

STUDI PENAMBATAN MOLEKULER SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BUAH SEMANGKA (*Citrullus lanatus*) YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTI INFLAMASI MELALUI INHIBISI COX-2

MOLECULAR DOCKING STUDY OF SECONDARY METABOLITES OF WATERMELON (*Citrullus lanatus*) POTENTIALLY AS ANTI-INFLAMMATORY THROUGH COX-2 INHIBITION

Muhammad Noor Rezki¹, Andika^{1*}, Rahmawati¹

¹ *Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin*

Jl. Gubernur Sarkawi, Handil Bakti, Kalimantan Selatan.

*Email Corresponding: andika@umbjm.ac.id

Submitted : 30 March 2022 Reviewed : 20 April 2022 Accepted: 03 August 2022

ABSTRAK

Inflamasi merupakan bagian dari proses atau mekanisme pertahanan tubuh dan berfungsi dalam proses penyembuhan sementara itu inflamasi yang bersifat progresif cenderung akan merusak dan menimbulkan beberapa permasalahan dalam tubuh. Enzim COX-2 merupakan salah satu enzim yang berkontribusi dalam terjadinya inflamasi progresif. Ekstrak buah semangka (*Citrullus lanatus*) terbukti memiliki aktivitas anti-inflamasi namun masih belum ada penelitian terkait menguji selektivitasnya terhadap penghambatan COX-2. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui potensi metabolit sekunder buah semangka yang memiliki aktivitas anti-inflamasi yang selektif menghambat COX-2 menggunakan uji penambatan molekul. Pengujian ini juga melakukan, pengujian Lipinski's *rules of five* dan prediksi ADMET. Metode yang digunakan berbasis *oriented docking* dengan kompleks protein *ligandd* dibuat *semi flexible docking* menggunakan *software* Autodock Tools. Hasil menunjukkan bahwa semua 16 senyawa yang ada pada buah semangka berpotensi sebagai inhibitor COX- 2. Nilai *docking* (energi ikat bebas (ΔG)) terbaik yang berasal dari myricetin sebesar -8,62 kcal/mol, disusul oleh tricetin sebesar -8,53 kcal/mol serta quercetin -8,32 kcal/mol. Myricetin merupakan senyawa uji yang memiliki potensi besar sebagai inhibitor COX-2 selektif karena memiliki kekuatan dan kestabilan ikatan yang tinggi saat ditambatkan pada protein 6COX. Residu asam amino GLN 192, PHE 518, LEU 352, SER 530 dan MET 522 banyak berkontribusi membentuk ikatan hidrogen.

Kata kunci : Anti- Inflamasi, *Citrullus lanatus* , Inhibitor COX-2, Penambatan Molekul.

ABSTRACT

*Inflammation is part of the process or body defense mechanism including function in healing process. Meanwhile progressive inflammation tends to damage and cause several problems in the body. Enzym COX-2 is an enzyme that contribute to progressive inflammation. Extract watermelon (*Citrullus lanatus*) has been shown to have antiinflammation activity. But none of available researchs examined on its selectivity inhibition againt COX-2. This study aims to determine the potential of secondary metabolits of watermelon that have as anti-inflammatory activity selective COX-2 using molecular docking..This research also examined Lipinski's *rules of five* and ADMET prediction. Moleculer docking simulation used *ligandd* oriented docking method, with *ligandd*-protein made *semi flexible docking* using Autodock*

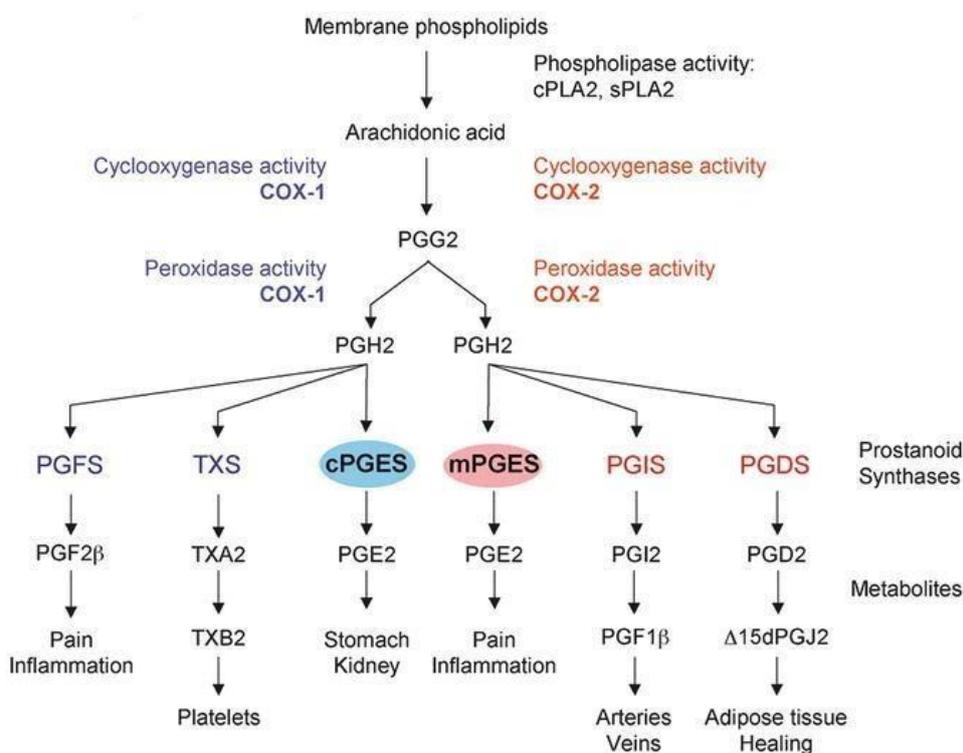
Tools software. The result showed yhat 16 compounds present in watermelon potentially as COX-2 inhibitors. The best docking value (free binding energy (ΔG)) derived from myricetin of -8.62 kcal / mol, followed by tricetin of -8.53 kcal / mol and quercetin -8.32 kcal / mol. Myricetin is a test compound that has great potential as a selective COX-2 inhibitor because it has high bond strength and stability when complexed to 6COX. Amino acid residues GLN 192, PHE 518, LEU 352, SER 530 and MET 522 are highly contributed in hydrogen bonds formation.

