

## **SIMULASI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF DAUN JAMBU MAWAR (*Syzygium jambos* L. Alston) SEBAGAI OBAT ANTIINFLAMASI**

**Deden Winda Suwandi<sup>1</sup>, Nindi Wahyuni<sup>1</sup>, Selvira Anandia Intan M<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut, Garut, Indonesia, 44151

\*Korespondensi: selvira@uniga.ac.id

### **ABSTRAK**

Inflamasi merupakan salah satu respon imun bawaan yang berperan dalam sistem pertahanan terhadap senyawa asing. Dalam penelitian terdahulu telah diketahui bahwa ekstrak daun jambu mawar memiliki aktivitas antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa kandidat dari daun jambu mawar yang memiliki aktivitas antiinflamasi melalui interaksi terhadap reseptor TNF- $\alpha$  dan enzim iNOS. Penelitian ini menggunakan metode *in silico* yaitu penambatan molekul untuk memprediksi afinitas senyawa-senyawa daun jambu mawar terhadap iNOS dengan kode: 1NSI dan TNF- $\alpha$  dengan kode: 3EWJ. Hasil penambatan molekul menunjukkan senyawa methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino)propan-2-yl]-15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate memiliki afinitas lebih baik dari ligan alaminya yaitu ((1S, 3R, 6S)-4-oxo-6{4-[2-phenyl quinolon-4-yl] methoxy}phenyl)-5-azaspiro [2,4]heptane-1-carboxylic acid) dengan nilai  $\Delta G$  -13,65 kkal/mol pada residu asam amino GLY346 dan LEU348 reseptor TNF- $\alpha$ , serta menunjukkan senyawa alpha-Tocopherol-beta-D-mannoside memiliki afinitas terbaik dengan nilai  $\Delta G$  -10,53 kkal/mol pada residu asam amino TRP372 reseptor enzim iNOS. Dapat disimpulkan bahwa kedua senyawa ini merupakan kandidat yang paling potensial sebagai antiinflamasi.

Kata kunci: Jambu mawar, *in silico*, iNOS dan TNF- $\alpha$ ,

### **ABSTRACT**

Inflammation is one of the innate immune responses that play a role in the defense system against foreign compounds. In previous research it was known that *Syzygium jambos* leaf extract has anti-inflammatory activity. The purpose of this study was to determine the candidate compounds from *Syzygium jambos* leaves that have anti-inflammatory activity through interactions with TNF- $\alpha$  receptors and iNOS enzymes. This study used an *in silico* method, namely molecular docking to predict the affinity of *Syzygium jambos* leaf compounds for iNOS with code: 1NSI and TNF- $\alpha$  with code: 3EWJ. The results of the molecular docking showed the compound methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino)propan-2-yl]-15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate has a better affinity than its natural ligand is ((1S, 3R, 6S)-4-oxo-6{4-[2-phenyl quinolon-4-yl] methoxy}phenyl)-5-azaspiro [2,4]heptane-1-carboxylic acid) with a  $\Delta G$  value of -13.65 kcal/mol on the amino acid residues GLY346 and LEU348 of the TNF- $\alpha$  receptor, and the alpha-Tocopherol-beta-D-mannoside compound had the best affinity with a  $\Delta G$  value of -10.53 kcal/mol on the amino acid residue TRP372 of the iNOS enzyme receptor. It can be concluded that these two compounds are the most potential candidates as anti-inflammatories.

Keywords: *Syzygium jambos*, *in silico*, iNOS and TNF- $\alpha$ ,

## PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sumber daya alam yang sangat melimpah, salah satunya adalah tanaman yang dapat tumbuh di alam liar ataupun ditanam secara budidaya. Salah satu tempat budidaya tanaman dikenal dengan istilah Arboretum. Jawa barat memiliki Arboretum yang dinamai Arboretum Legok Pulus yang terletak di daerah wisata Samarang Kabupaten Garut. Tanaman yang paling banyak tumbuh adalah suku Myrtaceae [1]. Beberapa jenis tanaman suku tersebut dapat digunakan sebagai tanaman obat, diantaranya jambu mawar (*Syzygium jambos* L. Alston). Dilaporkan, ekstrak daun jambu mawar memiliki aktivitas antiinflamasi [2].

