

POTENSI DAUN ASAM JAWA (*Tamarindus indica* L.) SEBAGAI ALTERNATIF ANTIINFLAMASI: STUDI *IN SILICO*

ANTI-INFLAMMATORY POTENTIAL OF TAMARIND (*Tamarindus indica* L.) LEAVES: STUDY IN SILICO

Erma Yunita¹, Siti Fatimah¹, Deni Yulianto¹, Vedy Trikuncahyo¹, Zihan Khodijah¹

¹Program Studi Diploma III Farmasi Akademi Farmasi Indonesia Yogyakarta

Korespondensi: ermayunita@ac.afi.id

INTISARI

Daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan tanaman yang memiliki banyak khasiat. Kandungan senyawa kimia yang terkandung salah satunya Kuersetin. Kuersetin merupakan senyawa flavonoid yang dapat digunakan sebagai anti inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi aktivitas Kuersetin dari daun asam jawa sebagai anti inflamasi terhadap protein COX-1 dan COX-2 secara *in silico*. Ekstrak daun asam jawa diperoleh dengan maserasi bertingkat menggunakan heksan dan etanol. Kadar Kuersetinnya dihitung secara spektrofotometri UV-Vis. Konfirmasi aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in silico*. Protein yang digunakan adalah 6COX, 3PGH, dan 1EQH. Kuersetin sebagai senyawa aktif sedangkan Aspirin digunakan sebagai zat pembanding. Preparasi ligan Kuersetin menggunakan MarvinSketch kemudian preparasi protein target 6COX, 1EQH, dan 3PGH menggunakan YASARA. Selanjutnya melakukan *molecular docking* menggunakan program PLANTS. Parameter evaluasi validasi dapat dilihat dari nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dimana nilai RMSD yang diterima adalah kurang dari 2Å. Kadar Kuersetin yang diperoleh dalam ekstrak dalam daun asam jawa sebesar 31,26 mg/g. Hasil *docking* menunjukkan bahwa Kuersetin mampu berinteraksi dengan 1EQH, 3PGH, dan 6COX dimana skor *docking*nya masing-masing adalah -77,6195; -75,1344; dan -82,2454, sedangkan hasil *docking* Aspirin masing-masing adalah -69,8784; -75,2421; dan -72,0884. Kuersetin memiliki potensi sebagai anti inflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan Aspirin namun memiliki resiko lebih tinggi menyebabkan ulkus lambung dibanding Aspirin.

Kata kunci: *Tamarindus indica* L., Kuersetin, *Docking molecular*, COX, Antiinflamasi

ABSTRACT

Tamarindus indica L. is a plant that has many benefits. The content of chemical compounds contained one quercetin. Quercetin a flavonoid compound that can be used as an anti-inflammatory. This study aims to determine the potential activity of quercetin from tamarind leaves as an anti-inflammatory to protein COX-1 and COX-2 in silico. Tamarind leaves extract is obtained by macerating graded using hexane and ethanol. Quercetin levels calculated by UV-Vis spectrophotometry. Confirmation of anti-inflammatory activity performed in silico. Protein used is 6COX, 3PGH, and 1EQH. Quercetin as an active compound, while Aspirin is used as a comparison substance. Preparation of quercetin ligands using MarvinSketch then target protein preparation 6COX, 1EQH, and 3PGH use YASARA. Molecular docking using a program PLANTS. Evaluation parameter validation can be seen from the Root Mean Square Deviation (RMSD), where the value of RMSD received is less than 2Å. Quercetin levels obtained in extracts in tamarind leaves at 31.26 mg/g. The results showed that quercetin docking able to interact with 1EQH, 3PGH, and 6COX wherein each docking score is -77.6195; -75.1344; and -82.2454, while the results of each docking score of Aspirin is -69.8784; -75.2421; and -72.0884. Quercetin has potential as an anti-inflammatory that is better than aspirin but has a higher risk than Aspirin causes stomach ulcers.

Keywords: *Tamarindus indica* L., Quercetin, molecular docking, COX, anti-inflammatory

PENDAHULUAN

Salah satu tanaman obat yang memiliki banyak khasiat adalah tanaman asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Hampir semua bagian tanaman asam jawa dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Asam jawa digunakan sebagai bumbu dapur, bahan obat, dan hingga kosmetika. Bunga tanaman asam jawa merupakan sumber madu yang bisa untuk membudidayakan lebah madu. Daging buah asam jawa bisa dimanfaatkan sebagai campuran obat tradisional dan bumbu dapur (Doughari, 2006). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun asam jawa salah satunya adalah Kuersetin (Utami, 2008). Kuersetin berpotensi sebagai antivirus, antibakteri dan anti-inflamasi. Kuersetin memiliki aktivitas antibakteri yang baik karena adanya gugus fenol

dengan mekanisme kerja mengkoagulasi protein dengan menonaktifkan enzim-enzim dan mengganggu dinding sel sehingga memiliki sifat bakterisida yang baik (Katzung, 2004).