Keywords: Anti- inflammatory, Citrullus lanatus, COX-2 Inhibitors, Molecular Docking.

PENDAHULUAN

Inflamasi atau peradangan, normalnya merupakan respon fisiologis protektif terhadap cedera jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, bahan kimia perusak dan infeksi agen mikrobiologis. Proses penyembuhan yang terjadi pada kondisi normal, akan ditandai dengan perlawanan pada proses infeksi mikroba dengan mengaktifkan sistem imun, menetralkan rangsangan berbahaya dan memperbaiki jaringan yang rusak. Namun dalam kondisi patologis dimana antigen lebih mendominasi keadaan, maka inflamasi tersebut dapat merusak jaringan atau organ tubuh (Nurtamin et al., 2018).

Inflamasi menyebabkan banyak zat-zat yang dikeluarkan secara endogen, dikenal sebagai mediator inflamasi. Pada tahap inflamasi kronik, terdapat banyak mediator inflamasi yang berperan dan paling banyak didominasi oleh prostaglandin. Prostaglandin adalah asam lemak yang teroksigenasi, dan diklasifikasikan sebagai hormon. Prostaglandin diproduksi di sebagian besar organ dalam tubuh, terutama endometrium. Prostaglandin berperan dalam pembentukan respon inflamasi, dan ketika diproduksi secara berlebihan dapat memperburuk inflamasi (Wongrakpanich et al., 2018).



Gambar 1. Pembentukan metabolit asam arakidonat dan jalur siklooksigenase dalam inflamasi (Tegeder, 2013)

Pembentukan COX-2 diawali ketika prostaglandin sintase mendonorkan dua molekul oksigen kepada asam arakidonat untuk sintesis prostaglandin H₂ (Prasetya, 2015). Penelitian menunjukan penghambatan *Cyclooxygenase-2* (COX-2) dapat menurunkan 75% produksi prostaglandin, sedangkan penghambatan *Cyclooxygenase-1* (COX-1) pada tikus hanya menyebabkan penurunan 25% prostaglandin total (Ricciotti & FitzGerald, 2011). Data tersebut, dapat diketahui bahwa prostaglandin penyebab inflamasi diproduksi oleh COX-1 maupun COX-2, namun produksi terbanyak dikeluarkan oleh enzim COX-2. Pengeluaran COX-2 yang berlebihan sangat berperan besar dalam perkembangan penyakit berat seperti kanker (Desai *et al.*, 2018).

Pengobatan radang di masyarakat umumnya menggunakan bahan kimia sintetik yang memiliki efek samping. Oleh karena itu, cara lain untuk mengurangi efek samping adalah dengan menggunakan bahan-bahan alami, termasuk zat anti inflamasi. Selain itu, penggunaan herbal antiradang dari buah-buahan memudahkan pengurangan nyeri, karena dapat diperoleh dari alam, salah satunya adalah buah semangka. Buah semangka (*Citrullus lanatus*) mempunyai banyak manfaat yaitu sebagai pengurangan rasa sakit ataupun anti inflamasi. Secara tradisional buah semangka (*Citrullus lanatus*) digunakan sebagai sumber energi dan untuk mengelola tekanan darah tinggi, nyeri, disfungsi ereksi, pembesaran hati dan penyakit kuning (Anorital & Andayasari, 2011). Buah semangka mengandung vitamin A, B dan C, arginin, flavonoid, terpenoid, tanin, arginin, air, karbohidrat, dan citrulin. Ekstrak buah semangka telah terbukti dapat menurunkan kolesterol plasma, menurunkan sitokin penyebab inflamasi dan mencegah perkembangan aterosklerosis pada tikus (Yativ *et al.*, 2010).

Cara yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi aktivitas anti inflamasi pada senyawa metabolit sekunder dalam buah semangka yaitu pemanfaatan metode penambatan molekuler. Penambatan molekuler merupakan teknik pemodelan molekul yang digunakan untuk memprediksi bagaimana protein (enzim) berinteraksi dengan molekul kecil (*ligand*) (Roy *et al.*, 2015).

Penambatan molekuler adalah studi tentang bagaimana menghubungkan dua atau lebih struktur molekul, yaitu bagaimana memecahkan masalah dalam tiga dimensi. Penambatan molekuler adalah alat dalam biologi molekuler struktural dan penemuan obat berbasis struktur. Penggunaan komputer akhir-akhir ini menjadi usulan yang sangat menarik sebagai alat penelitian obat secara *in silico*. Proses penemuan obat diketahui sangat panjang dan mahal. Oleh karena itu, ada kecenderungan untuk menggunakan metode *in silico* dalam pemodelan kimia komputasi. Jumlah molekul (penemuan obat) telah memperoleh penemuan yang cukup besar (Geldenhuis *et al.*, 2006).

