

Molecular Docking Metabolit Sekunder Buah Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume) sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis: Pendekatan In-Silico

Achmad Vandian Nur^{1*}, Slamet¹, Innas Iffat Rizqi¹, Salma Fi Salsabila¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah
Pekajangan
Email : avnomad@gmail.com

Korespondensi:

Achmad Vandian Nur

Universitas Muhammadiyah Pekajangan
avnomad@gmail.com

Abstrak

Kanker Aterosklerosis digambarkan sebagai reaksi inflamasi kronis dari dinding pembuluh darah sebagai respons terhadap dislipidemia bersama dengan gangguan endotel termasuk penarikan leukosit dengan aktivasi sel vaskular lokal. Gangguan endotel merangsang produksi sitokin proinflamasi dimediasi oleh NF- κ B sehingga mendukung terbentuknya plak atheroma. Nuclear Factor Kappa B (NF- κ B) adalah jalur pensinyalan utama yang terlibat secara ekstensif dalam pertumbuhan dan metastasis kanker serta dapat mengatur proses inflamasi. NF- κ B dapat digunakan sebagai metode untuk menentukan sifat antiinflamasi suatu senyawa. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan senyawa metabolit sekunder dari buah Buasbuas yang memiliki energi ikatan terbaik untuk antiinflamasi pada aterosklerosis. Berdasarkan hasil analisis dengan Autodocktools Vina, Flavonol dalam buasbuas memiliki aktivitas dalam memperlambat kejadian inflamasi yaitu myricetin dengan nilai energi ikatan Gibbs mendekati kontrol positif doksorubicin.

Kata Kunci: *antiinflamasi; buas-buas; in-silico; NF- κ B*

Molecular Docking of Secondary Metabolites of Buasbuas (*Premna pubescens* Blume) as Anti-Inflammatory in Atherosclerosis: in-Silico Approach

Abstract

Cancer Atherosclerosis is described as a chronic inflammatory reaction of the vessel wall in response to dyslipidemia along with endothelial disturbances including leukocyte withdrawal with local vascular cell activation. Endothelial disruption stimulates the production of proinflammatory cytokines mediated by NF- thus favoring the formation of atheromatous plaques. Nuclear Factor Kappa B (NF-B) is a major signaling pathway that is extensively involved in cancer growth and metastasis and can regulate the inflammatory process. NF- κ B can be used as a method to determine the anti-inflammatory properties of a compound. The purpose of this study was to determine which secondary metabolites

from Buasbuas fruit had the best binding energy for anti-inflammation in atherosclerosis. Based on the results of the analysis with Autodocktools Vina, the flavonols in sagas have activity in slowing down inflammatory events, namely myricetin with a Gibbs binding energy value close to the positive control of doxorubicin.

Keyword: *anti-inflammatory; buas-buas; in-silico; NF-κB*

Received: 09 November 2022

Accepted: 29 Desember 2022

PENDAHULUAN

Aterosklerosis adalah suatu perubahan yang ditandai dengan adanya penebalan dinding pembuluh arteri karena adanya penumpukan kolestrol ditunika intima pembuluh darah¹. Kanker adalah penyebab utama kematian kedua di Amerika Serikat, dengan lebih dari setengah juta orang Amerika meninggal karena penyakit ini setiap tahun. Telah dikemukakan bahwa aterosklerosis dan kanker berkembang serupa dari proliferasi klonal sel yang berubah di lokasi cedera jaringan lokal. inflamasi, dan ketidakstabilan genomik². Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah Buah Buasbuas (*Premna pubescens* Blume). Beberapa senyawa metabolit sekunder yang diketahui bersifat aktif pada ekstrak etanol daun buasbuas. Seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, dan triterpenoid dengan uji fitokimia³.

Metastasis merupakan kondisi yang menandakan kanker stadium terminal(4). Kemoterapi merupakan first line therapy kanker stadium terminal disamping radiasi. Namun, penggunaan kemoterapi jangka panjang menimbulkan resistensi dan terbukti memperparah kondisi metastasis⁵. Maka penting untuk melakukan eksplorasi senyawa alam yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan kanker dan meminimalkan efek samping. Penanganan kanker semakin luas dengan model in-silico yang menggunakan struktur kristal gen pengatur jalur pensinyalan masih menantang untuk menemukan kandidat yang lebih tepat secara efektif dengan efek merugikan yang minimal.