Inflamasi adalah salah satu respon imun bawaan yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Inflamasi dipicu oleh berbagai faktor seperti senyawa patogen, kerusakan sel dan senyawa beracun [3]. Mekanisme inflamasi terjadi, diawali oleh adanya mediator inflamasi salah satunya adalah *Nitrit oxide (NO)* yang disintesis oleh enzim *Nitric oxide synthase (NOS)*, terutama jenis *iNOS (inducible Nitrit Oxide Synthase)* [4]. Produksi NO yang berlebih dapat mengakibatkan berbagai penyakit inflamasi [5]. Selain NO, mediator inflamasi lainnya yang diproduksi yaitu sitokin TNF- $\alpha$  (*Tumor Necrosis Factor- $\alpha$* ) [6]. Dengan demikian, penghambatan aktivitas iNOS dan TNF- $\alpha$  menjadi salah satu target terapi utama untuk mengobati penyakit inflamasi [7].

Penemuan obat antiinflamasi selain antiinflamasi steroid dan non steroid, beberapa penelitian melaporkan obat yang bekerja melalui penghambatan enzim iNOS dan TNF- $\alpha$  sebagai senyawa endogen yang bertanggung jawab dalam proses inflamasi. Beberapa senyawa obat yang dapat menghambat aktivitas TNF- $\alpha$  yaitu entanercept, infliximab dan adalimumab [8].

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan pengujian *in silico* melalui metode penambatan molekul dari senyawa-senyawa daun jambu mawar terhadap reseptor iNOS dan TNF- $\alpha$ . Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi senyawa potensial yang kemudian menjadi kandidat obat antiinflamasi.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Reseptor enzim iNOS dan TNF- $\alpha$  berupa struktur tiga dimensi protein yang didapat dari metode kristalografi sinar-X dengan resolusi <2Å. Identitas makromolekul tersebut INSI dan 3EWJ diperoleh dari web *Protein Data Bank*

<https://www.rcsb.org>. dan senyawa/ligan yang digunakan merupakan struktur 3D senyawa yang terkandung dalam daun jambu mawar.

### Alat

Perangkat keras yang digunakan berupa laptop TOSHIBA dengan spesifikasi Prosesor Intel® Core™ i3-2328M CPU 2.0 GHz RAM 2.00 GB dan HDD 465.76 GB. Perangkat lunak yang digunakan yaitu Sistem operasi Window 7, 64-bit, dilengkapi program MGL-Tools dengan aplikasi *AutoDock Tools 1.5.6*®, ChemOffice 2015, Discovery Studio 2017, Notepad++® serta situs *Protein Data Bank (PDB)*, dan PubChem.

### Metode

#### Penyiapan Makromolekul

Reseptor TNF- $\alpha$  (kode PDB: 3EWJ) dan enzim iNOS (kode PDB: INSI) dipisahkan dengan residunya berupa molekul air dan ligan yang tertambat menggunakan program *Discovery Studio Visualizer*®. Kemudian dilakukan penambahan atom hidrogen dan penambahan *kollman charges* untuk memberikan nilai muatan pada residu asam amino.

#### Penyiapan Ligan

Senyawa ligan uji terdiri dari 38 senyawa dengan struktur masing-masing ligan diunduh dari situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> kemudian dilakukan optimasi dengan cara minimize energy menggunakan aplikasi program Chem3D® dan disimpan dalam format (.pdb). Kemudian ditambahkan muatan gasteiger, protonasi, dan atom hidrogen yang dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Autodock Tools-1.5.6*. Hasil dari optimasi ligan ini disimpan dalam bentuk pdbqt.