Pada penelitian ini peneliti tertarik untuk mengidentifikasi potensi metabolit sekunder buah semangka sebagai anti inflamasi melalui inhibisi *Cyclooxygenase-2* (COX-2) sebagai target obat. Studi ini diharapkan diperoleh suatu senyawa baru untuk lebih lanjut dikembangkan menjadi obat anti inflamasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Perangkat keras berupa laptop ASUS VIVOBOOK A442U dengan spesifikasi RAM (*Random Access Memory*) 8 gigabyte double chanel, dan HDD (*Hard Disk Drivers*) 500 gigabyte. Prosesor Intel Core I5 - 8250u, CPU (*Central Processing Unit*) @3,4 MAX GHz (4 core 8 threads) , *Graphic Card* NVIDIA GeForce MX930, sistem operasi Microsoft® Windows® 10 (Amerika). Laptop terhubung dengan jaringan internet.

Software yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Autodock 4.2 sebagai software untuk melakukan penambatan, proses minimisasi energi *ligandd*, senyawa pembanding, senyawa uji menggunakan software Avogadro serta Swiss PDB, untuk visualisasi interaksi dari protein dan *ligandd* menggunakan software Discovery Studio Visualizer dan PyMOL, untuk *screening Lipinski's rules of five* menggunakan websiteSCFBio, sedangkan website pkCSM digunakan untuk melakukan prediksi ADMET.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini untuk Makromolekul protein yang dipilih

adalah *Cyclooxygenase-2 (Prostaglandin Synthase-2) Complexed With A Selective Inhibitor SC-558*, yang didapat dari metode kristalografi X-ray dengan resolusi 2.80 Å. Identitas makromolekul dengan PDB ID : 6COX berformat (.pdb). Celecoxib sebagai pembanding dan senyawa uji berupa metabolit sekunder dari buah semangka (*Citrullus lanatus*) didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh (Sorokina *et al.*, 2021; Sulaiman *et al.*, 2020) dan dipilih 16 senyawa metabolit sekunder kemudian senyawa diunduh dari situs PubChem.

Prosedur Penelitian

1. Preparasi protein *ligand*

Hal pertama dalam melakukan preparasi ini adalah mengunduh kompleks protein target pada RCSB situs *protein data bank* (PDB) dengan kode 6COX. Preparasi protein dilakukan untuk memisahkan reseptor dan *ligand* alami dan dilakukan penghapusan molekul air agar proses docking lebih akurat menggunakan aplikasi *Discovery Studio Visualizer*

2. Minimisasi energi

Protein dengan ID:6COX, *ligand* alami, dan senyawa uji dilakukan minimisasi energi. Adapun aplikasi yang digunakan adalah Avogadro dengan parameter MMF94 untuk molekul kecil (*ligand*) dan menggunakan Swiss PDB Viewer dengan parameter GROMOS 43B1 untuk reseptor (protein)

3. Validasi metode dan penambatan molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan menambatkan *ligand* alami pada protein target menggunakan AutoDock Tools 4.2 dan mengatur *grid box* untuk mengetahui sisi aktif pada reseptor. Validasi harus pada nilai RMSD <2.0 Å Metode yang sudah divalidasi dan senyawa uji yang telah dilakukan minimisasi energi kemudian ditambatkan pada reseptor yaitu enzim COX-2 menggunakan AutoDock Tools 4.2 sehingga menghasilkan nilai *binding* energi dan konstanta inhibisi

4. Visualisasi interaksi

Identifikasi interaksi ikatan hidrogen antara *ligand* dan reseptor dari konformasi terbaik lalu dilihat secara dua dimensi menggunakan *Discovery Studio Visualizer* dan secara tiga dimensi menggunakan PyMol.

5. Prediksi ADMET

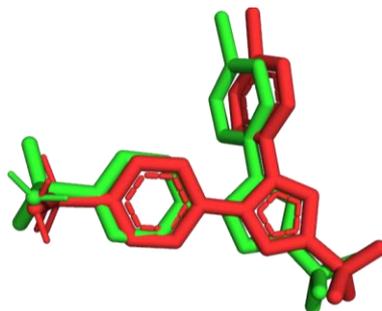
Pada website PkCSM absorpsi dari suatu senyawa dinilai berdasarkan dari permeabilitas sel Caco-2, absorpsi pada usus manusia, dan permeabilitas senyawa pada kulit. Distribusi dilihat dari parameter sawar darah otak atau Blood Brain Barrier (logBB), permeabilitas Sistem Syaraf Pusat (SSP), dan volume distribusi keadaan tunak (VDss). Metabolisme diprediksi dengan melihat dari aktivitas senyawa terhadap sitokrom (CYP) sitokrom yang dilihat adalah (CYP2D6, CYP3A4, CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4) senyawa dilihat apakah sebagai substrat atau inhibitor. Prediksi ekskresi pada website inidilihat dari total clearance dan renal OCT 2 sedangkan prediksi terakhir yaitu toksisitas dilihat dari toksisitas AMES, Inhibitor hERG, hepatotoksitas, sensasi kulit, toksisitas pada *Tetrahymena pyriformis* dan toksisitas minnow.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penambatan molekuler adalah salah satu metode yang paling sering digunakan karena kemampuannya memprediksi dengan tingkat keakuratan tinggi. Metodologi komputasi penambatan molekuler dapat mempersingkat proses penemuan obat dengan mengurangi biaya dan sumber daya yang diperlukan melalui identifikasi *in silico* dari calon obat yang potensial (Cuzzolin *et al.*, 2015)

Validasi Metode

Parameter validasi dalam molecular docking berupa nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Nilai RMSD menunjukkan perbandingan konformasi *Native ligand* hasil redocking dengan konformasi *Native ligand* hasil pengukuran kristalografi. Batas nilai RMSD yang dapat diterima adalah < 2.0 Å (Yanuar, 2012). Nilai RMSD ≤ 2 Å artinya letak binding pocket pada posisi *native ligand co- crystal* dengan *ligand re-docking* SC-558 tidak terlalu berjauhan dan konformasinya sangat mirip. Nilai validasi metode yang dilihat dari hasil RMSD yang diperoleh berdasarkan proses penambatan molekul *native ligand* terhadap protein kode ID: 6COX yaitu sebesar 0.74 Å. Nilai RMSD *re-docking* tersebut telah memenuhi standar validasi dengan itu metode ini dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji lainnya.