Salah satu tumbuhan obat yang ada di Indonesia salah satunya ialah Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume). Tumbuhan ini memiliki khasiat sebagai obat namun belum banyak masyarakat yang mengenal tanaman ini. Tumbuhan Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume) yang merupakan sinonim nama dari tanaman *Premna obtusifolia*, *Premna integrifolia* L, *Premna corymbosa* R, dan *Premna cordifolia* L merupakan jenis tanaman yang sering digunakan masyarakat melayu sebagai sayuran yang dimasukkan dalam campuran bubur pedas yang menjadi makanan khas pada bulan puasa, juga sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti masuk angin, menghilangkan bau napas yang tidak sedap, mengatasi infeksi cacingan, memperbanyak air susu ibu (ASI)⁶. Khasiat tanaman buasbuas sampai saat ini belum banyak diketahui oleh masyarakat. Pemanfaatan tanaman ini masih terbatas hanya pada masyarakat Melayu yang biasa menjadikannya sebagai lalapan atau dicampurkan dalam masakan, namun demikian buasbuas telah diyakini mampu membuat tubuh

awet muda dan berkhasiat obat⁷. Serta dapat menyegarkan tubuh wanita yang habis melahirkan dengan cara mencampurkan rebusan daun, akar, kulit, dan batangnya kedalam air mandian wanita⁸.

Salah satu senyawa yang terkandung dalam tanaman buasbuas adalah golongan flavonol, golongan flavonol memiliki sifat dalam antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai antikanker⁹. Menurut penelitian¹⁰, beberapa golongan flavonol yang terdapat dalam tanaman buah buasbuas adalah Myricetin, kaempferol, quercetin, luteolin dan apigenin. Salah satu protein yang terlibat dalam gangguan apoptosis adalah jalur aktivasi nuclear factor-kappa B (NFkB). NFkB merupakan famili faktor transkripsi dengan spektrum kerja yang luas, antara lain menginduksi pertahanan sel, proliferasi serta berperan dalam regulasi sistem imun dan respons inflamasi. Aktivasi NFkB pada sel normal akan mengaktifkan beberapa gen yang terlibat dalam supresi kematian sel melalui jalur mitokondria maupun reseptor kematian. NFkB menginduksi ekspresi inhibitors of apoptosis (IAPs) dan beberapa anggota famili anti-apoptosis Bcl- 2. NFkB juga dapat melakukan interferensi terhadap aktivitas transkripsional p53 melalui peningkatan gen antiapoptosis dan penekanan p53 sehingga menghambat proses apoptosis yang diinduksi oleh p53¹¹. Selain itu, NFkB mempromosikan progresi siklus sel melalui pengaturan gen yang terlibat dalam siklus sel seperti cyclin D1, D2, D3 dan cyclin E, c-myc dan c-mycb. NFkB diduga berhubungan pula dengan aktivitas pRb melalui cyclin D1^{12,13}. Mekanisme anti-apoptosis NFkB menimbulkan konsep umum bahwa aktivasi NF-kB berperan terhadap resistensi apoptosis.

Molecular docking dengan metode *in silico* merupakan kunci dalam biologi molekular dan metode desain obat yang menggunakan bantuan komputer. Docking dapat digunakan untuk melakukan skrining virtual pada database senyawa yang besar, peringkat hasil dan mengusulkan hipotesis struktural bagaimana ligan menghambat target, yang sangat penting dalam optimasi utama¹⁴. Metode *in silico* memiliki kelebihan yaitu lebih murah dan lebih cepat untuk menghasilkan hasil. Upaya besar telah difokuskan pada pengembangan pendekatan komputasi untuk penelitian sains seperti prediksi toksisitas. Salah satu metode *in silico* yang banyak digunakan adalah *molecular docking*, ini adalah metode komputasi yang digunakan untuk memprediksi interaksi dua molekul menghasilkan model yang mengikat. Dalam banyak aplikasi penemuan obat, docking dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul, misalnya docking protein-ligan. Saat ini, docking juga diterapkan untuk memprediksi mode pengikatan antara dua makromolekul, misalnya docking protein dengan protein¹⁵. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan senyawa metabolit sekunder dari buah Buasbuas yang memiliki energi ikatan terbaik untuj antiinflamasi pada ateroklesrosis.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah computer dengan sistem operasi adalah *Windows 10*, processor intel core i3 10th Gen, dengan ram 8 GB. Program yang digunakan adalah autodocktools 1.4.2 sebagai persiapan/prepasi makromolekul dan

ligan. Pymol digunakan untuk sebagai program viewer hasil dan untuk kalkulasi menggunakan program Vina

