

## VALIDASI PENAMBATAN MOLEKUL UNTUK MENDAPATKAN LIGAN AKTIF PADA RESEPTOR *CYCLOOXYGENASE 2*

<sup>1</sup>Okta Nursanti\*

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Militer, Universitas Pertahanan, Republik Indonesia, Sentul, Bogor 16810

\*Corresponding Author: okta.nursanti@idu.ac.id

### ABSTRAK

Dalam proses mendesain obat banyak hal yang harus diperhatikan serta dalam pelaksanaannya membutuhkan waktu yang panjang dan kompleks juga membutuhkan biaya yang cukup besar dalam proses pengerjaannya. Hal ini memberikan ketertarikan terhadap peneliti untuk dapat menghasilkan metode yang lebih mudah dan efisien yaitu dengan teknik kimia komputasi I (*Molecular Docking*). Penelitian ini dilakukan untuk mempelajari interaksi senyawa bioaktif flavonoid dengan target reseptor *cyclooxygenase 2* yang di unduh dari *Protein Data Bank* dengan kode *1EQG* sebagai reseptor anti inflamasi. Untuk mengetahui besarnya interaksi senyawa bioaktif dengan target dilakukan dengan penpisan virtual melalui *Protox II Webs Server* untuk mengetahui toksisitas, *PkCSM* untuk mengetahui *ADMET* suatu senyawa dan penambatan molekul (*molecular docking*). Perangkat lunak penambatan molekul yang digunakan adalah *Arguslab* versi 4.0.1. Pada *arguslab* menggunakan validasi kombinasi *ArgusDock-Dock-Flexible* menghasilkan *RMSD* 1.4870 Angstrom dan *Gadock-Dock-Flexible* menghasilkan *RMSD* 2.372 untuk visualisasi hasil menggunakan *Discovery Studio 2016* dengan hasil ikatan asam amino sama dengan *redocking*, dari hasil penambatan molekul (*Molecular Docking*) menunjukkan bahwa delapan senyawa uji aman dan baik setelah uji *ADMET*, *Binding Energy* dari *Linolol*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol*, *Citral* lebih tinggi dibandingkan dengan ligan alami *Ibuprofen* pada *RMSD* < 2 Angstrom, tetapi ada dua ligan yang mendekati *binding energy* *Ibuprofen* yaitu *Cyclohexen* dengan *binding energy* -9.0508 dan *Zingeron* dengan *binding energy* -8.6427 sehingga mempunyai aktifitas yang baik untuk berikatan dengan reseptor *cyclooxygenase 2*.

**Kata kunci :** Kimia Komputasi (*docking*), *Protox II Web Server*, *PkCSM*, *Molekular Docking*, *Arguslab*, *Discovery Studio*, *Anti Inflamasi*

### ABSTRACT

In the process of designing drugs many things must be considered and in its implementation requires a long and complex time also requires substantial costs in the process of its processing. This gives interest to researchers to be able to produce methods that are easier and more efficient, namely the technique of computational chemistry I (*Molecular Docking*). This research was conducted to study the interaction of flavonoid bioactive compounds with *cyclooxygenase 2* receptor targets which were downloaded from the *Protein Data Bank* with code *1EQG* as an anti-inflammatory receptor. To find out the amount of interaction between bioactive compounds and the target, a virtual docking is done through *Protox II Webs Server* to determine the toxicity, *PkCSM* to know the *ADMET* of a compound and *molecular docking*. The *molecular docking* software used is *Arguslab* version 4.0.1. In *arguslab* using validation the *ArgusDock-Dock-Flexible* combination produces *RMSD* 1.4870 Angstroms and *Gadock-Dock-Flexible* produces *RMSD* 2.372 for visualization of results using *Discovery Studio 2016* with the results of amino acid bonds similar to *redocking*, from the results of *molecular docking* (*Molecular Docking*) shows that eight safe and good test compounds after the *ADMET* test, The *Binding Energy* of *Linolol*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol*, *Citral*, is higher than the natural ligand of *Ibuprofen* at *RMSD* > 2 Angstrom, but there are two ligands that approach the *binding energy* of *Ibuprofen* namely *Cyclohexen* with *binding energy* -9.0508 and *Zingeron* with *binding energy* -8.6427 so it has good activity to bind to the *Cyclooxygenase 2*.

**Keywords:** *Computational Chemistry* (*docking*), *Protox II Web Server*, *PkCSM*, *Molekular Docking*, *Arguslab*, *Discovery Studio*, *Anti-Inflammatory*. **Keyword :** *Arbutin*, *Hydroquinone*, *Serum Brightening*, *Spectrophotometry UV-Visible*

## PENDAHULUAN

Dalam proses mendesain obat banyak hal yang harus diperhatikan serta dalam pelaksanaannya membutuhkan waktu yang panjang dan kompleks juga membutuhkan biaya yang cukup besar dalam proses pengerjaannya, hal ini memberikan ketertarikan terhadap peneliti untuk dapat menghasilkan metode yang lebih mudah dalam menemukan obat baru dengan efektifitas yang tidak jauh berbeda bahkan lebih baik potensinya dibandingkan dengan obat sintesis yang telah beredar di masyarakat luas.

Strategi yang banyak dikembangkan untuk mendesain obat dan upaya yang efektif serta juga ekonomis untuk penemuan obat baru adalah dengan pemanfaatan kimia komputasi yang meliputi penapisan virtual ADMET senyawa zat uji dengan reseptor yang berikatan.