Gambar 2. Overlapping antara ligand alami dengan ligandd redocking

Keterangan :

Merah : *ligandd* alami

Hijau : *ligandd* redocking

Ikatan Energi Bebas Gibbs (ΔG) Dan Konstanta Inhibisi (KI)

Energi binding *Gibbs* (ΔG) menunjukkan kekuatan suatu ikatan *ligandd*-reseptor (afinitas). Nilai energi bebas ikatan (ΔG) terendah (nilainya semakin negatif) menunjukkan tingkat kestabilan ikatan *ligandd* dan reseptor yang baik, sehingga ikatan yang terbentuk semakin kuat dan aktivitas penghambatannya maksimal (Abdillah *et al.*, 2018). KI berperan penting dalam evaluasi penambatan molekuler karena menentukan seberapa kuat ikatan protein-*ligand* hingga menghasilkan aktivitas penghambatan.

Tabel I. Nilai energi binding dan konstanta inhibisi pada 6 COX

No	Nama Senyawa	Energi binding	Konstanta Inhibisi
1	SC-558	-11.28 kcal/mol	5.42 nM
2	Celecoxib	-10.37 kcal/mol	13.13 nM
3	Myricetin	-8.62 kcal/mol	480.77 nM
4	Tricetin	-8.53 kcal/mol	555.68 nM
5	Quercetin	-8.32 kcal/mol	794.82 nM
6	Kaempferol	-7.86 kcal/mol	1.73 μ M
7	Linoleic acid	-7.69 kcal/mol	2.31 μ M
8	Beta pinene	-6.21 kcal/mol	28.05 μ M
9	Alpha terpineol	-6.18 kcal/mol	29.43 μ M
10	Alpha pinene	-6.13 kcal/mol	31.98 μ M
11	Citral	-5.73 kcal/mol	62.60 μ M
12	Gallic Acid	-4.32 kcal/mol	686.79 μ M
13	Citrulline	-4.18 kcal/mol	862.27 μ M
14	Methionine	-3.89 kcal/mol	1.40 mM
15	Alanine	-3.31 kcal/mol	3.73 mM
16	Betaine	-3.27 kcal/mol	3.98 mM
17	4-Aminobutyrate	-2.90 kcal/mol	7.48 mM
18	Beta-alanine	-2.81 kcal/mol	8.72 mM

Senyawa uji dengan *docking* terbaik adalah senyawa *Myricetin* ($\Delta G = - 8,62$ kcal/mol dan konstanta inhibisi 480,77 nM), kemudian selanjutnya senyawa uji *Tricetin* ($\Delta G = - 8,53$ kcal/mol dan konstanta inhibisi 555,68 nM), serta *Quercetin* ($\Delta G = - 8,32$ kcal/mol dan konstanta inhibisi 794,82 nM). Nilai *docking* paling tinggi yaitu senyawa *Beta-alanine* dengan nilai energi ikatan bebas ($\Delta G = - 2,81$ kcal/mol dan konstanta inhibisi 8,72 mM).

Berdasarkan data hasil *docking* diperoleh nilai energi bebas ikatan (ΔG) paling kuat yaitu *native ligandd* SC-558 dengan nilai -11,28 kcal/mol dan senyawa pembanding *Celecoxib* sebesar - 10,37 kcal/mol. Kestabilan senyawa dapat dilihat dari energi ikatnya yang rendah. Semakin rendah energi ikatan maka makin kuat interaksi non kovalen dan semakin spontan reaksi yang terbentuk antara *ligandd* dengan protein (Suhadi *et al.*, 2019). Nilai konstanta inhibisi yang kecil berkorelasi dengan nilai energi ikatan yang kecil. Hal tersebut dikarenakan nilai ΔG negatif menunjukkan dalam energi rendah, kompleks senyawa-protein dapat berinteraksi dengan kuat dan semakin stabil kompleks *ligandd*-reseptor, sehingga menghasilkan aktivitas penghambatan atau kemampuan menghambat COX-2. Konstanta inhibisi menunjukkan kekuatan koneksi menghambat kerja reseptor. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi lalu intensitas hambatan semakin besar. Nilai konstanta inhibisi juga dapat dijadikan acuan atau pembanding dalam melakukan uji *in vitro* (IC50). (Abdillah *et al.*, 2018).

Interaksi Residu Asam Amino

Pengamatan residu asam amino dari interaksi senyawa uji dengan protein target bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi dan diduga berkontribusi dalam munculnya efek farmakologi seperti inhibitor COX-2 oleh senyawa uji. Interaksi ikatan tersebut berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi Van der Waals, interaksi elektrostatik dan halogen. Oleh sebab itu perlu dilakukan analisis asam amino yang paling berperan dalam terbentuknya interaksi yang memunculkan efek farmakologis.