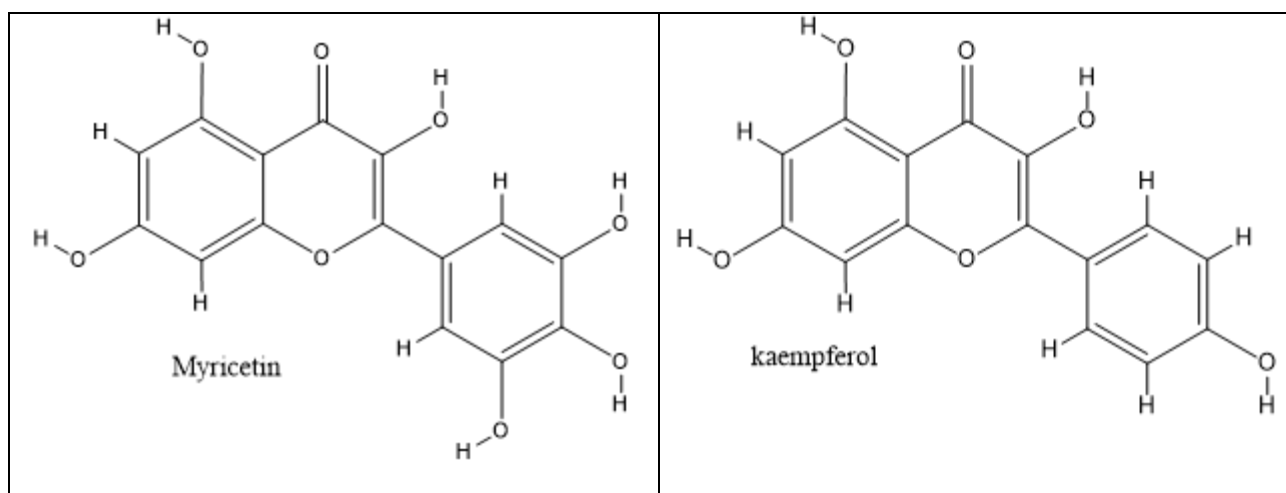
Bahan penelitian yang digunakan adalah ligan-ligan dan makromolekul, makromolekul yang digunakan untuk docking didapatkan dari *PubChem*. Model NF- κB menggunakan Kristal yaitu PDB ID 4IDV. Ligan-ligan yang digunakan juga diperoleh dari *Pubchem* dan dipilih berdasarkan penelitian terdahulu .

