

## Penambatan Molekuler Senyawa Ekstrak Etanol Daun Jawer Kotok (*Coleus atropurpureus* L. Benth) sebagai Antagonis Reseptor COX-2

### *Molecular Docking of Ethanol Extract Compounds of Jawer Kotok Leaves (Coleus atropurpureus L. Benth) as COX-2 Receptor Antagonists*

F.X. Haryanto Susanto<sup>1\*</sup>, Siti Zamilatul Azkiyah<sup>2</sup>, Dara Loviana Subagyo<sup>1</sup>,

Michael Resta Surya Yanuar<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitas Ma Chung

<sup>2</sup>Universitas Ibrahimy

Email: haryanto.susanto@machung.ac.id

#### ABSTRAK

Daun jawer kotok (*Coleus atropurpureus* L. Benth) diketahui memiliki potensi sebagai penghambat enzim siklooksigenase (COX) yang berperan pada peradangan. Peradangan sendiri sebagai respon alami tubuh jika berlangsung kronis dapat berperan dalam munculnya penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas senyawa hasil uji LC-MS/MS ekstrak etanol daun jawer kotok yaitu betaine dalam menghambat COX-2. Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi untuk memperoleh rendemen ekstrak yang kemudian diuji LC-MS/MS untuk mengetahui senyawa apa saja yang terkandung didalamnya. Analisis *in silico* melalui molecular docking menunjukkan bahwa betaine memiliki nilai binding affinity sebesar -3,9, sedangkan ligan natif sebesar -11,2, yang menunjukkan bahwa afinitas interaksi betaine lebih rendah dibandingkan ligan natif. Dengan demikian, ekstrak etanol daun jawer kotok memiliki potensi sebagai sumber antioksidan alami, meskipun interaksi betaine dalam molecular docking masih lebih rendah dibandingkan ligan natif.

**Kata Kunci:** *Coleus atropurpureus* L. Benth, COX-2, Penambatan Molekuler

#### ABSTRACT

Jawer kotok leaves (*Coleus atropurpureus* L. Benth) are known to have the potential as inhibitors of the cyclooxygenase (COX) enzyme which plays a role in inflammation. Inflammation itself as a natural response of the body if it is chronic can play a role in the emergence of degenerative diseases. This study aims to evaluate the activity of compounds from the LC-MS/MS test of ethanol extract of jawer kotok leaves, namely betaine, in inhibiting COX-2. Extraction was carried out using the maceration method to obtain the extract yield which was then tested by LC-MS/MS to determine what compounds were contained in it. *In silico* analysis through molecular docking showed that betaine had a binding affinity value of -3.9, while the native ligand was -11.2, which indicated that the affinity of betaine interaction was lower than the native ligand. Thus, the ethanol extract of jawer kotok leaves has the potential as a source of natural antioxidants, although the interaction of betaine in molecular docking is still lower than the native ligand.

**Keywords:** *Coleus atropurpureus* L. Benth, COX-2, Molecular Docking

#### PENDAHULUAN

Peradangan merupakan respons biologis tubuh terhadap cedera atau

infeksi, namun jika berlangsung kronis, dapat memicu berbagai penyakit degeneratif seperti artritis, kanker, dan

penyakit kardiovaskular (Ahsana *et al.*, 2021). Siklooksigenase (COX) merupakan enzim homodimer yaitu protein yang tersusun atas dua rantai polipeptida yang identik dengan susunan, jumlah dan jenis residu dari asam amino. Siklooksigenase memiliki dua protein yang serupa secara fungsional dan memiliki urutan asam amino serupa tetapi tidak identik (COX-1 dan COX-2). Perbandingan sensitivitas terhadap hidropersida antara dua enzim ini diketahui bahwa COX-2 lebih sensitive dibandingkan COX-1, sehingga asam arakidonat dengan jumlah lebih kecil dapat membuatnya bekerja (Na'imah, 2019).

Mekanisme dari COX dimulai dari asam arakidonat diubah menjadi prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>). Setelah PGH<sub>2</sub> terbentuk, enzim sintase terminal bertugas mengubah menjadi prostanoid aktif, kemudian akan terjadi proses biosintesis di jaringan. Prostanoid mengambil peranan yang krusial dalam aktifitas biologis utamanya berkaitan dengan patologi penyakit. Dalam pengembangan antiinflamasi, COX-2 dipilih karena enzim ini memiliki peran penting dalam proses inflamasi dan berkontribusi terhadap berbagai penyakit. (Rudrapal *et al.*, 2023).