#### Validasi Metode

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan cara redocking antara ligan alami yaitu L-Arginine untuk reseptor iNOS dan ((1S, 3R, 6S)-4-oxo-6{4-[2-phenyl quinolon-4-yl] methoxy}phenyl}-5-azaspiro [2,4]heptane-1-carboxylic acid) untuk INF- $\alpha$  dari makromolekul dengan reseptor target menggunakan perangkat lunak Autodock Tools®. Evaluasi hasil validasi menggunakan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Jika nilai RMSD yang diperoleh  $\leq 2$  Å, maka dapat dikatakan bahwa situs pengikatan yang ditemukan dan parameter yang digunakan telah sesuai persyaratan atau dianggap valid.

**Mengatur Grid Box**

Pengaturan *grid box* dilakukan dengan membuka menu *Grid* pada *Autodock Tools*<sup>®</sup>, kemudian memilih reseptor dan ligan yang telah tersimpan dalam format (.pdbqt). Pusat koordinat X, Y dan Z diatur sesuai koordinat lalu disimpan dengan format (.gpf).

**Mengatur Parameter Docking**

Pengaturan parameter docking dilakukan dengan cara memilih reseptor dan ligan dengan format pdbqt. Kemudian mengatur parameter docking sesuai energi yang digunakan (*Docking-Search Parameter-Genetic Algorithm-Number of GA Runs-Accept*). Hasilnya ini disimpan dengan format (dock.dpf).

**Running Docking**

Proses *running docking* dilakukan setelah semua pengaturan selesai, dengan menggunakan AutoDock4 dan AutoGrid4 pada program AutoDock Tools<sup>®</sup>. Setelah selesai melakukan proses running, didapatkan output dengan format (.dlg), lalu dibuka menggunakan program Notepad<sup>®</sup>.

**Analisis dan Visualisasi Docking**

Parameter yang dapat diamati dari hasil keseluruhan *docking* berupa energi ikatan bebas ( $\Delta G_{\text{bind}}$ ) terendah dan interaksi terhadap reseptor yang dapat dibandingkan antara senyawa alami dengan senyawa uji lainnya. Serta konstanta inhibisi dan asam amino yang terikat di senyawa/ligan, divisualisasi menggunakan program *Discovery Studios Visualizer*<sup>®</sup> untuk mengamati interaksi ligan terhadap *active binding site* pada reseptor.

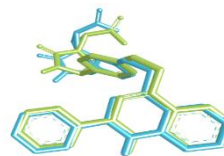
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini menggunakan struktur tiga dimensi makromolekul sebagai protein target suatu obat untuk mempengaruhi sistem biologi. Target terapi antiinflamasi pada penelitian ini yaitu enzim iNOS yang berperan memproduksi NO dimana NO ini akan mengawali perubahan-perubahan pada sistem vaskularisasi sebagai reaksi inflamasi dan reseptor TNF- $\alpha$  yang berfungsi mengatur aktivitas makrofag serta respon imun jaringan [9].

Gambar 1. Hasil visualisasi tumpang tindih ligan alami INSI (biru) dengan ligan hasil redocking (hijau).



Gambar 2. Hasil visualisasi tumpang tindih ligan alami 3EWJ (biru) dengan ligan hasil redocking (hijau).



Makromolekul yang dipilih adalah INSI merupakan struktur dari enzim iNOS dengan resolusi 2,55 Å dan 3EWJ yang merupakan struktur dari reseptor TNF- $\alpha$  dengan resolusi 1,80 Å. Makromolekul tersebut diperoleh dari hasil difraksi sinar-X. Masing-masing struktur makromolekul tersebut memenuhi syarat maksimum resolusi yaitu sebesar 3,0Å [10].

Struktur makromolekul diunduh dari PDB umumnya masih memiliki molekul air dan residu lainnya. Keberadaan air akan mengganggu ikatan antara ligan dengan reseptor karena air menyebabkan terbentuknya ikatan hidrogen dengan reseptor, sehingga dilakukan preparasi agar proses interaksi yang terjadi antar ligan dengan reseptor berjalan dengan optimal [11]. Preparasi dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock Tools* dengan cara penambahan muatan *kollman charges* dan penambahan atom hidrogen, hasil preparasi makromolekul tersebut disimpan dalam format pdbqt.