Rancangan Penelitian

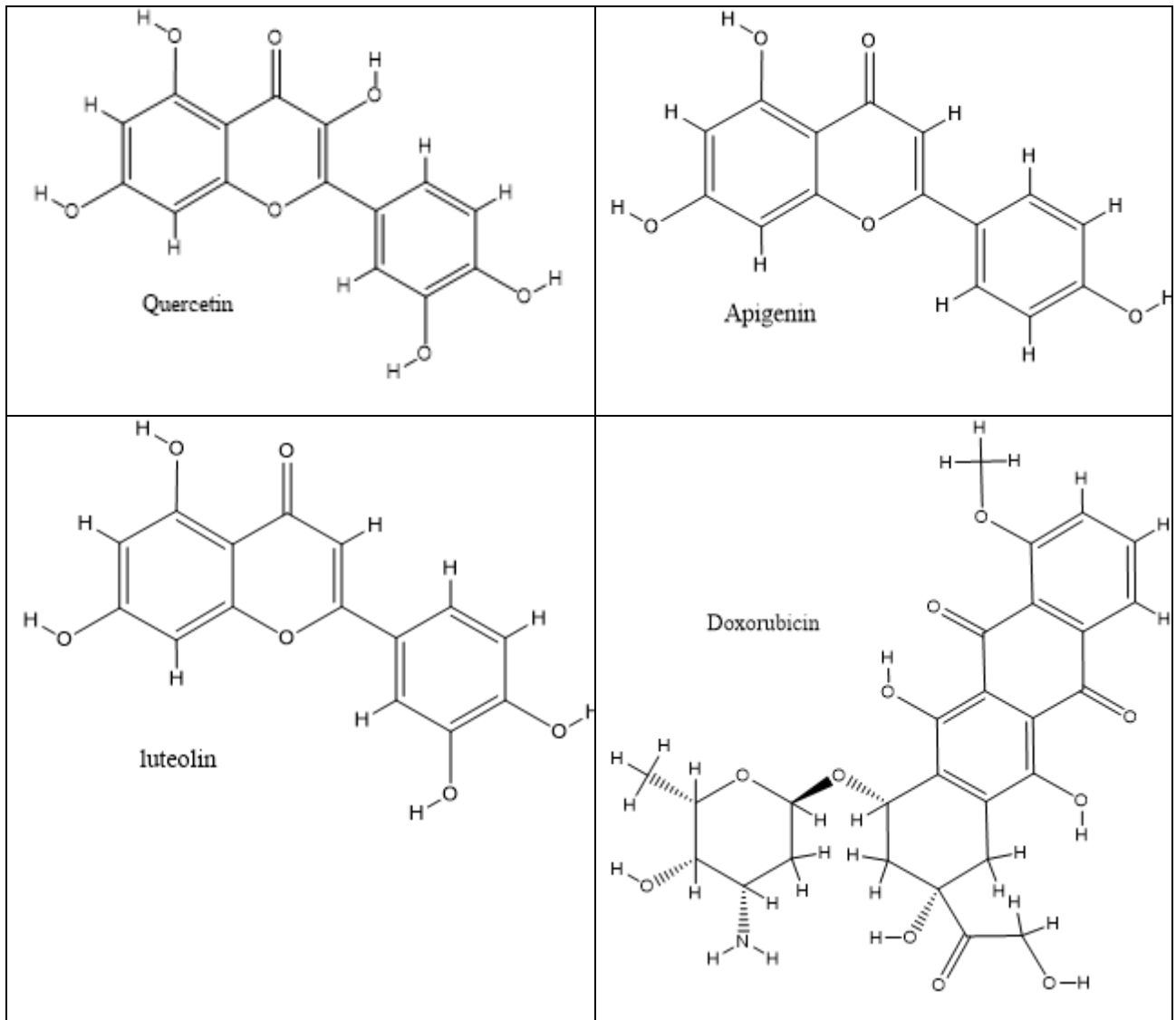
1. Tahapan I, penelitian dilakukan proses mengunduh data makromolekul kristal dan ligan dari website *pubchem*
2. Tahapan II, penelitian dilakukan proses preparasi terhadap makromolekul dan ligan, diantaranya diubah menjadi *pdbqt* dan juga untuk menentukan *gridbox* yang digunakan
3. Tahap III, penelitian dilakukan proses docking dengan menggunakan program *Vina* dan didapatkan nilai energi gibbs, energi Gibbs ini yang nanti akan digunakan untuk menghitung afinitas senyawa terhadap kristal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, digunakan senyawa-senyawa flavonol yang terkandung dalam tanaman buasbuas, dan diteliti bagaimana potensi senyawa-senyawa metabolit tersebut untuk potensinya terhadap antiinflamasi ateroklerosis. Sumber-sumber senyawa ini didapatkan dari website *pubchem* dengan pemilihan senyawa dari penelitian¹⁰. Terdapat 6 senyawa yang digunakan yang berasal dari buasbuas (Myricetin, kaempferol, quercetin, luteolin dan apigenin) dan senyawa doksorubisin digunakan sebagai pembanding.



Gambar 1. Senyawa flavonol: myicentin, kaempferol (gambar disadur dari website *pubchem*)



Gambar 2. Senyawa flavonol: quercetin, apigenin, luteolin (gambar disadur dari *website pubchem*)

Persiapan protein NF- κ B dikerjakan melalui pemisahan native ligan sehingga ligan yang telah dipisahkan, ruang yang tersisa akan digunakan sebagai molecular docking senyawa-senyawa yang akan digunakan. Persiapan selanjutnya yaitu dengan menghilangkan air yang berada pada protein untuk tidak mengubah perhitungan pada saat docking sehingga hanya ligan yang akan berinteraksi dengan protein¹⁶. Setelah dipersiapkan di *autodock tools* maka *file* protein yang sudah jadi akan digunakan dalam bentuk *file* *pdb*.