Tabel III Data interaksi residu asam amino pembentuk ikatan hidrogen

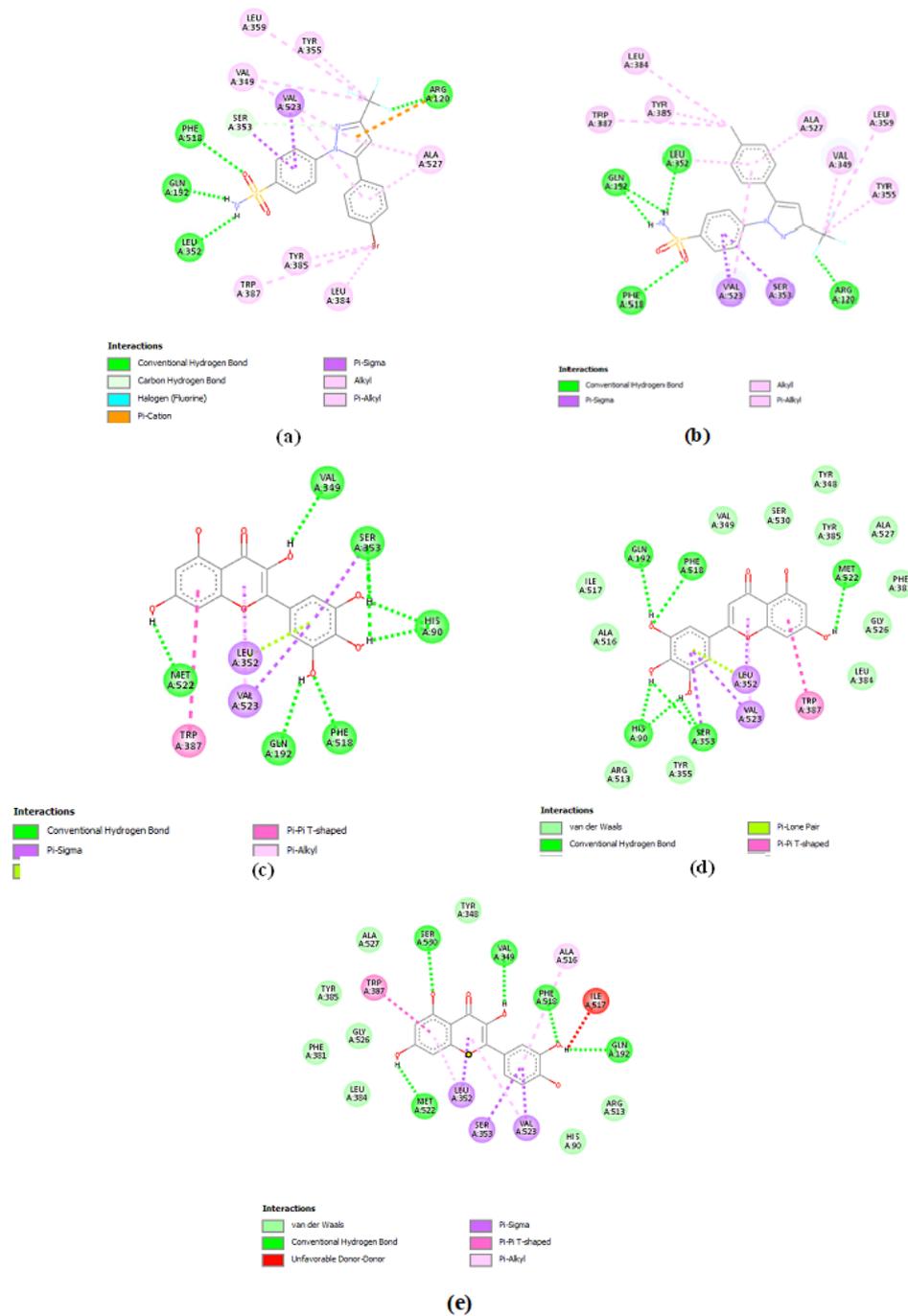
No	Senyawa	Conventional Hydrogen Bond	Jumlah
1	SC-558	ARG 120 (2,68 Å), GLN 192 (1,66 Å), LEU 352 (2,12 Å), PHE 518 (2,34 Å)	4
2	Celecoxib	ARG 120 (2,11 Å, 2,80 Å), GLN 192 (2,08 Å, 2,24 Å), LEU 352 (2,51 Å), PHE 518 (2,73 Å)	6
3	Myricetin	HIS 90 (1,97 Å, 2,07 Å), GLN 192 (2,06 Å), MET 522 (2,02 Å), PHE 518 (2,43 Å), SER 353 (2,11 Å, 2,78 Å), VAL 349 (2,81 Å)	8
4	Tricetin	HIS 90 (1,95 Å, 2,01 Å), GLN 192 (2,31 Å), MET 522 (2,08 Å), PHE 518 (2,42 Å), SER 530 (2,17 Å, 2,75 Å)	7
5	Quercetin	GLN 192 (2,05 Å), MET 522 (2,05 Å), PHE 518 (2,18 Å), SER 530 (2,23), VAL 349 (2,65 Å)	5
6	Kaempferol	PHE 518 (2,26 Å)	1
7	Linoleic acid	MET 522 (2,33 Å), SER 530 (1,95 Å), VAL 349 (2,49 Å)	3
8	Beta pinene	Tidak ada	0
9	Alpha terpineol	GLN 192 (2,06 Å), LEU 352 (2,97 Å), PHE 518 (2,37 Å)	3
10	Alpha pinene	Tidak ada	0
11	Citral	TYR 355 (1,82 Å)	1
12	Gallic Acid	PHE 518 (1,90 Å)	1
13	Citrulline	PHE 518 (1,90 Å)	1
14	Methionine	GLN 192 (1,96 Å, 2,20 Å), LEU 352 (1,72 Å), PHE 518 (1,82 Å)	3
15	Alanine	GLN 192 (2,16 Å), LEU 352 (1,84 Å), PHE 518 (2,05 Å, 2,14 Å)	4
16	Betaine	TYR 355 (1,82 Å)	1
17	4-Aminobutyrate	GLN 192 (2,12 Å, 2,35 Å), ILE 517 (2,59 Å), LEU 352 (1,92 Å)	4
18	Beta-alanine	GLN 192 (1,92 Å, 2,11 Å), LEU 352 (2,10 Å), PHE 518 (1,79 Å)	4

Berdasarkan [Tabel II](#) terdapat 10 asam amino pembentuk ikatan hidrogen. GLN (*glutamine*) 192 merupakan asam amino yang paling banyak berkontribusi membentuk ikatan hidrogen antara *ligandd* dan protein ID: 6COX yaitu sejumlah 14 interaksi, disusul oleh PHE (*phenylalanine*) 518 sebanyak 13 interaksi dan LEU (*leucine*) 352 sebanyak 7 interaksi.