Ligan uji yang digunakan ialah senyawa-senyawa bioaktif daun jambu mawar yang terdiri dari 38 senyawa. Struktur masing-masing ligan diunduh dari situs PubChem kemudian dioptimasi dengan cara *minimize energy* menggunakan aplikasi *Chemoffice*<sup>®</sup> agar didapatkan energi potensial yang rendah dan konformasi molekul yang stabil [12]. *Minimize energy* memberikan pengaturan posisi atom terbaik dalam ruang untuk senyawa sehingga gaya inter-atom dan energi sterik setiap atom mendekati nol dan posisi pada permukaan energi potensial adalah titik stasioner. Konformasi struktur mempengaruhi skor *docking* dan menunjukkan afinitas ligan terhadap reseptor [13]. Kemudian dilakukan penambahan muatan *gasteiger* dan protonasi penambahan atom hidrogen menggunakan aplikasi *Autodock Tools*.

Hasil dari optimasi ligan ini disimpan dalam bentuk pdbqt.

Validasi dilakukan dengan cara *redocking* untuk melihat apakah metode yang digunakan sudah valid atau tidak. Metode *docking* dinyatakan valid jika nilai RMSD  $\leq 2$  Å. Nilai RMSD menunjukkan posisi setiap atom pada ligan dari hasil *redocking* tidak berbeda terlalu jauh dengan posisi pada ligan hasil kristalografi. Sehingga nilai RMSD digunakan sebagai parameter untuk mengevaluasi keakuratan reseptor target. Nilai RMSD 1NSI adalah 1,898 Å dan 3EWJ adalah 0,757 Å. Hasil tersebut menunjukkan bahwa metode yang digunakan valid atau dapat digunakan untuk proses *docking*.

Selanjutnya dilakukan penentuan parameter-parameter yang dibutuhkan untuk penambatan yaitu parameter *grid* (*Grid Parameter File*) dan parameter penambatan (*Docking Parameter File*). Penggunaan *grid* meliputi penentuan koordinat dan volume.

Menentukan koordinat yang digunakan dalam penambatan molekul yaitu dengan cara mengatur pusat koordinat (X,Y,Z) berurutan yaitu 9,756; 64,46; dan 15.994 pada reseptor dengan kode 1NSI dan 48.607; 30.91; dan 43.381 pada reseptor dengan kode 3EWJ. Volume *grid* yang digunakan pada penambatan pada penelitian ini adalah 40 x 40 x 40 Å dengan *Spacing* 0,375 Å dan dilakukan perubahan pada *Number of GA Runs* menjadi 100.

Tabel 1. Hasil validasi metode dengan *redocking* ligan alami

Kode PDB	Grid Box	RMSD	Ikatan Energi Ligan Alami (kkal/mol)
1NSI	X: 9.756, Y: 64.46, Z: 15.994	1,898 Å	-7,02
3EWJ	X: 9.756, Y: 64.46, Z: 15.995	0,757 Å	-13,59

Tabel 2. Hasil Penambatan Molekul Ligan Alami dan Senyawa Uji pada Enzim iNOS

No.	Ligan/Senyawa	Energi Bebas ( $\Delta G$ ) kcal/mol	KI ( $\mu M$ )	Jumlah Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino
1a.	L-Arginine (Ligan alami)	-7,02	7,13	6	ARG A:266, ASP A: 382, GLN A:263, GLU A:377, TYR A:347, TYR A:373
1.	4-Quinolinol, 4-ethenyl-1-ethyldecahydro-2-methyl	-7.24	4.93	2	TRP A:372
2.	Glucitol,6-O-nonyl	-3.47	2840	1	GLU A:377 TRP A:372
3.	1-Deoxy-d-mannitol	-3.49	2780	2	GLU A:377 TRP A:372
4.	3-methyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-6-pyridin-4-ylpyrimidin-4-one	-6.09	34.08	2	PRO A:350 TRP A:372