Inflamasi merupakan respon perlindungan setempat yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan pada jaringan yang berfungsi untuk mengurangi, menghancurkan atau melokalisasi agen pencedera maupun jaringan yang tercedera (Dorland, 2002). Menurut Fahey dan Stephenson (2002), senyawa golongan flavonoid memiliki khasiat sebagai anti inflamasi. Aspirin dan obat anti inflamasi non steroid adalah salah satu kelas obat-obatan yang paling banyak digunakan. Pada jaringan inflamasi, obat anti inflamasi non steroid memiliki efek menguntungkan melalui penghambatan COX-2 dan efek toksik melalui penghambatan COX-1 yang dapat menyebabkan disfungsi renal dan ulserasi mukosa lambung (Sing and Triadafilopoulos, 2009). Peneliti ingin mengetahui interaksi dan senyawa asam amino yang terikat pada senyawa Kuersetin terhadap enzim COX-1 dan COX-2 dibandingkan efikasinya dengan Aspirin dengan *molecular docking* menggunakan aplikasi *Protein Ligand ANT System* (PLANTS).

Berdasarkan latar belakang yang telah dijabarkan, perlu dilakukan penelitian potensi daun asam jawa sebagai alternative terapi anti-inflamasi. Pada penelitian ini dilakukan penetapan kadar Kuersetin sebagai zat aktif dalam ekstrak daun asam jawa, kemudian dilanjutkan dengan konfirmasi aktivitas anti-inflamasi terhadap COX1 dan COX2 secara *in silico*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan untuk penetapan kadar adalah Spektrofotometer Genesys 10S UV-Vis, sedangkan untuk uji *in silico* dibutuhkan *Personal Computer (PC/Laptop)* Lenovo G40-45 yang dilengkapi dengan perangkat lunak seperti sistem operasi Linux dan aplikasi pendukung yang digunakan adalah YASARA, Pymol, dan MarvinSketch.

Bahan

Bahan yang digunakan digunakan untuk penetapan kadar Kuersetin adalah simplisia daun asam jawa yang berasal dari Mantrijeron Yogyakarta, etanol pro analysis (Merck), etanol 96% (CV. General Labora), Kuersetin (Sigma Aldrich), dan akuades (CV. General Labora). Sedangkan bahan untuk uji *in silico* berupa protein 6COX, 1EQH, dan 3PGH dalam bentuk *file* pdb yang diunduh dari situs resmi *protein data bank* (www.rscb.org).

Prosedur Kerja

1. Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak Etanol Daun Asam Jawa

a. Penyiapan Ekstrak Daun Asam Jawa

Simplisia daun asam jawa dimaserasi menggunakan n-heksan kemudian diaduk menggunakan pengaduk elektrik selama 1 jam. Rendaman didiamkan 3x24 jam. Hasil maserasi disaring, residu yang diperoleh kemudian dikeringkan dan dimaserasi etanol 96% lalu diaduk menggunakan pengaduk elektrik selama 1 jam. Rendaman dibiarkan selama 3x24 jam terlindung dari cahaya, sambil sesekali diaduk. Hasil maserasi disaring untuk memisahkan ampas dan filtratnya. Maserat dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* dan dikentalkan di atas penangas air hingga terbentuk ekstrak kental. Ekstrak etanol yang di dapat dihitung rendemennya.

b. Pembuatan larutan stok

Larutan stok standar Kuersetin dan ekstrak daun asam jawa masing-masing dibuat pada konsentrasi 10.000 ppm. Larutan stok dibuat dengan menggunakan pelarut Etanol pa.

c. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan stok konsentrasi 100 ppm sebanyak ± 3 ml diukur serapan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 200-800 nm dengan menggunakan blangko etanol p.a.

d. Pembuatan kurva baku Kuersetin

Kurva baku dibuat dengan cara menghubungkan konsentrasi larutan standar pada seri konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm dengan hasil serapannya yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 361,8 nm.

e. Penetapan kadar Kuersetin dalam ekstrak daun asam jawa

Larutan ekstrak daun asam jawa konsentrasi 250 ppm diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang maksimum. Larutan sampel dibuat dalam 5 kali percobaan.