Adapun, metode validasi digunakan untuk memvalidasi apakah docking yang akan dihasilkan akan sesuai dengan yang diharapkan tanpa adanya kesalahan. Docking menggunakan Vina. Hasil validasi didapatkan pada Tabel 1.

Tabel I. Hasil Validasi Metode Molecular Docking

Ligan	Energi ikatan (kcal/mol)	RSMD (Å)
Native ligand	-9.4	0.994

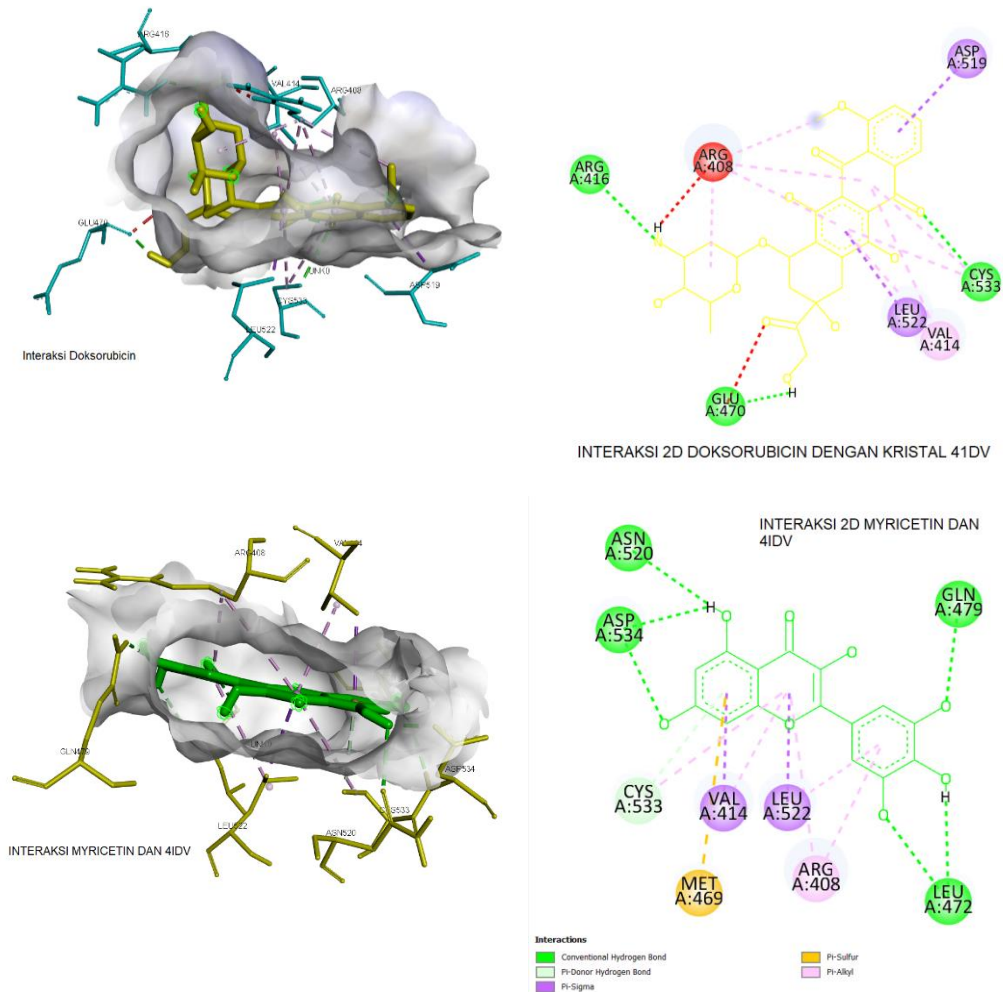
Validitas metode akan ditinjau dalam nilai RSMD (Root mean square Deviation) dan merupakan nilai penyimpangan dari posisi ikatan native ligand dengan protein setelah di-docking-kan terhadap posisi ikatan native ligand yang sebenarnya¹⁷. Menurut Jain and Nicholls, 2008. Hasil redocking telah memenuhi parameter validasi karena nilai RSMD memiliki nilai ≤ 3 Å sehingga metode dikatakan valid dan mendekati konformasi yang sebenarnya. Semakin negatif nilai RSMD menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi native ligand¹⁸. Hasil validasi yang didapatkan nilai RMSD ≤ 3 Å sehingga metode dinyatakan valid. Hasil dari metode ini adalah pengaturan grid box. Grid box merupakan koordinat ruang tempat senyawa uji dan protein berikatan dapat digunakan pada proses docking senyawa uji metabolit sekunder *Premna Pubescens* dengan protein target.

