liu, R., Wang, J.-Z., Zhang, B., Chen, D., & Wang, X. (2018). Moringa Oleifera Alleviates Homocysteine-Induced Alzheimer's Disease-Like Pathology and Cognitive

Impairments. Journal of Alzheimer's Disease, 63, 1141– 1159. https://doi.org/10.3233/JAD180091
16. Mortelmans, K., & Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. Mutation Research/ Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 455(1),29–60. https://doi.org/https://doi.org/10.101 6/S0027-5107(00)00064-6
17. Andres, T.M., McGrane, T., McEvoy, M.D. and Allen, B.F., 2019. Geriatric pharmacology: An update. Anesthesiology clinics, 37(3), pp.475-492. https://doi.org/10.1016/j.anclin.2019.04. 007.
18. Hossam K, Behnam, Luca., 2020. A blood-brain barrier overview on structure, fuction, impairment and biomarker of integrity. Fluids and barriers of the CNS. Biomedcentral
19. Pires D.E, Blundell.TL and Ascher D.B.pkCSM : predicting smallmolecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures J.med.chem 2015 : 58 (9) : 4066-4072. DOI : 10:1021/ acs.jmedchem 5b00104.
20. Sulastra, dkk., 2020. (Acute Toxicity And The Lethal Dose 50 Of Purple Yam Ethanol Extract (Dioscorea Alata L.) In White Rat (Rattus Norvegicus)). Jurnal Ilmiah Medicamento 6(1), 10-14.
21. Muchtaridi, Yusuf M. Molecular docking theory and practice. 1st editio. Bandung: Unpad Press, 2018
22. Ida Musfiroh, Et Al. In Silico Study Of Asiatic Acid Interaction With Inducible Nitric Oxide Synthase (INOS) And Cyclooxygenase-2 (COX-2) International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. ISSN- 0975-1491. Vol 5, Suppl 1, 2013.
23. Inbio-Indonesia. 'Bioinformatics Training Eksplorasi Potensi Senyawa Bahan Alam secara In Silico' Indonesian Institute of Bioinformatics. Malang: Universitas Brawijaya, 2016
24. Lu H-M, Yin D-C, Ye Y-J, et al. Correlation Between Protein Sequence Similarity and X-Ray Diffraction Quality in the Protein Data Bank. Protein Pept Lett 2009; 16: 50–55.
25. Olson, Arthur J., et al. (2001). Automated Docking Of Flexible Ligand To Receptors version 3.0.5.from http:// autodock.scripps.edu/faqs-help/manual/ autodock-3-user sguide/AutoDock3.0.5_ UserGuide.pdf
26. Trott, O., & Olson, A. (2009). Software News and Update Autodock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. Journal of Computational Chemistry , 0, 1-7.
27. Tiikkainen, P. (2010). Study of Ligand-Based Virtual Screening Tools in Computer-Aided Drug Design. Medica-Odontologica , 1-98
28. J. Kalita, D. Chetia, and M. Rudrapal, "Molecular docking, drug-likeness studies and ADMET prediction of quinoline imines for antimalarial activity," J. Med. Chem. Drug Des., vol. 2, no. 1, pp. 1-7, 2019.
29. Amirah S, Sardini J, Idrus HH. Anti-Inflammatory Potential Of Extract Of Nothopanax Fruticosum (L .) Miq By Method Of Erythrocyte Membrane Stability. Int J Med Sci Dent Res 2020; 03: 32–37.
30. Sukmawati, Fawwaz M, Pratama M, et al. Potential of Astaxanthin from Asian Tiger Shrimp (Penaeus Monodon) Shell Extract as an Antibacterial and Anti-inflammatory. J Glob Pharma Technol; 11.
31. Sigala, P. A., Ruben, E. A., Liu, C. W., Piccoli, P. M. B., Hohenstein, E. G., Martínez, T. J., Schultz, A. J., & Herschlag, D. (2015). Determination of Hydrogen Bond Structure in Water versus Aprotic Environments To Test the Relationship Between Length and Stability. Journal of the American Chemical Society, 137(17), 5730– 5740. https://doi.org/10.1021/ ja512980h