Dalam kehidupan sehari-hari terapi herbal dipercaya sejak jaman dahulu kala telah menjadi obat yang harganya murah, bahan yang relatif mudah di dapat, pembuatan yang sederhana, tidak memiliki efek samping yang membahayakan karena memakai bahan-bahan alami contohnya tanaman obat berasal dari family zingiberaceae.

*zingiberaceae* merupakan *family* terbesar dari *ordo zingiberales* yang termasuk salah satu suku anggota tumbuhan berbunga, dengan perkiraan 50 *genus* dan lebih dari 1000 spesies.

*Family zingiberaceae* secara umum lebih dikenal dengan kelompok tumbuhan jahe-jahean yang memiliki ciri-ciri yaitu diantaranya berperawakan herba dengan rimpang yang mengandung minyak yang dapat menguap berbau aromatik, batang berada di atas tanah sering kali hanya pendek dan mendukung bunga-bunga saja, daun tunggal, tersusun dalam dua baris, helaian daun biasanya lebar dengan ibu tulang yang tebal dan tulang-tulang cabang yang sejajar dan rapat satu dengan yang lain.

Pada kehidupan sehari-hari temu-temuan biasa digunakan sebagai tanaman hias, bumbu masakan, dan obat tradisional dengan berbagai manfaat diantara lain sebagai, anti diabetes, infeksi bakteri, anti inflamasi dan masih banyak lagi.

Jenis *family zingiberaceae* memiliki manfaat diantaranya sebagai anti inflamasi Yang merupakan respons protektif setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan jaringan, yang berfungsi menghancurkan, mengurangi, atau mengurangi (sekuestrasi) baik agen pencedera maupun jaringan yang cedera itu (Dorland, 2002).

Tujuan akhir dari respon inflamasi adalah menarik protein plasma dan fagosit ke tempat yang mengalami cedera atau terinfeksi agar dapat mengisolasi, menghancurkan, atau menginaktifkan agen yang masuk, membersihkan debris dan mempersiapkan jaringan untuk proses penyembuhan (Corwin, 2008)

*Family zingiberaceae* memiliki potensi anti radang alami dan akan di bandingkan dengan obat-obat anti inflamasi yang telah beredar dimasyarakat luas

penelitian akan dilakukan dengan membandingkan anti inflamasi yang beredar di masyarakat luas dengan zat aktif yang berada dari tanaman *family zingiberaceae* yang berikatan dengan reseptor COX2 sebagai reseptor antiradang.

### Identifikasi Masalah

1. Bagaimana hasil penambatan molekul dari *family zingiberaceae* di sisi aktif protein target reseptor COX2 sebagai anti inflamasi menggunakan software *arguslab* ?
2. Bagaimana interaksi asam amino yang terjadi antara senyawa uji tanaman dengan family zingiberaceae dengan reseptor *cyclooxygenase*.

### Tujuan Penelitian

1. Melihat interaksi yang terjadi antara senyawa antiradang dari *family zingiberaceae* setelah dilakukan penambatan molekul dengan target reseptor COX2 dengan anti inflamasi pembanding *Ibuprofen*.
2. Dapat mengetahui hasil penambatan molekul dari *family zingiberaceae* di sisi aktif protein target reseptor COX2 sebagai antim inflamasi menggunakan software *arguslab* ?

### Kegunaan Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi penambatan molekul (molecular docking) dari *family zingiberaceae* dengan target reseptor COX2 yang dilakukan dengan bantuan aplikasi perangkat lunak dari komputer (in silico).
2. Bagi peneliti sendiri, penelitian ini dapat menambah pengetahuan dan keterampilan dalam melakukan proses penambatan molekul (molecular docking).
3. Mendapatkan senyawa baru dengan potensi antiradang yang berkaitan dengan reseptor COX2.

### Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni 2021 di Laboratorium Kimia Medisinal-Komputasi, Fakultas Farmasi Militer Universitas Pertahanan

### METODOLOGI PENELITIAN

#### Alat dan Bahan

##### 1.6.1 Alat

###### A. Hardware

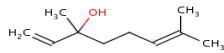
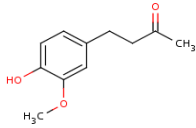
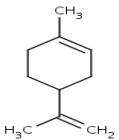
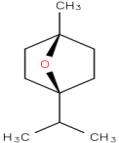
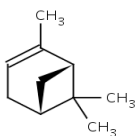
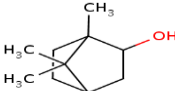

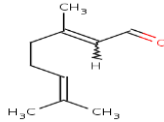
Hardware yang akan digunakan pada penelitian ini adalah Laptop merek ASUS processor Core I3 dengan sistem operasi Windows 7 64 bit,

###### B Software

1. *Protein Data Bank* di gunakan untuk mencari reseptor yang berpasangan dengan ligan uji, *Protein Data Bank* dapat di akses secara gratis di (<http://www.rcsb.org>).
2. *Pro Tox Prediction Webserver* di gunakan untuk memprediksi ADMET senyawa uji, dapat di akses secara gratis di (<http://tox.charite>).
3. *Lipinski Rule of Five Webserver* di gunakan untuk memprediksi suatu molekul agar dapat dilanjutkan simulasi docking, dapat di akses secara gratis di (<http://www.scfbio-iitd.res.in>)
4. *Chebi Webserver* di akses untuk menggambar struktur kimia senyawa uji. *Chebi* dapat di akses secara gratis di (<https://www.ebi.ac.uk>)
5. *Swiss target Webserver* di akses untuk memprediksi metabolisme enzim. dapat di akses di (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)
6. *Discovery Studio* digunakan untuk visualisasi dan analisis asam amin, dapat di download secara gratis di (<http://www.3dsbiovia.com>).
7. *Arguslab Webserver* digunakan untuk molecular docking, dapat di download secara gratis di (<http://www.3dsbiovia.com>)

##### 1.6.2 Bahan.

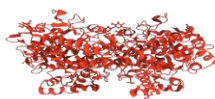
Bahan senyawa uji yang akan di gunakan dalam penapisan virtual docking yaitu dari *family zingiberaceae*.