5.	2,6-dibromo-4-[2-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol	-8.08	1.19	2	ARG A:199 TRP A:372
6.	4-Cyclopropyl methyl benzonitrile	-5.77	58.90	2	VAL A:572
7.	Caryophyllen alcohol	-7.67	2.40	1	GLU A:377
8.	4-Methylbenzyl chloride	-4.49	515.23	1	-
9.	Methyl 18-fluorooctadecanoate	-4.41	583.01	3	CYS A:200, GLY A:202, ILE A:201
10.	E-15-Heptadecenal	-5.50	93.08	1	ILE A :201
11.	2,6,10-trimethyl, 14-ethylene-14-pentadecene	-5.95	43.24	-	-
12.	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	-6.29	24.43	1	ARG A:199
13.	Hexadecanoic acid, methyl ester (palmitic acid)	-5.08	187.51	3	CYS A:200, GLY A:202, ILE A:201
14.	Pentadecanoic acid	-4.18	869.57	2	CYS A:200, ILE A:201
15.	Methyl-9,12-heptadecadienoate	-5.57	82.21	2	CYS A:200, ILE A:201
16.	5,9,12-octadecatrienoic acid	-5.57	81.94	1	ARG A:199
17.	Methyl 12-methyltetradecanoate	-5.03	204.26	1	VAL A:352
18.	Ethyl-9,12-octadecadienoate	-5.68	68.84	1	ILE A:201
19.	Butyl-9,12,15-octadecatrienoate	-6.48	17.87	3	CYS A:200, GLY A:202, ILE A:201
20.	4-bromo-5-nitro-1h-pyrazole-3-carboxylic acid	-4.43	568.34	5	ARG A:266, ARG A:388, ASP A:382, GLN A:263, TYR A:347
21.	1-O-hexadecylglycerol - bis-trimethylsi	-4.60	424.43	2	ARG A:199 CYS A:200
22.	3-Pentadecylphenol	-5.58	81.71	1	ARG A:199
23.	N-Tetracosane	-4.63	405.05	-	-
24.	beta.-Humulene	-7.42	3.65	-	-

25.	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate	-6.19	29.17	2	CYS A:200 ILE A:201
26.	2-[2-[2-(4-nonylphenoxy) ethoxy] ethoxy] ethanol	-4.49	511.66	2	GLU A:377 ILE A:201
27.	Ethyl 7-amino[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine-6-carboxylate	-5.83	53.11	3	GLU A:377 PRO A:350 TRP A:372
28.	Methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino) propan-2-yl] -15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate	-9.59	0.094	4	ARG A:199 CYS A:200 GLN A:263 ILE A:201
29.	1H-Indole-2-carboxylic acid	-4.79	305.76	1	TRP A:372
30.	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene	-7.70	2.27	-	-
31.	2,5-Di-tert-amylhydroquinone	-6.34	22.40	4	ARG A:199 CYS A:200 GLU A:377 ILE A:201
32.	(Z)-7-Hexadecenal	-5.25	142.48	1	ILE A:201
33.	S-Ethyl ethanethioate	-3.42	3.09	1	TRP A:372
34.	Phenanthro (1,2-b) furan-10,11-dione,6,7,8,9-tetrahydro-7-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-1-methyl-	-7.47	3.33	3	ARG A:199 CYS A:200 GLU A:377
35.	1,4-Benzenediol, 2,5-bis (1,1-dimethylethyl)	-6.19	29.08	1	TRP A:372
36.	Quinoline-3-carboxylic acid	-5.16	166.16	3	PHE A:369 PRO A:350 TRP A:72
37.	alpha.-Tocopherol-.beta.-D-mannoside	-10.53	0.019	1	TRP A:372
38.	Stigmast-5-en-3-ol	-9.06	0.23	3	ARG A:388 ASP A:382 TYR A:373

Tabel 3. Hasil Penambatan Molekul Ligan Alami dan Senyawa Uji pada Reseptor TNF- $\alpha$ 