2. Uji *In Silico*

a. Preparasi Ligan Kuersetin dan Aspirin

Gambar struktur senyawa Kuersetin dua dimensi secara manual menggunakan MarvinSketch. Struktur selanjutnya diprotonasi untuk mendapatkan struktur dalam kondisi yang disesuaikan dengan pH darah. Tahapan selanjutnya adalah membuat 10 konformasi yang mewakili posisi *ligand*. Langkah yang sama dilakukan untuk preparasi ligan Aspirin.

b. Preparasi Protein Target

Struktur protein target 1EQH, 3PGH, dan 6COX diunduh dari website Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>). Homologi modeling dilakukan dengan membuka YASARA. Sistem yang tidak diperlukan dalam *protocol docking* dihapus. Deterjen (NAG untuk 6COX dan 3PGH, NAG dan BOG untuk 1EQH) yang masih ada dalam sistem pun juga harus dihilangkan. Hidrogen ditambahkan dengan bantuan YASARA, sebab resolusi struktur kristal tidak mampu memprediksi keberadaan hidrogen. File yang sudah dipreparasi disimpan sebagai YASARA Object. Selanjutnya ligand asli (S58 untuk 6COX, FLP untuk 3PGH dan 1EQH) dihapus sehingga hanya menyisakan protein target saja dengan *pocket* untuk *docking*. File disimpan sebagai protein.mol2. Koordinat *pocket* dapat diketahui dengan merujuk pada koordinat ligand 3D asli. Untuk itu hanya diperlukan file mol2 yang hanya berisi ligand asli.

c. Docking ligand

Buat folder kemudian tambahkan *file* dari aplikasi PLANTS yakni, PLANTS, PLANTS.exe, PLANTS64, dan plantsconfig. Jalankan virtual oracle lalu klik *open terminal* kemudian isikan perintah *docking* berikut:

```
chmod u+x PLANTS
./PLANTS
./PLANTS --mode bind ref_ligand.mol2 5 protein.mol2
grep -Ev "#binding site definition"plantsconfig> temp_conf
grep -Ev "bindingsite_" temp_conf > temp_conf2
cat temp_conf2 bindingsite.def > plantsconfig
./PLANTS --mode screen plantsconfig
cd results/
more bestranking.csv
```

Jika *running* sudah selesai, pindahkan folder *result* ke *flashdisk*. Langkah yang sama dilakukan pada setiap protein untuk masing-masing senyawa uji.

d. Validasi Metode *Docking*

Jalankan YASARA. *Load* ref_ligand.mol2 dan *file* hasil *docking*. Simpan sebagai YASARA *scene*. Hapus atom *hydrogen*. Lakukan analisis nilai RMSD untuk tiap konformasi pada masing-masing protein. Nilai RMSD yang dapat diterima adalah kurang dari 2Å.

e. Visualisasi Hasil *Docking*

Buka aplikasi Pymol. *Load file* pdb. Klik A pada baris kedua>preset >ligands. Klik S pada menu bagian bawah. Klik S pada baris kedua>cartoon. Klik L pada baris kedua>residues.

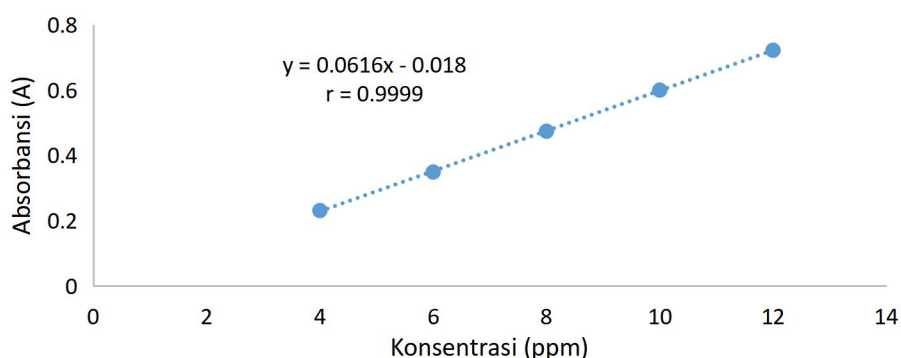
HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Ekstrak Daun Asam Jawa

Pembuatan ekstrak daun asam jawa dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar (Mukhrani, 2014). Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksan kemudian dimaserasi kembali menggunakan etanol 70%. Ekstraksi dengan pelarut n-heksan bertujuan untuk melarutkan klorofil yang terdapat pada daun asam jawa karena klorofil akan mengganggu pada saat pembacaan absorbansi. Pelarut n-heksan dipilih karena klorofil tidak dapat larut dalam air, tetapi dapat larut dalam berbagai jenis pelarut organik (Riyono, 2007), sehingga dapat diketahui bahwa klorofil bersifat non polar dan untuk melarutkan klorofil dipilih pelarut yang mempunyai sifat sama dengan klorofil. Nilai rendemen ekstrak daun asam jawa yang diperoleh adalah 13,67%.