NO	Senyawa Uji	Struktur Kimia
1	<i>Linolol</i>	
2	<i>Zingerone</i>	
3	<i>Limonene</i>	
4	<i>Cineol</i>	
5	<i>Pinen</i>	
6	<i>Borneol</i>	
7	<i>Cyclohexene</i>	
8	<i>Citral</i>	

### 1. Reseptor3D Cyclooxygenase 2

Struktur dari reseptor *Cyclooxygenase 2* dengan kode protein data bank1 EQG yang didownload dari PDB dengan Experimental Data Snapshot

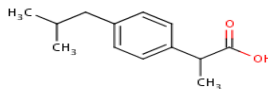
- Method: X-RAY DIFFRACTION
- Resolution: 2.61 Å
- R-Value Free: 0.250
- R-Value Work: 0.223



Gambar 1 Reseptor *Cyclooxygenase 2* Tipe 1EQG

### 1. ligan Pemanding

ligan pemanding dalam penelitian ini menggunakan Ibuprofen yang struktur kimianya dipisahkan dari reseptor 1EQG di discoveri studio



**Gambar 2 Struktur ligan pemanding Ibuprofen**

## CARA KERJA

### 1. Prediksi Molekuler Ligan Dan Toksisitas

Senyawa dari tanaman *Family Zingiberaceae* di uji menggunakan *Protox Web Server* yang dapat di akses secara gratis di (<http://tox.charite.de>). *Protox Web Server* adalah software yang dapat memprediksi toksisitas dari suatu senyawa yang sangat kecil di sertai dengan prediksi keakuratan LD 50 %.Berikut langkah-langkah dalam mengakses *Protox Web Server* :

1. *Protox eb Server* yang dapat diakses secara gratis di (<http://tox.charite.de>).
2. Setelah memasuki *web Protox Web Server* klik '*PROTOX PREDICTION*' pada menu bar, kemudian akan masuk ke halaman berikutnya untuk uji toksisitas.
3. Lalu pada kolom *Pubchem Name* masukan nama senyawa yang akan kita teliti, kemudian akan di arahkan ke lembar kerja berikutnya dengan tampilan struktur senyawa yang dimaksud dengan tampilan 2D.
4. Pada *icon addition models* centang semua model toksik prediksi kemudian tekan tombol *start tox-prediction* kemudian akan muncul hasil prediksi toksisitas senyawa yang akan di teliti.
5. Setelah muncul halaman kerja prediksi toksisitas yang mencakup informasi seperti prediksi LD 50, *Average Similary*, *Prediction Accuracy* dan Model Toksisitas.
6. *Lethal Dose 50 of reseptor (LD 50)* adalah dosis yang diberikan dalam bentuk miligram per berat badan hewan uji yang dapat menyebabkan 50% respon kematian pada hewan uji dalam jangka waktu tertentu.
7. *Average Similary, Prediction Accuracy*  
Prediksi toksistas pada suatu senyawa terbagi menjadi beberapa kelas seperti berikut :

- a) Kelas I: fatal jika tertelan ( $LD50 \leq 5$ )
- b) Kelas II: fatal jika tertelan ( $5 < LD50 \leq 50$ )
- c) Kelas III: beracun jika tertelan ( $50 < LD50 \leq 300$ )
- d) Kelas IV: berbahaya jika tertelan ( $300 < LD50 \leq 2000$ )
- e) Kelas V: mungkin berbahaya jika tertelan ( $2000 < LD50 \leq 5000$ )
- f) Kelas VI: tidak beracun ( $LD50 > 5000$ )

Prediksi kelas toksistas yang digunakan adalah kelas 4 Sampai dengan kelas 6 dan kesamaan rata-rata toksisitas, prediksi akurasi toksisitas harus bernilai 100% untuk keamanan uji, Jika nilai prediksi toksisitas dibawah 100% maka senyawa tersebut diragukan untuk tahap uji selanjutnya.

### 8. Model Toksisitas.

Model toksisitas dalam *Protox Web Server* ditampilkan dalam bentuk tabel yang menggambarkan prediksi toksisitas terhadap tubuh yang meliputi hepatotoksik, sitotoksik, karsinogenik, mutagenik dan, imunotoksik, jika senyawa aktif berpotensi toksik dalam table akan tertulis 'active' dengan latar berwarna merah dan jika senyawa tidak aktif dan tidak berpotensi toksik dalam table akan tertulis 'inactive' dengan latar berwarna hijau.

### 2. Pencarian Ligan

Pencarian senyawa ligan dari *family zingiberaceae* bisa di download dari *Chemical Entitas of Biological Interes datase* (ChEBI) (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>) merupakan kamus Entitas molekuler yang tersedia bebas yang berfokus kepada senyawa kimia yang mengacu pada molekul,

atom, ion, pasangan ion, ion radikal, conformer, yang dalam keadaan isotopik dan dapat diidentifikasi sebagai entitas yang dapat dibedakan secara terpisah.