Tabel II. Data hasil docking ligan dengan protein NF-kB

Ligan	Energi Gibbs (kcal/mol)	RSMD
Doksorubisin	-7.1	1.032
Myricetin	-9.4	1.533
Kaempferol	-8.7	1.530
Quercetin	-8.8	1.465
Luteolin	-9.3	2.733
Apigenin	-9.3	2.729

Docking senyawa dilakukan pada sisi aktif protein NF-kB yang diperoleh dari pubchem. Hasil docking akan menghasilkan data berupa energi ikatan dan visualisasi interaksi pada jumlah konformasi yang diinginkan. Nilai energi ikatan jika makin negatif maka akan lebih stabil dan kuat dan afinitasnya terbentuk¹⁹. Nilai tertinggi didapatkan oleh doksorubisin karena Doxorubicin merupakan obat kemoterapi yang digunakan untuk berbagai macam jenis kanker seperti leukemia akut, kanker payudara, kanker tulang dan ovarium²⁰, karena itulah doksorubisin digunakan sebagai pembanding penghambat reseptor. Kelemahan dari Doksorubisin adalah produksi oksidan yang sangat berbahaya bagi jantung²¹.

Nilai tertinggi selanjutnya adalah untuk myricetin. Dengan nilai sekitar -9,4 kkal/mol. Penelitian²² menunjukkan bahwa myricetin dapat menjadi agen kemopreventif dan agen terapi untuk sel kanker prostat. Myricetin juga dapat mengeluarkan kemampuan selektif sitotoksisi, pro apoptosis dan anti metastasis dengan menghambat PIM1 (*The proviral integration site for Moloney murine leukemia virus-1* (PIM1)).