Panjang gelombang maksimum merupakan panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal. Penetapan panjang gelombang maksimum diperlukan untuk meningkatkan kepekaan dan meminimalkan kesalahan pada saat dilakukan pengukuran ulang (Gandjar dan Rohman, 2007). Penentuan λ_{\max} dilakukan dengan menggunakan larutan standar Kuersetin konsentrasi 100 ppm yang diukur pada rentang panjang gelombang 200-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Pengukuran serapan dilakukan pada rentang tersebut karena sinar UV dan visibel memiliki panjang gelombang dengan rentang 200-800 nm. Hasil pembacaan absorbansi larutan standar Kuersetin menunjukkan nilai absorbansi yang semakin meningkat pada panjang gelombang 361,0-361,8 nm kemudian mengalami penurunan nilai absorbansi. Hasil pembacaan λ_{\max} larutan Kuersetin adalah pada panjang gelombang 361,8 nm merupakan λ_{\max} dari Kuersetin. Penelitian lain menunjukkan bahwa Kuersetin memiliki λ_{\max} sebesar 380 nm (Bancirova, 2015).

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan menggunakan larutan standar Kuersetin dengan seri konsentrasi 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, dan 12 ppm. Hasil absorbansi yang diperoleh dari masing-masing seri konsentrasi kemudian dibuat persamaan garis regresi linier yang dapat digunakan untuk menghitung kadar Kuersetin dalam ekstrak daun asam jawa. Hasil kurva baku Kuersetin ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva baku standar kuerstin pada panjang gelombang 361,8 nm.

Hasil kurva baku Kuersetin diperoleh nilai aksis intersep 0,0616 dan nilai slop -0,018, sehingga persamaan garis regresi linier yang diperoleh adalah $y = 0,0616x - 0,018$.

Penetapan kadar Kuersetin dilakukan dengan menggunakan larutan ekstrak daun asam jawa dengan konsentrasi 250 ppm. Pengujian dilakukan tiga kali dan dihitung rata-rata kadar Kuersetin dalam ekstrak daun asam jawa. Hasil pengukuran kadar ditunjukkan pada tabel I. Kadar Kuersetin dapat dihitung dengan cara mengolah data dari hasil pengukuran serapan dengan persamaan garis regresi linier.

Tabel I. Kadar Kuersetin dalam Ekstrak Daun Asam Jawa

Replikasi	Absorbansi (A)	Kadar Kuersetin (ppm)
1	0,467	7,873
2	0,460	7,760
3	0,452	7,630
4	0,470	7,922
5	0,468	7,890
	\bar{x}	7,815
	SD	0,120

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa kadar Kuersetin sebesar 7,815 ppm dalam 250 ppm ekstrak daun asam jawa, sehingga dapat diketahui bahwa dalam 1 gram ekstrak daun asam jawa terdapat 31,26 mg Kuersetin. Pengukuran kadar ini dapat berguna untuk menentukan banyaknya ekstrak daun asam jawa yang diperlukan dalam pembuatan obat dengan bahan alami, sehingga dapat tercapai efek farmakologi yang diinginkan.

2. Uji In Silico Kuersetin Terhadap Protein 1EQH, 3PGH dan 6COX

a. Docking Ligan Native

Aplikasi *Docking* yang digunakan adalah PLANTS. Untuk menjalankan program PLANTS didukung dengan program Virtual Oracle. Ada 3 ligan *native* yang akan dilakukan *docking*, yakni 1EQH, 3PGH, dan 6COX. *File* yang dibutuhkan dari protein dalam format file .yob, ligand.mol2, ligand_2D.mrv, protein.mol2, dan ref_ligand.mol2 kemudian *file* tambahan dari program PLANTS yakni PLANTS, PLANTS.exe, PLANTS64, dan plantsconfig. Masing-masing protein untuk tiap senyawa uji disimpan dalam 1 folder berbeda. Program *docking* dijalankan dalam sistem linux menggunakan aplikasi virtual oracle.

b. Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* pada penelitian ini dilakukan dengan men-*docking* ligan *native* pada tiap kelompok protein yang diunduh dari situs PDB. Untuk evaluasi validasi, parameter yang dilihat adalah RMSD dan pose secara visual (Moitessier *et al.*, 2008). RMSD merupakan pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang di-*docking*-kan atau yang diprediksi (Hawkins *et al.*, 2008). Nilai RMSD < 2,0 Å biasanya digunakan sebagai kriteria kesuksesan metode *docking* (Jain and Nicholls, 2008; Moitessier *et al.*, 2008). Semakin kecil nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native*. Akan tetapi, sebenarnya belum ada standar nilai RMSD yang digunakan sebagai parameter kesuksesan metode *docking*. Validasi RMSD dilakukan menggunakan aplikasi YASARA.