No.	Ligan/Senyawa	Energi Bebas ( $\Delta G$ ) kcal/mol	KI ( $\mu M$ )	Jumlah Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino
1a.	((1S, 3R, 6S)-4-oxo-6{4-[2-phenyl quinolon-4-yl) methoxy]phenyl}-5-azaspiro [2,4]heptane-1-carboxylic acid) (Ligan alami)	-13.59	0.00011	3	HIS A:415, GLY A:349, LEU A:438
1.	4-Quinolinol, 4-ethenyl-1-ethyldecahydro-2-methyl	-8.37	0.73	1	VAL A:434
2.	Glucitol,6-O-nonyl	-6.67	672.99	3	GLU A:406, GLY A:349, LEU A:348
3.	1-Deoxy-d-mannitol	-4.33	3.72	4	HIS A:405, ILE A:438, TYR A:433, TYR A:436
4.	3-methyl-2-methylsulfanyl-5-nitro-6-pyridin-4-ylpyrimidin-4-one	-7.41	979.04	2	TYR A:433, VAL A:434
5.	2,6-dibromo-4-[2-(3,5-dibromo-4-hydroxyphenyl)propan-2-yl]phenol	-8.20	0.98	2	ALA A:439, PRO A:437
6.	4-Cyclopropyl methylbenzonitrile	-6.54	16.17	-	-
7.	Caryophyllen alcohol	-8.82	0.34	2	HIS A:405, TYR A:436
8.	4-Methylbenzyl chloride	-5.38	114.52	-	-
9.	Methyl 18-fluoro octadecanoate	-7.29	4.53	1	GLY A:349
10.	E-15-Heptadecenal	-7.39	3.82	-	-
11.	2,6,10-trimethyl, 14-ethylene-14-pentadecne	-4.92	226.10	-	-
12.	3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol	-8.66	0.45	2	ASN A:447, SER A:441
13.	Hexadecanoic acid, methyl ester (palmitic acid)	-7.28	4.60	2	GLY A:349, LEU A:348
14.	Pentadecanoic acid	-6.26	25.75	2	GLY A:349, LEU A:348
15.	Methyl-9,12-heptadecadienoate	-7.89	1.63	-	-
16.	5,9,12-octadecatrienoic acid	-6.70	12.34	2	ALA A:439, PRO A:437

17.	Methyl 12-methyl tetradecanoate	-7.34	3,84	2	GLY A:349, LEU A:348
18.	Ethyl-9,12-octadecadienoate	-7.64	2.51	2.51	LEU A:348
19.	Butyl-9,12,15-octadecatrienoate	-7.29	1.57	1.57	-
20.	4-bromo-5-nitro-1h-pyrazole-3-carboxylic acid	-3.47	2840	2.84	TYR A:433, TYR A:436
21.	1-O-hexadecylglycerol - bis-trimethylsi	-6.70	12.21	12.21	GLY A:349
22.	3-Pentadecylphenol	-8.37	736.90	736.90	VAL A:440
23.	N-Tetracosane	-7.53	3.03	3.03	-
24.	beta.-Humulene	-8.88	0.31	309.39	-
25.	Methyl (Z)-5,11,14,17-eicosatetraenoate	-8.74	0.39	392.69	GLY A:349, LEU A:348
26.	2-[2-[2-(4-nonylphenoxy) ethoxy] ethoxy] ethanol	-6.88	9.07	2	SER A:441, ASP A:389
27.	Ethyl 7-amino[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidine-6-carboxylate	-6.69	12.43	4	ASN A:442, LEU A:401, LEU A:438, TYR A:436
28.	methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino) propan-2-yl] -15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate	-13.65	0.00098	2	GLY A:346, LEU A:348
29.	1H-Indole-2-carboxylic acid	-5.23	147.25	4	ASN A:447, LYS A:432, SER A:441, VAL A:440
30.	2,6,10,14,18,22-Tetracosahexaene	-10.63	0.16	1	-
31.	2,5-Di-tert-amylhydroquinone	-8.02	0.0013	1	TYR A:436
32.	(Z)-7-Hexadecenal	-7.19	5.38	-	-
33.	S-Ethyl ethanethioate	-3.68	2000	1	VAL A:440
34.	Phenanthro (1,2-b) furan-10,11-dione, 6,7,8,9-tetrahydro-7-hydroxy-6-(hydroxymethyl)-1-methyl-	-10.15	0.036	1	GLU A:406