Gambar 2. Interaksi 3D dan 2D Doxorubicin dan Myrecetin terhadap kristal 41DV

Berdasarkan hasil dari *Computed Atlas of Surface Topography of proteins* menunjukkan sisi aktif makromolekul dari kristal 41DV ada beberapa asam amino residu yaitu leusin, arginin, valin, sistein asparagin, dan arginin dengan berbagai kodenya. Untuk ikatan yang terjaditerdapat ikatan hydrogen, ikatan pi-donor dan pi-sigma.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder dari buah buas-buas terutama yang memiliki senyawa flavonol berpotensi di kembangkan sebagai agen antiinflama pada aterosklerosis alami dengan mempengaruhi proliferasi sel melalui interaksi dengan NF- κ B.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Pekajangan Pekalongan yang telah memberikan sumber dana penelitian internal untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nisa Berawi K, Agverianti T. Efek Aktivitas Fisik pada Proses Pembentukan Radikal Bebas sebagai Faktor Risiko Aterosklerosis. *Majority*. 2017;6(2):85–9.
2. Ross JS, Stagliano NE, Donovan MJ, Breitbart RE, Ginsburg GS. Pathology Patterns Reviews Atherosclerosis A Cancer of the Blood Vessels? Vol. 116, *Am J Clin Pathol*. 2001.
3. Nasution RL, Diningrat DS. Inventarisasi Senyawa Antiinflamasi Pada Tumbuhan Buasbuas (*Premna Pubescens* Blume) Dengan Metode Gas Chromatography-Mass Spektrometri Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Sel Molekuler Universitas Negeri Medan (UNIMED) yaitu pembuatan eks. *Jurnal Kalwedo Sains (KASA)*. 2020;1(2722–6964):50–6.
4. Gupta GP, Massagué J. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell*. 2006;127(4):679–95.
5. Amalina N, Nurhayati IP, Meiyanto E. Doxorubicin Induces Lamellipodia Formation and Cell Migration. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. 2017;8(2):61.
6. Nekada CDY, Amestiasih T, Widayati RW. Manfaat Edukasi Penanganan Keracunan dan Gigitan Binatang Beracun. *Jurnal Formil (Forum Ilmiah) KesMas Respati*. 2020;5(2):119–28.
7. Diningrat DS, Restuati M, Kusdianti K, Sari AN, Marwani E. Analisis Ekstrak Etanol Tangkai Daun Buasbuas (*Premna pubescens*) Menggunakan Gas Chromatography Mass Spectrophotometer (GCMS). *Elkawnie*. 2018;4(1):1–12.
8. Marbun EMA, Restuati M. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna pubescens* Blume) Sebagai Antiinflamasi Pada Edema Kaki Tikus Putih (*Rattus novergicus*). *Jurnal Biosains*. 2016;1(3):107.
9. Rokim M, Zamri A, Yuda Teruna H. Sintesis, Uji Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Senyawa 3',4'-dimethoxy flavonol. *J Mater Process Technol [Internet]*. 2018;1(1):1–8.
10. Gates MA, Vitonis AF, Tworoger SS. Flavonoid intake and ovarian cancer risk in a population-based case-control study. *Int J Cancer [Internet]*. 2009;124(8):1918–25.
11. Ratnasari AA, Winarto H, Purbadi S, Sekarutami SM, Sutrisna B. Hubungan Ekspresi NFκB dengan Respons Radiasi Kanker Serviks Stadium Lokal Lanjut. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2016;4(1).
12. Dolcet X, Llobet D, Pallares J, Matias-Guiu X. NF-κB in development and progression of human cancer. *Virchows Archiv*. 2005;446(5):475–82.
13. Takebayashi T, Higashi H, Sudo H, Ozawa H, Suzuki E, Shirado O, et al. NF-κB-dependent induction of cyclin D1 by retinoblastoma protein (pRB) family proteins and tumor-derived pRB mutants. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(17):14897–905.
14. Aziz FK, Nukitasari C, Oktavianingrum FA, Aryati LW, Santoso B. Hasil In Silico Senyawa Z12501572, Z00321025, SCB5631028 dan SCB13970547 dibandingkan Turunan Zerumbon terhadap Human Liver Glycogen Phosphorylase (1I5Q) sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kimia VALENSI*. 2016 Dec 1;0(0).
15. Prieto-Martínez FD, Arciniega M, Medina-Franco JL. Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 2018 May 4;21.

16. Tjahjono DH, Hamzah N. Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas, Fitur Farmakofor, dan Docking Molekuler Senyawa Turunan Pirazolo-[3,4-d]-pirimidin sebagai Inhibitor Mer Tirosin Kinase. *Acta Pharmaceutica Indonesia*. 2013;38(1):1–10.
17. Lestari T. Studi Interaksi Senyawa Turunan 1 , 3-Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2015;7(3):163–9.
18. Agistia DD, Purnomo H, Tegar M, Nugroho AE. Interaksi Senyawa Aktif Dari *Aegle marmelos* Correa Sebagai Anti Inflamasi Dengan Reseptor COX-1 Dan COX-2. *Traditional Medicine*. 2013;18(2):80–7.
19. Laksmiani NPL, Vidya Paramita NLP, Wirasuta IMAG. In vitro and in silico antioxidant activity of purified fractions from purple sweet potato ethanolic extract. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2016;8(8):177–81.
20. Sebayang ANO. Efek Kardiotoksik Obat Kemoterapi Doxorubicin. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kedokteran Indonesia*. 2021;7(1):1–5.
21. Childs AC, Phaneuf SL, Dirks AJ, Phillips T, Leeuwenburgh C. Doxorubicin treatment in vivo causes cytochrome c release and cardiomyocyte apoptosis, as well as increased mitochondrial efficiency, superoxide dismutase activity, and Bcl-2:Bax ratio. *Cancer Res*. 2002;62(16):4592–8.
22. Ye C, Zhang C, Huang H, Yang B, Xiao G, Kong D, et al. The Natural Compound Myricetin Effectively Represses the Malignant Progression of Prostate Cancer by Inhibiting PIM1 and Disrupting the PIM1/CXCR4 Interaction. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2018;48(3):1230–44.