Validasi metode *docking* diawali dengan menggabungkan ref_ligand.mol2 dari masing-masing protein dan 1 konformasi hasil *docking ligand native* di aplikasi YASARA. Hasil validasi metode *Docking* protein dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Hasil Interpretasi Protein 1EQH *Native*

Protein	Nilai RMSD	Skor Docking
1EQH	1.7995 Å	-94.2519
3PGH	0.7373 Å	-89.2603
6COX	1.3373 Å	-77.3716

Dari ketiga validasi metode *docking* didapatkan hasil untuk protein 1EQH nilai RMSD 1,7995 Å dan skor *docking* -94,2519. Nilai RMSD protein 3PGH 0,7373 Å dengan skor *docking* -89,2603, sedangkan nilai RMSD protein 6COX 1,3373 Å dengan skor *docking* -77,3716. Dari hasil tersebut ketiga protein memiliki RMSD dibawah 2 Å, sehingga diketahui protokol *docking* yang digunakan sudah tervalidasi.

c. Docking Kuersetin

Docking PLANTS didasarkan pada kelas algoritma optimasi stokastik yang disebut koloni semut. Dalam kasus *docking* protein-ligan, sebuah koloni semut buatan digunakan untuk menemukan konformasi energi minimum ligan. Proses *docking* diawali dengan preparasi ligan uji, yaitu Kuersetin serta ligan pembanding yaitu Aspirin dengan perangkat lunak MarvinSketch *version* 5.2.5.1. Preparasi dilakukan dengan menggambarkan molekul ligan uji dan pembanding secara manual pada jendela MarvinSketch *version* 5.2.5.1, dilanjutkan dengan protonasi dan pencarian 10 konformasi yang optimal. Ligan yang telah dipreparasi kemudian di-*docking*-kan pada protein-protein yang telah divalidasi sebelumnya.

d. Docking Kuersetin Pada Protein 1EQH

Dalam uji *in silico* (*docking*) senyawa Kuersetin sebagai inhibitor enzim siklooksigenase-1 (COX-1), dipilih protein 1EQH yang merupakan kompleks enzim COX-1 dengan flurbiprofen. Sebagai senyawa pembanding digunakan Aspirin. Skor *docking* ligan *native*, ligan Kuersetin, maupun Aspirin dengan enzim COX-1 dapat dilihat pada tabel III.

Tabel III. Skor *docking* ligan *native*, Kuersetin dan Aspirin dengan enzim COX-1 (1EQH)

Konformasi	Ligan <i>Native</i>	Ligan Kuersetin	Ligan Aspirin
1	-94.2230	-77.6195	-68.8443
2	-94.0626	-75.7412	-68.0691
3	-94.2519	-77.1029	-68.1363
4	-93.8915	-75.7542	-68.1041
5	-93.8717	-75.0558	-66.8703
6	-93.4515	-76.6219	-68.6354
7	-94.1186	-77.1873	-68.9438
8	-93.7667	-75.8960	-68.9890
9	-93.6433	-75.1547	-69.8294
10	-93.2652	-76.9962	-69.8784

Keterangan:

Skor *Docking* paling *negative*

Dari hasil *docking* yang memprediksi interaksi senyawa Kuersetin dengan enzim COX-1 dari protein dengan kode PDB 1EQH, diketahui bahwa skor dari senyawa Kuersetin tersebut masih lebih tinggi bila dibandingkan dengan ligan *native*-nya, yaitu flurbiprofen. Hal ini dapat menunjukkan bahwa senyawa Kuersetin memiliki resiko ulserasi lambung yang lebih kecil dibandingkan dengan ligan *native*. Sedangkan apabila dibandingkan dengan senyawa pembandingnya (Aspirin), nilai *docking* Kuersetin lebih rendah, yang mengindikasikan bahwa resiko terjadinya ulserasi pada di lambung lebih besar daripada Aspirin. Kuersetin memiliki resiko ulserasi pada lambung yang lebih tinggi dibanding dengan Aspirin, akan tetapi memiliki resiko ulserasi lambung lebih rendah dibanding ligan *native*.

e. Docking Kuersetin Pada Protein 3PGH

Dalam uji *in silico* (*docking*) senyawa Kuersetin sebagai inhibitor enzim siklooksigenase-2, dipilih protein 3PGH dan 6COX. PDB dengan kode protein 3PGH merupakan kompleks enzim COX-2 dengan inhibitor non-selektif flurbiprofen. Skor *docking* ligan *native*, ligan Kuersetin, maupun Aspirin dengan protein 3PGH dapat dilihat pada Tabel IV.