Berdasarkan urutan *docking* dimana *native ligandd* SC-558 sebagai urutan terbaik menghambat protein ID: 6COX dan disusul oleh senyawa pembanding Celecoxib. Asam amino ARG (*arginine*) 120 pembentuk ikatan hidrogen yang paling banyak muncul pada senyawa dengan urutan *docking* terbaik yaitu *native ligandd* SC-558 dan senyawa celecoxib namun pada senyawa yang lain tidak ditemukan. Jika dibandingkan residu asam amino pada *native ligandd* SC-558 yaitu LEU (*leucine*) 352 (2,12 Å) dengan residu asam amino dari senyawa pembanding Celecoxib berupa LEU (*leucine*) 352 (2,51 Å). Terlihat jarak interaksi asam amino LEU (*leucine*) 352 pada *native ligandd* SC-558 lebih pendek dibandingkan pada Celecoxib.

Hal tersebut dikarenakan semakin kecil jarak ikatan hidrogen yang terbentuk akan membuat ikatan hidrogen tersebut semakin kuat dan lebih stabil berikatan dengan protein, sehingga senyawa SC-558 menghasilkan aktivitas penghambatan COX-2 yang lebih baik. Menurut penelitian ([Alagumuthu et al., 2016](#)) residu ARG (*arginine*) 120 pada senyawa yang ditambatkan dengan protein ID: 6COX juga berperan dalam terbentuknya aktivitas biologis penghambatan COX-2. Pada senyawa uji tiga terbaik yaitu myricetin, tricetin, dan quercetin ditemukan pembentukan residu asam amino GLN (*glutamine*) 192, dan PHE (*phenylalanine*) 518 yang sama dengan senyawa *ligandd* alami SC-558 dan senyawa uji celecoxib sehingga berpotensi senyawa myricetin, tricetin, dan quercetin membentuk ikatan kuat pada residu asam amino GLN (*glutamine*) 192, dan PHE (*phenylalanine*) 518.

Penelitian dari ([Santoso, 2017](#)) menyebutkan senyawa 4-[(Z)-N-(4-Hidroksifenil) Carboksimidoil]-2 Metoksifenol sebagai inhibitor COX-2 mampu membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino yaitu MET (*methionine*) 522 dan ARG (*arginine*) 120 pada sisi aktif COX-2 (kode protein ID: 6COX). ([Meenambiga et al., 2015](#)) meneliti jamur *Inonotus* sp. terhadap aktivitas inhibitor COX-2 menggunakan protein ID: 6COX. Penelitian tersebut menunjukkan residu asam amino yang membentuk ikatan hidrogen adalah GLN (*glutamine*) 192, LEU (*leucine*) 352, HIS (*hisitidine*) 90, SER (*serine*) 530, dan TYR (*tyrosine*) 355. Residu ini berada di daerah situs aktif enzim COX-2 ([Rowlinson et al., 2003](#)) menguji keumuman mode pengikatan dengan menganalisis dari inhibitor COX terhadap mutan yang diarahkan ke daerah siklooksigenase-2 (COX-2) pada ARG (*arginine*) 120, TYR (*tyrosine*) 355, dan SER (*serine*) 530 Hasilnya menunjukkan Natrium Diklofenak yang berikatan dengan protein *Murin* COX-2 membentuk dua ikatan hidrogen yang kuat pada TYR (*tyrosine*) 355 dan SER (*serine*) 530. Ini membuktikan ternyata interaksi residu asam amino yang terbentuk sesuai dengan penelitian yang pernah dilakukan menggunakan protein 6COX sehingga penelitian ini sudah benar terkait hasilnya karena residu asam amino yang didapat sejalan dengan penelitian yang ada.



Gambar 3. Visualisasi interaksi ikatan secara dua dimensi menggunakan discovery studio.

Keterangan :

(a) Ligand alami SC-558

(b) senyawa pembanding celecoxib

(c) senyawa uji myricetin

(d) senyawa uji tricetin

(e) senyawa uji quercetin

Prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas (ADMET)

Proses farmakokinetik atau perjalanan obat dalam tubuh di mulai dari Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas (ADMET). Prediksi dari ADMET pada penelitian ini menggunakan PkCSM untuk menyajikan hasil prediksi dari ADMET pada senyawa kimia yang di uji dengan tingkat ketepatan dan akurasi yang sangat tinggi, seluruh senyawa pada penelitian ini akan diskriminasi melalui website PkCSM dan berikut adalah prediksi ADMET dari 1 senyawa pembanding yaitu celecoxib dan 3 senyawa uji terbaik yaitu myricetin, tricetin, dan quercetin :

Tabel III. Nilai energi binding dan konstanta inhibisi dari penambatan molekuler pada 6COX