Berikut adalah tahapan dalam pencarian ligan menggunakan *ChEBI Webserver* :

1. Masuk ke data base *ChEBI Web Server*. yang di akses secara gratis di (<https://www.ebi.ac.uk/chebi/>).
2. masukan nama senyawa yang akan kita teliti, setelah muncul senyawa yang dimaksud, double klik pada senyawa tersebut.
3. Kemudian akan ada tampilan senyawa beserta struktur molekulnya dalam bentuk 2D, kemudian di download dengan menggunakan format molfile pada format senyawa tersebut.
4. Apabila nama senyawa yang kita cari tidak dapat ditemukan kita dapat menggambar struktur senyawa tersebut pada lembar kerja yang telah disediakan di *ChEBI Web Server*.  
Semua struktur senyawa dalam bentuk 2D di download dalam format molfile di *ChEBI Web Server* kemudian di save dengan nama masing-masing senyawa

### 3. Uji Prediksi Target

Dalam Uji Prediksi Target ditujukan untuk memprediksi target makromolekul dari molekul kecil bioaktif. Ini berguna untuk memahami mekanisme molekuler yang mendasari fenotipe atau bioaktivitas yang diberikan, untuk merasionalisasi kemungkinan efek samping, untuk memprediksi target yang tidak tepat dan untuk menilai kemungkinan repurposisi senyawa yang relevan dengan terapi. dan memprediksi molekul-molekul tidak dikenal dengan menggunakan langkah kombinasi kesamaan 2D dan 3D, Berikut langkah-langkah dalam pengujian molekul:

1. masuk ke *Swiss Target Prediction* yang dapat di akses secara gratis di (<http://www.swisstargetprediction.ch/>)
2. setelah masuk halaman *Swiss Target Prediction* masukan senyawa yang akan kita uji dalam bentuk SMILE atau bisa menggambar struktur senyawa uji di lembar kerja yang telah disediakan, kemudian klik tombol *submit*.
3. Setelah terbuka halaman baru, terdapat penjelasan dan gambaran dari senyawa yang akan uji.

#### 4. Pengujian *Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMET)*

*pkCSM* adalah sebuah data base yang menyediakan informasi farmakokinetik untuk senyawa yang akan diuji dengan prediksi farmakokinetik suatu senyawa menggunakan grafik. Parameter yang diuji meliputi *Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, Toksisitas (ADMET)*

*Pengoprasian pkCSM* dapat di akses secara gratis di (<http://www.swisstargetprediction.ch/>), Berikut langkah-langkah pengujian *ADMET* :

1. Akses predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures *pkCSM* yang dapat diakses secara gratis di (<http://www.swisstargetprediction.ch/>).
2. Klik tombol *pkCSM* maka akan diarahkan ke Farmacokinetic Properties kemudian masukan SMILES file atau rumus File dari senyawa uji yang telah di download sebelumnya
3. Setelah dimasukkan file yang akan diuji kemudian double klik pada tombol 'ADMET' maka akan tampil parameter farmakokinetik yang dapat kita ambil kesimpulannya.

### 5. Pencarian Struktur Reseptor

Pencarian struktur reseptor di *Protein Data Bank* yang dapat diakses secara gratis di (<http://www.rcsb.org>). *Protein Data Bank (PDB)* adalah sebuah webserver yang menyediakan data base struktur 3D berukuran besar, seperti protein dan asam nukleat.

## PEMBAHASAN

### 1. Protox Web Server

PROTOX adalah server web ditujukan untuk toksisitas prediktif molekul kecil. Ini dirancang untuk berbagai format input bahan kimia baik dengan nama generik, struktur, atau formula kimia dan mengklasifikasikan bahan kimia berdasarkan database referensi program. Model khusus ini menilai toksisitas "oral" prediktif dan akan menghasilkan beberapa hasil potensial seperti Average Similarity, Prediction Accuracy, LD 50, Klas Toksisitas.

**Tabel 1. Hasil Prediksi Toksisitas dengan Protox Web Server**

No	Senyawa	Hepatotoxicity	Carcinogenicity	Immunotoxicity	Mutagenicity	Cytotoxicity
1	Linolool	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
2	Zingeron	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
3	Limonen	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
4	Cineol	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
5	Pinen	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
6	Borneol	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
7	Cyclohexen	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
8	Citral	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
9	Ibuprofen	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Dari tabel diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa yang akan diuji tidak berpotensi toksik dari hepatotoksik, karsinogenik, Mutagenik dan sitotoksik sedangkan senyawa pembanding Ibuprofen mempunyai potensi Hepatotoksik

**Table 2. Hasil prediksi toksisitas**

No	Nama Zat	Average Similarity	Prediction Accuracy	LD 50 mg/kg	Toxicity Class
1	Linolool	100%	100%	2200	5
2	Zingeron	100%	100%	2580	5
3	Limonen	100%	100%	4400	5
4	Cineol	100%	100%	2480	5
5	Pinen	100%	100%	3700	5
6	Borneol	100%	100%	500	5
7	Cyclohexen	100%	100%	1300	4
8	Citral	100%	100%	500	4
9	Ibuprofen	100%	100%	299	3

Prediksi toksistas pada suatu senyawa terbagi menjadi 6 kelas dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Kelas 1 fatal jika tertelan ( $LD_{50} \leq 5$ )
2. Kelas 2: fatal jika tertelan ( $5 < LD_{50} \leq 50$ )
3. Kelas 3: beracun jika tertelan ( $50 < LD_{50} \leq 300$ )
4. Kelas 4: berbahaya jika tertelan ( $300 < LD_{50} \leq 2000$ )
5. Kelas 5: mungkin berbahaya jika tertelan ( $2000 < LD_{50} \leq 5000$ )
6. Kelas 6: tidak beracun ( $LD_{50} > 5000$ )

Dosis LD 50 adalah dosis yang diberikan dalam satuan mg per berat badan (mg/bb) terhadap hewan uji yang dapat mengakibatkan kematian pada 50% hewan uji dalam jangka waktu tertentu, semakain kecil *class* yang ditunjukkan maka semakin besar prediksi toksisitasnya dan sebaliknya semakin besar *class* yang ditunjukkan maka semakin aman juga suatu senyawa tersebut.