Dari hasil *docking* yang memprediksi interaksi senyawa Kuersetin dengan enzim COX-2 dari protein dengan kode PDB 3PGH, terlihat bahwa Kuersetin memiliki skor lebih tinggi dibandingkan ligan *native* (FLP). Hal ini menunjukkan bahwa kompleks antara protein dengan ligan Kuersetin tersebut kurang stabil dibandingkan dengan kompleks protein-ligan *native*. Apabila dibanding dengan ligan Aspirin, skor *docking* Kuersetin masih lebih rendah, yang mengindikasikan bahwa kompleks protein dengan Kuersetin lebih stabil

(kuat) dibandingkan dengan kompleks protein dengan senyawa pembanding. Hal ini menunjukkan bahwa Kuersetin memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen antiinflamasi yang cukup poten

Tabel IV. Skor *docking* ligan *native*, Kuersetin dan Aspirin dengan enzim COX-2 (3PGH)

Konformasi	Ligan <i>Native</i>	Ligan Kuersetin	Ligan Aspirin
1	-86.0840	-74.4021	-74.6603
2	-87.1203	-74.1186	-74.4135
3	-88.7605	-74.0972	-74.4977
4	-880.166	-74.3194	-74.4139
5	-84.9740	-73.5509	-72.6775
6	-85.6957	-73.5838	-74.6947
7	-88.7822	-73.8408	-74.8789
8	-89.2603	-75.1344	-74.9694
9	-85.0529	-74.4428	-75.2026
10	-85.3141	-73.5281	-75.2421

Keterangan:

Skor *Docking* paling *negative*

f. *Docking* Kuersetin Pada Protein 6COX

Dalam uji *in silico* (*docking*) senyawa Kuersetin sebagai inhibitor enzim siklooksigenase-2, dipilih protein 3PGH dan 6COX. PDB dengan kode protein 6COX merupakan kompleks enzim COX-2 dengan inhibitor selektif SC-58. Skor *docking* ligan *native*, ligan Kuersetin, maupun Aspirin dengan protein 6COX dapat dilihat pada Tabel V.

Tabel V. Skor *docking* ligan *native*, Kuersetin dan Aspirin dengan enzim COX-2 (6COX)

Konformasi	Ligan <i>Native</i>	Ligan Kuersetin	Ligan Aspirin
1	-77.1290	-81.9582	-71.2181
2	-77.3407	-81.2034	-71.2000
3	-77.3716	-81.9501	-71.4044
4	-76.7638	-82.0974	-71.3801
5	-76.7626	-81.4018	-69.1637
6	-76.8138	-81.8134	-71.3633
7	-77.1658	-82.1551	-72.0382
8	-76.8783	-81.6031	-72.0884
9	-77.2992	-81.5528	-72.0645
10	-76.8393	-81.2454	-72.0795

Keterangan:

Skor *Docking* paling *negative*

Dari hasil *docking* yang memprediksikan interaksi senyawa Kuersetin dengan protein 6COX, terlihat bahwa Kuersetin memiliki skor yang lebih rendah dibandingkan dengan ligan *native* (S58) dan ligan pembanding (Aspirin). Hal ini menunjukkan bahwa kompleks protein dengan ligan uji lebih stabil dibandingkan dengan kompleks protein ligan *native*. Dari hasil skoring *docking* Kuersetin sangat poten untuk dikembangkan sebagai agen antiinflamasi.