Namun keterbatasan pengobatan inflamasi saat ini yang menggunakan obat konvensional adalah terkait selektivitasnya yang masih rendah dengan ikut menghambat COX-1 dengan dampak pada peningkatan resiko gastritis. Adapun obat yang selektif dalam penghambatan COX-2 memiliki masalah terkait harga yang mahal dan ketersediaan yang terbatas (Zufar *et al.*, 2024).

Tanaman obat telah lama menjadi sumber alternatif potensial dalam pengembangan senyawa bioaktif yang lebih aman, tidak terkecuali pada jawer kotok. Tanaman dengan nama latin *Coleus atropurpureus* L. Benth merupakan anggota keluarga Lamiaceae yang habitat asalnya di benua Asia dan termasuk tanaman yang familiar di Indonesia. Jawer kotok biasa dikenali oleh orang awam dengan nama iler atau miana. Tumbuhan ini tumbuh pada tanah yang kering atau lembab dengan karakteristik tinggi yang berkisar 0,5 – 1 meter meskipun beberapa temuan bisa tumbuh hingga 2 meter. Nilai estetika tanaman ini dimanfaatkan sebagai hiasan meskipun pemanfaatannya ditemukan pula dalam beberapa pengobatan tradisional (Hamidah dan Moektiwardoyo, 2019). Daun jawer

kotok telah dilaporkan pada penelitian mengenai ekstrak daun miana yang diketahui mengandung flavonoid yang mana beberapa subkelasnya yaitu kalkon, dan flavanon, telah dilaporkan menunjukkan aktivitas antiinflamasi pada fase proliferaatif dan eksudatif inflamasi melalui penghambatan berbagai enzim seperti oksida nitrat sintase, xantin oksidase, reduktase aldosa, LOX, dan COX (Giuliana *et al.*, 2015; Md Idris *et al.*, 2022).

Penambatan molekular adalah metode yang digunakan untuk memprediksi struktur protein dalam kompleks dengan protein lain, asam nukleat, atau molekul kecil. Penambatan molekular dapat diidefinisikan sebagai prediksi pose pengikatan ligan berenergi rendah yang tepat dalam kompleks dengan struktur target, dengan cara menabrakkan protein dan ligan (Maden *et al.*, 2022). Penelitian ini dimaksudkan sebagai upaya identifikasi potensi senyawa dalam ekstrak etanol daun jawer kotok sebagai antagonis reseptor COX-2 melalui pendekatan penambatan molekuler (*molecular docking*). Metode ini dapat memberikan gambaran awal mengenai kemungkinan interaksi dan afinitas senyawa bioaktif terhadap target

protein, sehingga menjadi langkah dasar yang krusial terkait pengembangan fitofarmaka antiinflamasi menggunakan bahan alam yang diharapkan dapat meminimalkan resiko terjadinya kegagalan saat akan dilakukan uji *in vivo*.

## METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian pada kurun waktu bulan Mei hingga bulan Agustus 2024 bertempat di Laboratorium Farmasi Universitas Ma Chung. Jenis penelitian yang dirancang pada penelitian ini adalah penelitian experimental untuk mengidentifikasi aktivitas senyawa hasil LC-MS/MS antioksidan dari ekstrak etanol daun jawer kotok menggunakan metode penambatan molekuler.

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian yaitu isolat daun jawer kotok, dan protein COX-2 (6COX) sebagai target penambatan molekuler. Alat-alat penunjang jalannya penelitian ini meliputi alat-alat gelas (Pyrex), alumunium foil, pipet tetes, oven, stoples, waterbath, vial, botol gelap, dan seperangkat laptop Infinix INBook X1 yang dilengkapi dengan aplikasi Pyrx, dan Discovery Studio 4.0.

Determinasi daun jawer kotok dilakukan instansi UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu yang berlokasi di Jalan Lahor, Pesangrahan, Kota Batu. Proses determinasi ini dimaksudkan untuk menjamin secara akurat identitas dari tanaman yang digunakan dalam penelitian.