Dari tabel diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa uji yaitu Linolool, Zingeron, Limonen, Cineol, Pinen, Borneol memiliki toksisitas klas 5 yang lebih aman apa bilan digunakan dibandingkan Cyclohexen klas 4, Citral klas 4 dan Ibuprofen klas 3 yang mempunyai resiko toksisitas yang lebih tinggi.

## 2. ADMET

ADMET adalah singkatan dalam farmakologi dan farmakokinetik. Obat yang masuk dalam tubuh kita melalui berbagai cara pemberian, yang meliputi absorpsi (A), distribusi (D), metabolisme (M), dan ekskresi (E). Toksisitas (T) kelima kriteria ini mempengaruhi tingkat kinetika paparan obat ke jaringan serta pengikatan untuk sampai ditempat kerja dan menimbulkan efek yang diinginkan.

**Tabel 3. Hasil Prediksi Absorpsi pKCSM**

No	Senyawa	Caco2 permeability	Intestinal absorption	P-glycoprotein substrate
1	Linolool	1.002	93.997	No
2	Zingeron	1.227	95.889	No
3	Limonen	1.401	95.898	Yes
4	Cineol	1.485	96.505	Yes
5	Pinen	1.38	96.041	No
6	Borneol	1.489	94.357	No
7	Cyclohexen	1.402	94.706	No
8	Citral	1.504	95.317	No
9	Ibuprofen	.1306	95.985	No

Caco-2 terdiri dari sel-sel adenokarsinoma kolorektal epitel manusia. Caco-2 monolayer sel secara luas digunakan sebagai model *in vitro* dari mukosa usus manusia untuk memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Model ini didasarkan pada 674 molekul seperti obat dengan nilai permeabilitas Caco-2 dan memprediksi logaritma koefisien permeabilitas semu ( $\log P_{app}$ :  $\log \text{ cm/s}$ ). Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika memiliki  $P_{app} > 8 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ . Untuk model prediktif pKCSM, permeabilitas Caco-2 yang tinggi akan diterjemahkan dalam nilai prediksi  $> 0,90$ . Dari data diatas diperoleh hasil bahwa senyawa uji yaitu Limonen, Citral, Pinen, Borneol, Cyclohexen, cineol, Zingeron, dan Linolool memiliki permeabilitas yang baik dan dapat dibandingkan dengan senyawa uji yaitu Ibuprofen

**Tabel 4. Hasil Prediksi Distribusi pKCSM**

No	Senyawa	VD <sub>ss</sub> (human)	BBB permeability	CNS permeability
1	Linolool	0.014	0.581	-2.004
2	Zingeron	0.076	0.142	-2.076
3	Limonen	0.396	0.732	-2.37
4	Cineol	0.491	0.368	-2.972
5	Pinen	0.667	0.791	-2.201
6	Borneol	0.39	0.646	-2.351
7	Cyclohexen	0.259	0.253	-2,664
8	Citral	0.169	0.635	-2.006
9	Ibuprofen	-0.67	-0.58	-2.38



VDss adalah volume teoretis dosis total obat harus didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti dalam plasma darah. VDss dianggap rendah jika di bawah 0,71 L/kg ( $\log VDss < -0,15$ ) dan tinggi jika di atas 2,81 L/kg ( $\log VDss > 0,45$ ).

Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa Linolol, Zingerone, limonene, Borneol, Cyclohexen, Citra dan ibuprofen memiliki distribusi yang rendah dibandingkan dengan Cineol, dan Pinen memiliki distribusi yang lebih baik.

BBB adalah kemampuan suatu obat untuk masuk ke otak untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan kemanjuran aktivitas farmakologi suatu obat. BBB diukur secara eksperimental. Untuk senyawa yang diberikan,  $\log BB > 0,3$  dianggap siap melewati sawar darah-otak sementara molekul dengan  $\log BB < -1$  kurang terdistribusi ke otak. Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa Senyawa yang akan di uji yaitu Linolol, Zingerone, limonene, Borneol, Cyclohexen, Citra, Cineol, dan Pinen memiliki BBB yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa uji yaitu Ibuprofen.

CNS Permeability adalah pengukuran yang diperoleh dari perfusi otak dengan senyawa yang langsung disuntikkan ke dalam arteri karotis. Ini tidak memiliki efek distribusi sistemik yang dapat mengganggu penetrasi otak secara eksperimental. Senyawa dengan  $\log PS > -2$  dianggap menembus Sistem Saraf Pusat (CNS), sedangkan senyawa dengan  $\log PS < -3$  dianggap tidak dapat menembus CNS.

Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa senyawa uji yaitu Linolol, Zingeron, Limonen, Cineol, Pinen, Cyclohexen, Borneol dan Citral dapat menembus sistem saraf pusat dan dapat dibandingkan dengan senyawa uji ibuprofen yang juga dapat menembus sistem saraf pusat.