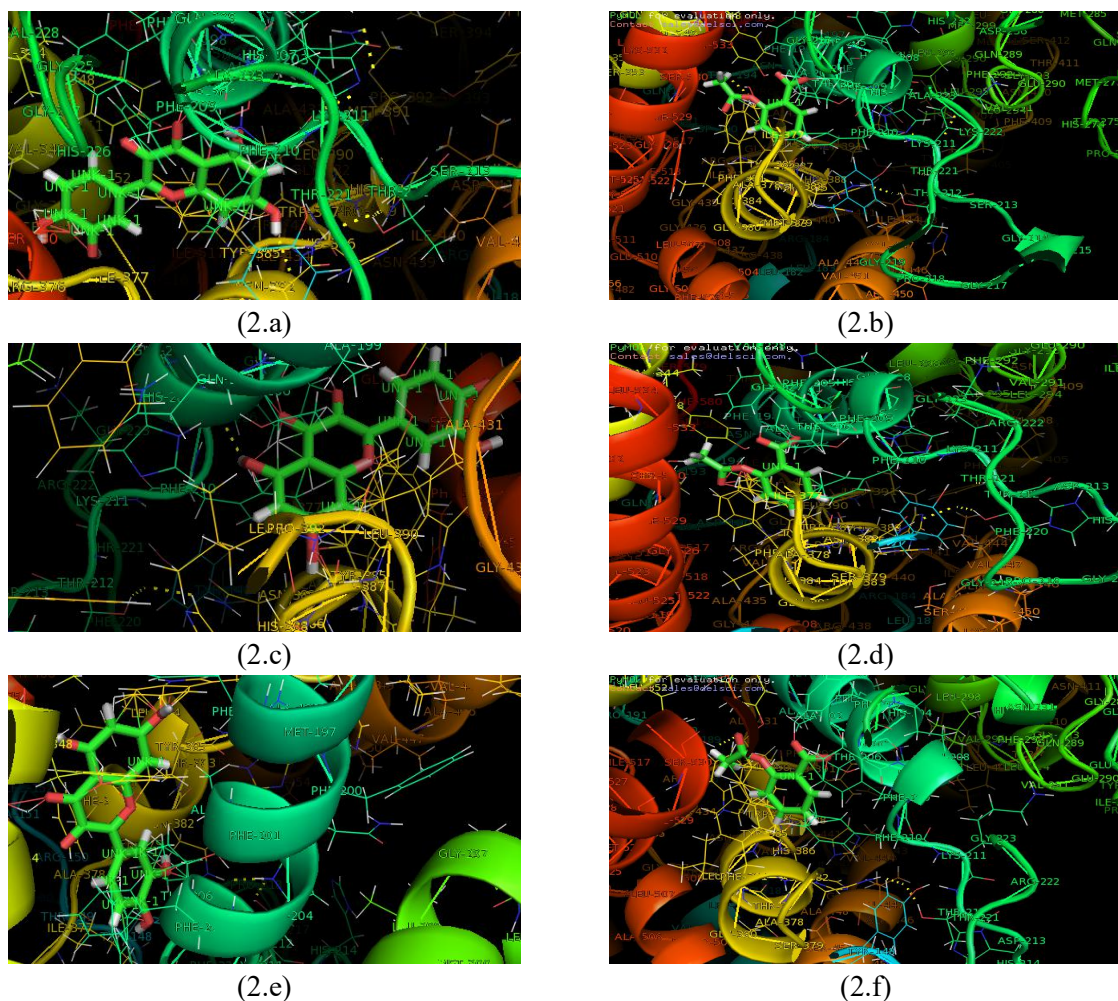
Tabel VI. Hasil Skor *Docking* Kuesetin Pada Protein 1EQH, 3PGH dan 6COX

Senyawa	1EQH	3PGH	6COX
<i>Native</i>	-94.2519	-89.2603	-77.3716
Aspirin	-69.8784	-75.2421	-72.0884
Kuersetin	-77.6195	-75.1344	-82.2454

Berdasarkan hasil skoring *docking* pada tabel VI diketahui kalau Kuersetin memiliki potensi sebagai antiinflamasi yang lebih baik dibandingkan dengan Aspirin. Akan tetapi Kuersetin memiliki resiko lebih tinggi menyebabkan ulkus lambung daripada Aspirin.

g. Visualisasi Hasil *Docking* Kuersetin

Visualisasi hasil *docking* dilakukan untuk melihat interaksi ligan Kuersetin dengan protein target secara 3D dan melihat residu asam amino yang terikat pada ligan Kuersetin. Visualisasi hasil *docking* menggunakan Pymol. Hasil visualisasi antara Kuersetin dengan protein 1EQH terlihat bahwa senyawa Kuersetin dapat berinteraksi dengan asam amino PHE 209, PHE 210, THR 206, TYR 385, dan SER 530. Visualisasi Kuersetin dengan protein 3PGH terlihat bahwa Kuersetin berinteraksi dengan asam amino PHE 209, PHE 210, THR 206, TYR 385, dan SER 530. Sedikit berbeda dengan hasil visualisasi Kuersetin dengan protein 6COX terlihat bahwa senyawa Kuersetin dapat berinteraksi dengan asam amino PHE 209, PHE 210, SER 530, TYR 385, dan TRP 387. Posisi interkasi antara ligan dan asam-asam amino pada protein target dapat menggambarkan perkiraan *site* ligan pada protein target dibandingkan dengan pembanding. Adapun perbandingan interksi antara Kuersetin dan Aspirin dapat dilihat pada Gambar 2; Tabel VII.