35.	1,4-Benzenediol, 2,5-bis (1,1-dimethylethyl)	-7.49	3.25	1	TYR A:436
36.	Quinoline-3-carboxylic acid	-5.600	77.95	2	ASN A:447, VAL A:440
37.	alpha.-Tocopherol-.beta.-D-mannoside	-12..09	0.0014	-	-
38.	Stigmast-5-en-3-ol	-8.32	0.79	3	ILE A:438, TYR A:433, VAL A:440

Hasil penambatan molekul di atas merupakan prediksi afinitas dari senyawa uji terhadap protein target dilihat dari beberapa parameter yang terdiri dari skor penambatan berupa nilai energi bebas ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi (KI) serta melihat residu asam amino melalui sebuah ikatan hidrogen. Penentuan afinitas tersebut dapat diketahui dari senyawa uji terhadap reseptor yang nilai energi bebasnya berbanding lurus dengan konstanta inhibisi. Semakin rendah nilai energi bebas dan nilai konstanta inhibisi menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi karena terjadi kestabilan dan kekuatan interaksi [15]. Parameter lain yang dapat dilihat ialah hasil visualisasi penambatan yang dilakukan dengan cara membandingkan interaksi antara senyawa uji dengan residu asam amino dan interaksi ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor.

Dari 38 senyawa yang terkandung dalam daun jambu mawar pada tabel di terdapat 9 senyawa yang memiliki nilai energi bebas dan konstanta inhibisi lebih rendah dari ligan alami yang berinteraksi pada reseptor iNOS. Senyawa yang paling baik dibandingkan 8 senyawa-senyawa tersebut yaitu alpha-tocopherol-beta-d-mannoside. Namun, hanya 1 senyawa aktif pada reseptor TNF- $\alpha$  yang memiliki energy lebih negatif dari ligan alaminya methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4, 9, 10

trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino)propan-2-yl]-15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate. Interaksi ikatan yang dinyatakan memenuhi kriteria penambatan molekul adalah ikatan hidrogen yang dapat menunjukkan afinitas suatu molekul terhadap protein target yang membentuk interaksi elektrostatik (donor dan akseptor hidrogen) [13]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ida Musfiroh pada tahun 2013 menjelaskan bahwa asam amino yang berperan dalam ikatan iNOS dengan L-Arginine yaitu ikatan hidrogen diantaranya tyrosin, asam aspartat, asam glutamat dan glutamin [10]. Interaksi dapat dilihat dari nilai energi bebas dan konstanta inhibisi yang rendah [16]. Senyawa alpha-Tocopherol-beta-D-mannoside memiliki nilai energy bebas -10,53 pada residu asam amino TRP 372 reseptor iNOS. Sedangkan senyawa methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino)propan-2-yl]-15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthrene-13-carboxylate memiliki energi bebas -13.65 pada 2 residu asam amino GLY 346 dan LEU 348.

Tocopherol-beta-D-mannoside pada reseptor TNF- $\alpha$  dan enzim iNOS.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penambatan molekular terdapat 2 senyawa kandidat pada jambu mawar yang potensial sebagai obat antiinflamasi yaitu senyawa methyl (4R,9R,10R,15R)-4-(cyanomethyl)-4,9,10-trimethyl-3-[2-methyl-1-oxo-1-(1,3-thiazol-2-ylamino)propan-2-yl]-15-prop-1-en-2-yl-2,3,5,6,7,8,11,12,14,15,16,17-dodecahydro-1H-cyclopenta [a]phenanthrene-13-carboxylate serta senyawa alpha-

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada dekan fakultas matematika dan ilmu pengetahuan alam karena telah memfasilitasi instalasi komputer di laboratorium *in silico*.