ADMET	Parameter	Senyawa Pembanding	Senyawa Uji				Keterangan
		Celecoxib	Myricetin	Tricetin	Quercetin		
Absorpsi	Permeabilitas pada Caco2	0,968	-0,904	-0,728	-0,728		Permeabilitas tinggi >0.90
	Absorpsi pada usus manusia	90,155	61,217	68,342	73,295		Absorpsi buruk jika < 30%
	Permeabilitas pada kulit	-2,851	-2,735	-2,735	-2,735		Permeabilitas pada kulit tinggi jika log Kp > 2,5
Distribusi	VDss (Manusia)	-0,183	0,806	0,346	0,639		VDss rendah jika Log <-0.15 VDss tinggi jika log > 0.45
	BBB permeabilitas	-0,403	-1,695	-1,438	-1,5		Absorpsi pada otak baik jika logBB > 0.3 Absorpsi pada otak buruk jika logBB < -1
	CNS permeabilitas	-2,078	-3,53	-3,321	-3,359		Dapat berpenetrasi pada CNS jika Log PS > -2 Tidak dapat berpenetrasi pada CNS jika Log PS < -3
Metabolisme	substrat CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak		
	substrat CYP3A4	Ya	Tidak	Tidak	Tidak		
	inhibitor CYP1A2	Tidak	Ya	Ya	Ya		
	inhibitor CYP2C19	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak		
	inhibitor CYP2C9	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak		
	inhibitor CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak		
	inhibitor CYP3A4	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak		

		0,193	0,384	0,465	0,437	
Ekskresi	Total Clearance					
	Renal OCT2 substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	
Toksistas	AMES toxicity	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	
	Max. tolerated dose(human)	-0,021	0,502	0,574	0,55	
	inhibitor hERG I	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	
	inhibitor hERG II	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	
	Hepatotoxicity	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	
	Skin Sensitisation	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	
	T.Pyriiformis toxicity Numerik (log ug/L)	Toksik	Toksik	Toksik	Toksik	Senyawa toksik jika Log > 0.5 ug/L
	Minnow toxicity Numerik (log mM)	Rendah	Rendah	Rendah	Rendah	Toksistas senyawa akutnya tinggi jika Log < - 0.3

Tabel III diatas merupakan tiga senyawa uji terbaik yaitu myricetin, tricetin dan quercetin memiliki permeabilitas atau kemampuan menembus sel Caco-2 yang rendah namun tinggi pada senyawa pembanding yaitu celecoxib, namun diprediksi pada PkCSM empat senyawa ini memiliki absorpsi yang baik pada usus manusia sehingga semua senyawa ini dapat diserap melalui saluran cerna manusia, Pada uji permeabilitas pada kulit diperoleh empat senyawa uji yaitu celecoxib, myricetin, tricetin dan quercetin di prediksi dapat dibuat dalam bentuk sediaan luar atau topikal dengan rute pemberian yaitu transdermal.

Pada prediksi distribusi dari ke empat senyawa uji ini termasuk dengan senyawa pembanding tiga senyawa uji yang memiliki nilai VDss yang tinggi melebihi log 0.45 hal ini menggambarkan bahwa tiga senyawa uji ini akan terdistribusi lebih banyak didalam jaringan. Prediksi empat senyawa ini dapat menembus sawar darah otak hanya celecoxib yang memiliki nilai yang tinggi sehingga kemungkinan senyawa ini dapat menjadi kandidat obat dengan target obat menembus sawar darah otak (*blood brain barrier*), untuk sistem saraf pusat dari ke empat senyawa dengan nilai penambatan tertinggi dalam penelitian ini semua memiliki nilai yang rendah sehingga tidak cocok ditargetkan sebagai kandidat obat yang bekerja di sistem saraf pusat.

Prediksi metabolisme dari empat senyawa uji penelitian ini, senyawa pembanding celecoxib diperkirakan menghambat enzim CYP3A4 sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa celecoxib ini menghambat dari metabolisme yang dilakukan oleh sitokrom P450, sedangkan senyawa tiga senyawa uji yaitu myricetin, tricetin dan quercetin merupakan diprediksi dapat menghambat metabolisme yang dilakukan oleh CYP1A2 atau sebagai inhibitor isoform tersebut. Akan tetapi tidak menghambat empat isoform lainnya.

Prediksi ekskresi dari empat senyawa uji pada penelitian ini menunjukkan bahwatricetin memiliki nilai total klirens yang tinggi dengan nilai 0,465 sehingga disimpulkan bahwa senyawa tricetin ini memiliki laju ekskresi yang besar dari pada ketiga senyawa lainnya, ke empat senyawa uji ini juga diprediksi bukan merupakan renal OCT2 substrat yang dimana hal ini menunjukkan bahwa ke empat senyawa ini tidak menimbulkan efek toksik jika dibuat dalam sediaan oral yang dikonsumsi bersamaan dengan renal OCT2 inhibitor.