**Tabel 5 Hasil Prediksi Metabolisme Virtua pKCSM**

No	Senyawa	CYP2D6	CYP3A4	CYP1A2
1	Linolol	Tidak	Tidak	Tidak
2	Zingeron	Tidak	Tidak	Ya
3	Limonen	Tidak	Tidak	Tidak
4	Cineol	Tidak	Tidak	Tidak
5	Pinen	Tidak	Tidak	Tidak
6	Borneol	Tidak	Tidak	Tidak
7	Cyclohexen	Tidak	Tidak	Tidak
8	Citral	Tidak	Tidak	Tidak
9	Ibuprofen	Tidak	Tidak	Tidak

Enzim CYP berfungsi sebagai katalis oksidator pada lintasan metabolisme steroid, asam lemak, termasuk obat, racun. Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa senyawa uji yaitu Linolol, Zingeron, Limonen, Cineol, Pinen, Cyclohexen, Citral dan senyawa pembanding Ibuprofen dapat dimetabolisme pada lintasan metabolisme steroid.

**Tabel 6 Hasil Prediksi Eksresi pKCSM**

No	Senyawa	AMES	Rat Chronic	Skin	T.Pyriformis	Minnow
1	Linalool	Tidak	2.043	Ya	0.511	1.189
2	Limonene	Tidak	2.336	Ya	0.579	1.203
3	Zingeron	Tidak	2.903	Tidak	1.15	0.783
4	Cineol	Tidak	2.01	Ya	0.171	1.735
5	Pinen	Tidak	1.77	Tidak	0.45	1.159
6	Borneol	Tidak	1.788	Ya	0.199	1.068
7	Cyclohexen	Tidak	2.1	Tidak	0.506	2.102
8	Citral	Tidak	2.150	Ya	1.042	0.826
9	Ibuprofen	Ya	1.613	Tidak	0.447	1.307

Total Clearance Klirens obat diukur dengan konstanta proporsionalitas CL<sub>tot</sub>, dan terjadi terutama sebagai kombinasi klirens hepatic (metabolisme di hati dan bilier) dan klirens ginjal (ekskresi melalui ginjal. Log clearance total yang diprediksi (CL<sub>tot</sub>) dari senyawa yang diberikan dalam log (ml/menit/kg).

Renal OCT2 substrate Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pengambilan ginjal yang memiliki peran penting dalam disposisi dan pembersihan obat dan senyawa endogen ginjal. Substrat OCT2 juga memiliki potensi untuk interaksi yang merugikan dengan inhibitor OCT2 yang diberikan bersama.

AMES toxicity digunakan untuk menilai senyawa yang berpotensi mutagenik dengan menggunakan bakteri. Tes positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan kemungkinan dapat bertindak sebagai karsinogen

**Tabel 7 Hasil Prediksi Toksisitas pKCSM**

No	Senyawa	Total Clearance	Renal OCT2
1	Linolool	0.446	Tidak
2	Zingeron	0.347	Tidak
3	Limonen	0.213	Tidak
4	Cineol	1.009	Tidak
5	Pinen	0.043	Tidak
6	Borneol	1.035	Tidak

7	Cyclohexen	0.172	Tidak
8	Citral	0.376	Tidak
9	Ibuprofen	0.483	Tidak

Berdasarkan tabel di atas dapat disimpulkan bahwa senyawa uji yaitu Linolool, Zingeron, Limonen, Cineol, Pinen, Cyclohexen, Borneol dan Citral tidak memiliki potensi mutagenik sedangkan senyawa pembanding ibuprofen memiliki potensi mutagenik.

### 3. Docking (Penambatan Molekul)

Arguslab versi 4.0.1. Arguslab merupakan program yang terintegrasi untuk memprediksi interaksi (ikatan) antara ligan dengan protein. Software ini dapat menangani semua aspek dalam proses docking dari preparasi molekul guna penentuan situs aktif pengikatan yang potensial dari protein target serta prediksi model pengikatan dari ligan. Parameter yang digunakan pada proses *molecular docking* dengan Arguslab versi 4.0.

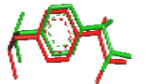
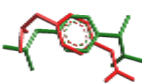
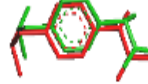
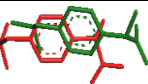
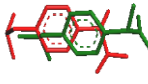
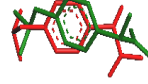
Berikut perlakuan Docking dengan Argusdock-Dock-Rigid, Argusdock-Dock-Flexible, Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only,

**Tabel 8. Hasil Validasi Docking**

No	Senyawa	Binding Energi (kcal/mol)
1	Pinen	-11.571 -11.6714 -11.6723 -11.5166 -11.6714
	Rata-rata	-11.6205
2	Citral	-9.7854 -10.4684 -10.7474 -9.7854 -10.2684
	Rata-rata	-10.564
3	Borneol	-11.0415 -11.0511 -11.0861 -11.0415 -11.0511
	Rata-rata	-11.2769
4	Cineol	-11.0542 -11.3015 -11.3841 -11.1330 -11.3015
	Rata-rata	-11.2769
5	Ibuprofen	-9.3337 -9.6347 -9.3371 -10.0441 -10,7571
	Rata-rata	-9.8207
6	Cyclohexen	-9.6782 -9.3744 -12.7830 -13.3746 -11.5489
	Rata-rata	-11.2769




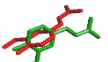
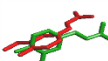
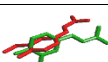
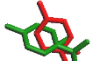
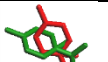
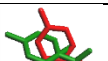
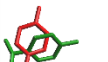



	Rata-rata	-9.0508
7	Limonen	-11.4698 -10.7089 -11.413 -11.2817 -11.5489
	Rata-rata	-11.2844
8	Linolool	-10.4747 -10.7801 -10.7089 -10.4747 -10.7084
	Rata-rata	-10.6293
9	Zingeron	-7.3206 -9.5270 -9.5260 -7.3206 -9.5193
	Rata-rata	-8.6427