Gambar 2. Visualisasi Kuersetin terhadap protein 1EQH (2.a), Aspirin terhadap protein 1EQH (2.b), Kuersetin terhadap protein 3PGH (2.c), Aspirin terhadap protein 3PGH (2.d), Kuersetin terhadap protein 6COX (2.e) dan Aspirin terhadap protein 6COX (2.f).

Dari hasil visualisasi pada Tabel VII menunjukkan bahwa pada protein 1EQH memiliki kesamaan asam amino yang terikat pada ligan Aspirin dan ligan Kuersetin yakni THR 206, PHE 209, PHE 210, dan TYR 385 sehingga 1EQH memiliki resiko terjadinya ulkus lambung. Protein 3PGH memiliki kesamaan asam amino yang terikat pada ligan Aspirin dan ligan Kuersetin yakni THR 206, TYR 385, PHE 209, dan PHE 210. Sedangkan protein 6COX memiliki kesamaan asam amino yang terikat pada ligan Aspirin dan ligan

Kuersetin yakni PHE 209, PHE 210 dan TYR 385 sehingga ligan Kuersetin dapat dikembangkan sebagai agen anti-inflamasi berbasis bahan alam.

Tabel VII. Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino Pada Protein 1EQH, 3PGH dan 6COX

Protein	1EQH		3PGH		6COX	
Ligan	Aspirin	Kuersetin	Aspirin	Kuersetin	Aspirin	Kuersetin
Asam	PHE 209	PHE 209	THR 206	PHE 209	PHE 209	PHE 209
Amino	THR 206	THR 206	PHE 209	PHE 210	PHE 210	PHE 210
	PHE 210	PHE 210	PHE 210	THR 206	TYR 385	SER 530
	TYR 385	TYR 385	TYR 385	TYR 385	PHE 205	TYR 385
		SER 530		SER 530		TRP 387

Keterangan:

PHE : Phenylalanine SER: Serin THR: Threonine LEU: Leukin TYR: Tyrosin TRP: Tryptophan

KESIMPULAN

Kadar Kuersetin yang diperoleh dalam ekstrak dalam daun asam jawa sebesar 31,26 mg/g. Kuersetin memiliki efektivitas yang lebih poten dibandingkan dengan Aspirin, namun memiliki resiko lebih tinggi menyebabkan ulkus lambung daripada Aspirin secara *in silico*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula Tahun 2019.

DAFTAR PUSTAKA

- Bancirova, M. 2015 Changes of the Quercetin Absorption Spectra in Dependence on Solvent. *Chemistry Journal*, 1(2):31-34.
- Dorland, 2002. *Kamus Kedokteran*. EGC, Jakarta.
- Doughari, J.H., 2006. Antimicrobial activity of Tamarindus indica Linn. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(2), pp.597-603.
- Fahey, J.W., Stephenson, K.K. 2002. Kuersetin from Honey and Thai Ginger (Boesenbergia pandurata): A Potent Flavonoid Inducer of Mammalian Phase 2 Chemoprotective and Antioxidant Enzymes. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7472–7476. <https://doi.org/10.1021/jf025692k>.
- Hawkins PC, Warren GL, Skillman AG, Nicholls A. 2008. How to do an evaluation: pitfalls and traps. *J Comput Aided Mol*, 22(3–4):179–190.
- Gandjar, I.G., Rohman A.. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Jain, A.N., Nicholls, A. 2008. Recommendations for evaluation of computational methods. *J. Comput. Aided Mol*, 22:133–139.
- Katzung, B.G., Masters, S.B. and Trevor, A.J., 2004. *Basic and Clinical Pharmacology*. ; 2004. *International Edition*, 9.
- Moitessier, N., Englebienne, P., Lee, D., Lawandi, J. and Corbeil, A.C., 2008. Towards the development of universal, fast and highly accurate docking/scoring methods: a long way to go. *British journal of pharmacology*, 153(S1), pp.S7-S26.
- Mukhriani. 2014 Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Riyono S.H. 2007. Beberapa Sifat Umum dari Klorofil Fitoplankton. *Oseana*, 32(1):24.
- Sing, G., Triadafilopoulos, G., 2009. *Appropriate choice of proton inhibitor therapy in the prevention and management of NSAID-related gastrointestinal damage 1*, 1210–7.
- Utami. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat: 431 Jenis Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*.