Celecoxib diprediksi menimbulkan mutasi pada uji AMES namun pada tiga senyawa uji diprediksi tidak menimbulkan mutasi dilihat dari prediksi uji AMES, sedangkan terkait dengan hepatotoksik empat senyawa uji yang diprediksi aman untuk hati. Dalam prediksi inhibitor hERG empat senyawa merupakan senyawa yang diprediksi aman pada gangguan jantung. Pada uji protozoa *T.Pyriiformis* ke empat senyawa ini memiliki toksistas, namun ke empat senyawaini memiliki nilai yang rendah terhadap toksistas nya terhadap lingkungan yang tunjukan pada uji toksistas *Minnow*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari Studi Penambatan Molekuler Senyawa Metabolit Sekunder Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) Yang Berpotensi Sebagai Anti Inflamasi Melalui Inhibisi COX-2 menggunakan program AutoDock diperoleh hasil energi bebas ikatan (ΔG) senyawa uji terbaik yaitu -8,62 kcal/mol berasal dari senyawa uji myricetin, -8,53 kcal/mol dari senyawa uji tricetin dan -8,32 kcal/mol berasal senyawa uji quercetin. Secara keseluruhan semua senyawa terutama tiga senyawa uji flavonoid terbaik yaitu myricetin, tricetin dan quercetin memiliki potensi aktivitas sebagai inhibitor COX-2. Diperoleh residu asam amino pada protein reseptor yang memiliki peran besar dalam pembentukan ikatan hidrogen dengan *ligand* senyawa uji yaitu GLN 192 yang memiliki 14 ikatan kemudian PHE 518 yang memiliki 13 ikatan dan LEU 352 memiliki 7 ikatan. Residu asam amino tersebut banyak berkontribusi dalam pembentukan ikatan dan menstabilkan interaksi pengikatan senyawa pada protein COX-2.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, M. N., Ilmah, N. R., & Mahardhika, A. B. (2018). penambatan molekuler senyawa polifenolat terhadap enzim reverse transcriptase sebagai senyawa antiretroviral (HIV-1). *Jurnal Sains Dan Teknologi Farmasi Indonesia*, 6(1).
- Alagumuthu, M., Ravichandran, S., Kumaravel, K., Arumugam, S., & Priya, R. (2016). Molecular docking and in vitro evaluations of Hippocampus trimaculatus (seahorse) extracts as the anti-inflammatory compounds. *International Journal of Bioinformatics Research and Applications*, 12(4), 355–371.
- Anorital, A., & Andayasari, L. (2011). Kajian epidemiologi penyakit infeksi saluran pencernaan yang disebabkan oleh amuba di Indonesia. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 21(1), 150548
- Cuzzolin, A., Sturlese, M., Malvacio, I., Ciancetta, A., & Moro, S. (2015). DockBench: an integrated informatic platform bridging the gap between the robust validation of docking protocols and virtual screening simulations. *Molecules*, 20(6), 9977–9993.
- Desai, S. J., Prickril, B., & Rasooly, A. (2018). Mechanisms of phytonutrient modulation of cyclooxygenase-2 (COX-2) and inflammation related to cancer. *Nutrition and Cancer*, 70(3), 350–375.
- Geldenhuis, W. J., Gaasch, K. E., Watson, M., Allen, D. D., & Van der Schyf, C. J. (2006). Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 11(3–4), 127–132.
- Meenambiga, S. S., Rajagopal, K., & Durga, R. (2015). In silico docking studies on the components of inonotus sp., a medicinal mushroom against cyclooxygenase-2 enzyme. *Asian J Pharm Clin Res*, 8(3), 142–145.
- Nurtamin, T., Sudayasa, I. P., & Tien, T. (2018). In vitro anti-inflammatory activities of ethanolic extract Elephantopus scaber leaves. *JKKI: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan Indonesia*, 9(1), 46–52.
- Prasetya, R. C. (2015). Ekspresi dan Peran Siklooksigenase-2 dalam Berbagai Penyakit di Rongga Mulut. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran Gigi*, 12(1), 16–19.
- Ricciotti, E., & FitzGerald, G. A. (2011). Prostaglandins and inflammation. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 31(5), 986–1000.
- Robbins, S. L. (1995). *Buku ajar patologi II* (4th ed.). EGC.
- Rowlinson, S. W., Kiefer, J. R., Prusakiewicz, J. J., Pawlitz, J. L., Kozak, K. R., Kalgutkar, A. S., Stallings, W. C., Kurumbail, R. G., & Marnett, L. J. (2003). A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *Journal of Biological Chemistry*, 278(46), 45763–45769.
- Roy, K., Kar, S., & Das, R. N. (2015). *Understanding the basics of QSAR for applications in pharmaceutical sciences and risk assessment* (pp. 151–185). Academic press.
- Santoso, B. (2017). Pengaruh Volume Gridbox pada Docking Senyawa dalam Stelechocarpus Burahol terhadap Protein Homolog Antiinflamasi TRPV1. *URECOL*, 321–328.

- Sorokina, M., McCaffrey, K. S., Deaton, E. E., Ma, G., Ordovás, J. M., Perkins-Veazie, P. M., Steinbeck, C., Levi, A., & Parnell, L. D. (2021). A Catalog of Natural Products Occurring in Watermelon—*Citrullus lanatus*. *Frontiers in Nutrition*, 8(September), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.729822>
- Suhadi, A., Rizarullah, R., & Feriyani, F. (2019). Simulasi Docking Senyawa Aktif Daun Binahong Sebagai Inhibitor Enzyme Aldose Reductase. *Sel Jurnal Penelitian Kesehatan*, 6(2), 55–65.
- Sulaiman, F., Azam, A. A., Safwan, M., Bustamam, A., Fakurazi, S., Abas, F., Lee, Y. X., Ismail, A. A., Munirah, S., Faudzi, M., & Ismail, I. S. (2020). *Metabolite Profiles of Red and Yellow Watermelon (Citrullus lanatus) Cultivars Using a 1H-NMR Metabolomics Approach*. 1–13. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules25143235>
- Tegeder. (2013). COX-1 and COX-2 in Pain. In: Gebhart G.F., Schmidt R.F. (eds) Encyclopedia of Pain. In *Encyclopedia of Pain*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28753-4>
- Wongrakpanich, S., Wongrakpanich, A., Melhado, K., & Rangaswami, J. (2018). A comprehensive review of non-steroidal anti-inflammatory drug use in the elderly. *Aging and Disease*, 9(1), 143.
- Yanuar, A. (2012). Penambatan Molekul Praktek Dan Aplikasi Pada Virtual Screening. Fakultas Farmasi Universitas Indonesia. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 1.
- Yativ, M., Harary, I., & Wolf, S. (2010). Sucrose accumulation in watermelon fruits: genetic variation and biochemical analysis. *Journal of Plant Physiology*, 167(8), 589–596.