**Tabel 9. Hasil Validasi Docking Ibuprofen**



No	Perlakuan	Nilai RMSD (Angstrom)	Gambar
1	Argusdock -Dock- Rigid	3.046	
2	Argusdock -Dock- Flexible	2,9393	
3	Argusdock -Dock- Selectid Tersion Only	4.9383	
4	Gadock- Dock- Rigid	5.3065	
5	Gadock- Dock- Flexible	4.7404	
6	Gadock- Dock- Selectid Tersion Only	2.0399	

Hasil validasi diatas menunjukkan bahwa kombinasi Gadock -Dock-Rigid , Gadock -Dock-Flexible , Gadock -Dock-Selectid Tersion Only menghasilkan RMSD 0.2372 Angstrom terendah yaitu Angstrom dengan satu pose terbaik dari 98 pose

**Tabel 10. Hasil Validasi Docking Ligan Uji Dan Ligan Pemanding**

No	Nama Senyawa	Perlakuan Docking	RMSD Angstrom	Gambar
1	Linolool	Argusdock-Dock-Rigid	1.2765	
		Argusdock-Dock-Flexible	1.059	
		Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only	1.2923	
2	Zingerone	Argusdock-Dock-Rigid	1.4278	
		Argusdock-Dock-Flexible	1.4274	
		Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only	1.9385	
3	Limonen	Argusdock-Dock-Rigid	1.2811	
		Argusdock-Dock-Flexible	1.059	
		Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only	1.2923	
4	Cineol	Argusdock-Dock-Rigid	1.922	
		Argusdock-Dock-Flexible	1.444	
		Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only	1.922	
5	Pinen	Argusdock-Dock-Rigid	1.7473	







		Argusdo ck-Dock- Flexible	1.7473	
		Argusdo ck-Dock- Selectid Tersion Only	1.7473	
6	Borneol	Argusdo ck-Dock- Rigid	0.598	
		Argusdo ck-Dock- Flexible	1.220	
		Argusdo ck-Dock- Selectid Tersion Only	1.085	
7	Cyclohex en	Argusdo ck-Dock- Rigid	1.346	
		Argusdo ck-Dock- Flexible	1.166	
		Argusdo ck-Dock- Selectid Tersion Only	1.346	
8	Citral	Argusdo ck-Dock- Rigid	0.1895	
		Argusdo ck-Dock- Flexible	0.189	
		Argusdo ck-Dock- Selectid Tersion Only	0.2007	
9	Ibuprofe n	Argusdo ck-Dock- Rigid	3.046	












		Argusdock-Dock-Flexible	2,9393	
		Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only	4.9383	

Binding energi hasil docking ligan-ligan diatas pada RMSD < 2 Amstrong dari atom senyawa hasil docking diterima jika kurang atau sama dengan 2 angstrom, RMSD merupakan perbandingan nilai sudut molekul ligan hasil docking dengan ligan awal.











Perlakuan validasi dilakukan Sebanyak enam kali terhadap masing-masing pose yang dihasilkan dan dievaluasi terhadap satu pose docking dengan skor terendah. Parameter yang dievaluasi adalah nilai RMSD dari hasil pose terendah. Hasil validasi menunjukan bahwa kombinasi Argusdock-Dock-Rigid, ArgusDock-Dock-Flexible, Argusdock-Dock-Selectid Tersion Only menghasilkan RMSD 0.189 Angstrom dengan satu pose terbaik dari 50 pose

**Tabel 10. Hasil Validasi Docking Ligan Uji Dan Ligan Pemanding**

No	Nama Senyawa	Perlakuan Docking	RMSD Angstrom	Gambar
1	Linolol	Gadock-Dock-Rigid	1.671	
		Gadock-Dock-Flexible	1.2765	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.671	
2	Zingerone	Gadock-Dock-Rigid	1.5699	
		Gadock-Dock-Flexible	1.594	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.5458	

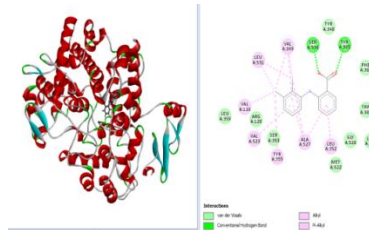
3	Limonen	Gadock-Dock-Rigid	0.653	
		Gadock-Dock-Flexible	0.644 2	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	0.645 1	
4	Cineol	Gadock-Dock-Rigid	1.046 7	
		Gadock-Dock-Flexible	1.071 3	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.377 5	
5	Pinen	Gadock-Dock-Rigid	1.361 1	
		Gadock-Dock-Flexible	1.356 7	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.357 4	
6	Borneol	Gadock - Dock-Rigid	1.688 1	
		Gadock-Dock-Flexible	1.837 2	



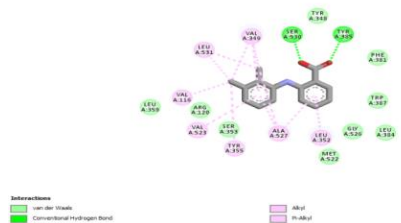
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.844	
7	Cyclohexen	Gadock-Dock-Rigid	1.2452	
		Gadock-Dock-Flexible	1.3467	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	1.346	
8	Citral	Gadock-Dock-Rigid	0.2910	
		Gadock-Dock-Flexible	0.2372	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	0.2535	
9	Ibuprofen	Gadock-Dock-Rigid	5.3065	
		Gadock-Dock-Flexible	4.7404	
		Gadock-Dock-Selectid Tersion Only	2.0399	