**DAFTAR PUSTAKA**

- [1] Retty Handayani, Ardi Rustamsyah, Farid Perdana, Setiady Ihsan, D. W. S. 2017. Preliminary study of plant phytochemicals in the Legok Pulus Garut Arboretum collection. 4, 103–107.
- [2] Ávila-Peña, D., Peña, N., Quintero, L. & Suárez-Roca, 2007. H. Antinociceptive activity of *Syzygium jambos* leaves extract on rats. *J. Ethnopharmacol.* 112, 380–385.
- [3] Lee, J. et al. 2019. Anti-inflammatory effect of *Rhodiola crenulata* extracts through the down-regulation of MyD88 dependent pathway and induction of autophagy. *J. Funct. Foods* 103703. doi:10.1016/j.jff.2019.103703
- [4] Suwandi, D. W., Rostinawati, T., Muchtaridi, M. & Subarnas, 2021. A. In vitro evaluation of selliguesin A effects on the pro-inflammatory mediators production in RAW264.7 murine macrophages. *J. HerbMed Pharmacol.* 10, 313–318.
- [5] Lee, M. H. et al. 2007. The anti-inflammatory effects of *Pyrolae herba* extract through the inhibition of the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and NO production. *J. Ethnopharmacol.* 112, 49–54.
- [6] Olesen, C. M., Coskun, M., Peyrin-Biroulet, L. & Nielsen, O. H. 2016. Mechanisms behind efficacy of tumor necrosis factor inhibitors in inflammatory bowel diseases. *Pharmacol. Ther.* 159, 110–119.
- [7] MacMicking, J., Xie, Q. & Nathan, C. 1997. Nitric Oxide and Macrophage Function. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 323–350.
- [8] Katzung, B.G., Masters, S.B. & Trevor, A. J. 2012. *Basic & Clinical Pharmacology.* (McGraw-Hill.).
- [9] Andreakos, E. et al. 2016. Distinct pathways of LPS-induced NF- $\kappa$ B activation and cytokine production in human myeloid and nonmyeloid cells defined by selective utilization of MyD88 and Mal / TIRAP. 103, 2229–2238.
- [10] Musfiroh, I. et al. 2013. In silico study of asiatic acid interaction with Inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 5, 204–207.
- [11] Aliya NH. Jutty Levita, E. D. and A. S. 2011. Analyzing the Interaction of Shellegueain A: A Bioactive Compound of Pakis Tangkur (*Selliguea feei* or *Polypodium feei*) to Cyclooxygenase Enzyme by Molecular Docking. 23, 3093–3096.
- [12] Wu, J. et al. 2016. Resveratrol inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-1 for treatment of rheumatoid arthritis : from In-Silico to In-vitro elucidation. *Int J Clin Exp Med* 9, 745–752.
- [13] Bissantz, C., Kuhn, B. & Stahl, M. 2010. A medicinal chemist's guide to molecular interactions. *J. Med. Chem.* 53, 5061–5084.
- [14] Yustika Putri, F., Riza, H. & Fajriaty, I. 2015. Studi Molecular Docking Hasil Modifikasi Struktur Senyawa Atorvastatin untuk Meningkatkan Efek Antihiperlipidemia. *Cybrarians J.* 1–31. doi:10.12816/0013114
- [15] Mardianingrum, R., Herlina, T. & Supratman, U. 2015. Isolasi dan Molecular Docking Senyawa 6,7-dihidro-17-hidroksierisotrin dari Daun Dadap Belendung (*Erythrina poeppigiana*) Terhadap Aktivitas Sitotoksik Anti Kanker Payudara MCF-7. *Chim. Nat. Acta* 3, 90–93.
- [16] Aswad, M., Christine, L. & Hardianti, B. 2019. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Kulit Akar Murbei (*Morus sp.*). 23, 85–100.