Perlakuan validasi dilakukan Sebanyak enam kali terhadap masing-masing pose yang dihasilkan dan dievaluasi terhadap satu pose docking dengan skor terendah. Parameter yang dievaluasi adalah nilai RMSD dari hasil pose terendah. Hasil validasi menunjukkan bahwa kombinasi Gaddock-Dock-Rigid, Gaddock-Dock-Flexible, Gaddock-Dock-Selectid Tersion Only menghasilkan RMSD 0.2372 Angstrom dengan satu pose terbaik dari 50 pose

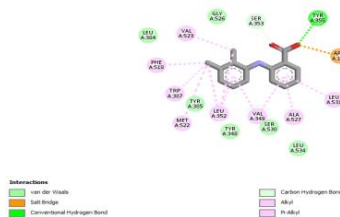
**Visualisasi**



**Gambar 3. Resepor COX-2**




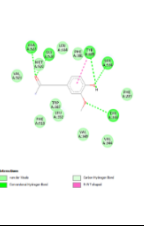


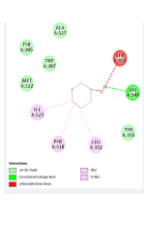


**Gambar 4. Ikatan Asam Amino**



**Gambar 5. Ikatan Asam Amino Redocking**

**Tabel 11. Visualisasi Asam Amino**

No	Senyawa	Ikatan				Gambar
1	Pine n	A	S	A	T	
		L	E	R	Y	
2	Citra l	V	L	I	L	
		A	E	L	E	
2	Citra l	P	V	I	L	
		H	A	L	E	
2	Citra l	S	T	V	P	
		E	Y	A	H	
2	Citra l	R	R	L	E	

3	Limonen	L E U	V A L	A L A	L E U	
		I L E	M E T	V A L	L E U	
4	Zingeron	T Y R	S E R	T Y R	P H E	
		G L Y	M E T	A L A	-	
5	Bornol	L E U	S E R	V A L	A R G	
		V A L	L E U	A L A	L E U	
6	Cineol	A L A	L E U	A L A	V A L	
		M E T	L E U	V A L	-	
7	Cyclohexen	A L A	V A L	A R G	T Y R	
		T Y R	L E U	-	-	
8	Limonen	A L A	L E U	A L A	V A L	
		M E T	L E U	V A L	-	
9	Ibuprofen	A L A	V A L	A R G	T Y R	
		T Y R	L E U	-	-	

## KESIMPULAN

Dari serangkaian penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa

1. Toksisitas zat uji dari *family zingiberaceae* yaitu *Linolool*, *Zingerone*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol*, *Ceclohexen*, *Citral*,

Tidak berpotensi hepatotoksik, karsinogenik, Mutagenik dan sitotoksik, terbukti dengan hasil dari prediksi toksisitas, dan *Linolool*, *Zingeron*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol* memiliki toksisitas kelas 5 yang lebih aman apabila digunakan dibandingkan *Cyclohexen* kelas 4, *Citral* kelas 4 dan *Ibuprofen* kelas 3 yang mempunyai resiko toksisitas yang lebih tinggi.

ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eksresi, Toksisitas) senyawa *Linolool*, *Zingerone*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol*, *Ceclohexen*, *Citral*, sangat baik dan terbebas dari toksisitas yang diujikan.

2. *Binding energy* senyawa *Linolool*, *Limonen*, *Cineol*, *Pinen*, *Borneol*, *Citral*, lebih kecil dibandingkan ligan alami *Ibuprofen* sedangkan *cyclohexen* dan *zingeron* memiliki *binding energy* yang lebih tinggi, begitu juga pada RMSD, semua senyawa memiliki nilai < 2 Angstrom. Sehingga ditarik kesimpulan bahwa senyawa-senyawa tersebut mempunyai aktifitas yang baik dan berpotensi sebagai anti inflamasi untuk berikatan dengan reseptor *cyclooxygenase 2*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim., 2012., **Khasiat Kandungan Bahan Kimia di dalam Jahe**. (pada tanggal 15 Februari 2019).
- Arisandi, Y., dan Yovita Andriani. 2008. **Khasiat Tanaman Obat**, Pustaka Buku Murah, Jakarta.
- Corwin, E.J. (2008), *Handbook of Pathophysiology*, Edisi ketiga. oleh: Subekti, N.B. Editor edisi Bahasa Indonesia:
- Dorland, W.A. Newman, 2002, *Kamus Kedokteran Dorland, alih bahasa Huriwati Hartanto, dkk.*, edisi 29, ECG, Jakarta.
- Hari Purnomo, 2014, **Seri Penemuan Obat : Desain Molekul Antibiotika**. Pustaka Pelajar, Yogyakarta
- Ikawati, Z. 2008, **Pengantar Farmakologi Molekuler**. UGM Press, Yogyakarta.
- Koswara, Sutrisno. 2019, **Jahe rimpang dengan sejuta khasiat**. Dinkes
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2004. **Kimia Minyak Atsiri. Gajah Mada University Press** : Yogyakarta.
- Setyo, Sudarminto., 2015., **Kandungan Kimia Jahe.**, Dinkes RI
- Tjitrosoepomo, Gembong. 2004. **Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan**. Gajah Mada University Press: Yogyakarta.
- Yudha, E.K., Wahyuningsih, E., Yulianti, D., dan Karyuni, P.E. (2009). **Buku Saku Patofisiologi, Edisi ketiga**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Halaman 240.