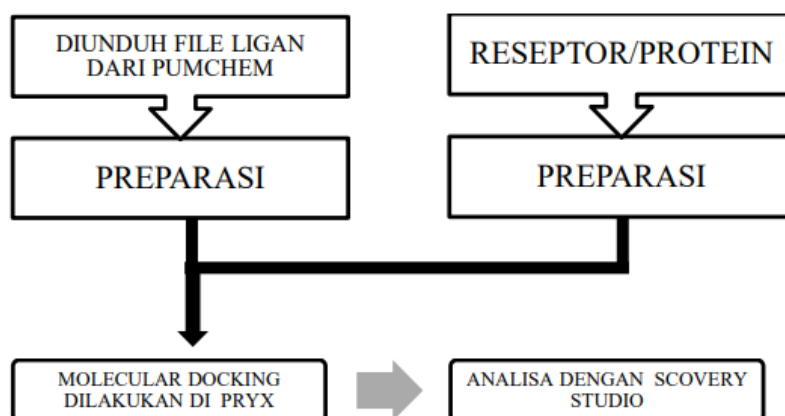
Preparasi sampel dilakukan dengan ekstraksi melalui metode maserasi dengan perbandingan serbuk dan pelarut etanol 96% adalah 1 : 3. Campuran selanjutnya dilakukan sonikasi selama 30 menit dan setelahnya didiamkan selama tiga hari dalam tempat gelap dengan pengadukan tiap 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring yang kemudian campuran tersebut dievaporasi menggunakan waterbath dengan suhu 50° hingga seluruh etanol 96% menguap dan didapatkan hasil ekstrak kental.

Uji *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dilakukan di Jakarta Pusat oleh Direktorat Pengelolaan Laboratorium, Fasilitas Riset, dan Kawasan Sains Teknologi BRIN. Hasil senyawa dilakukan preparasi dengan menggunakan

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan mengunduh struktur 3D dari senyawa yang akan digunakan. Adapun untuk protein yang didapat dari laman website RSCB PDB (<https://www.rcsb.org/>) dipreparasi dengan memisahkan bagian protein dan ligan alami serta menghilangkan molekul air dengan aplikasi Discovery Studio.

Penambatan molekul dilakukan menggunakan software PyRx. Sebelum menjalani proses docking, ligan melalui proses minimasi energi terlebih dahulu dengan Open Babel dalam aplikasi PyRx yang hasilnya disimpan dalam format .pdb. Proses docking dilakukan menggunakan pusat koordinat *Gridbox* x: 23,3053 y: 23,7216 z: 45,9946 dengan dimensi x: 8,4007 y: 7,7016 z: 8,7337 serta exhaustiveness yang digunakan adalah 8.

Validasi metode docking dilakukan dengan redocking ligan asli untuk mencari konformasi 3D ligan asli terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat *Gridbox* dari *binding site pocket*. Proses pengerjaan uji penambatan molekuler, dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Bagan Alur Kerja Penambatan Molekuler

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebelum penelitian dilakukan, tahap awal dilakukan uji determinasi terhadap daun jawer kotok yang akan diuji. Memastikan secara akurat identitas tanaman yang akan digunakan dalam penelitian merupakan tujuan dari proses determinasi. Dengan melakukan identifikasi yang tepat, dapat dipastikan bahwa tanaman yang diteliti benar-benar sesuai dengan spesies yang dituju, sehingga hasil penelitian dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Selain itu, determinasi juga berfungsi untuk mencegah terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel, yang bisa berdampak pada hasil analisis. Kesalahan dalam identifikasi atau pengambilan sampel dapat menyebabkan hasil penelitian yang tidak valid, oleh karena itu, penetapan identitas tanaman menjadi hal penting

dalam proses penelitian ini (Klau dan Hesturini, 2021). Determinasi daun jawer kotok dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu yang berlokasi di Kota Batu. Hasil determinasi dengan nomor 000.9.3/2641/102.20/2024 didapatkan kunci determinasi jawer kotok adalah 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-106-116-12b-13b-14b-16a-2396-243b-244b-2486-249b-250b-266b-267b-273b-276b-278b-279b-2828: Labiatae-la-2a-4b-6b-7a: Coleus-7: *C. scutellarioides*. yang menyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah *Coleus atropurpureus* Benth. = *Coleus scutellarioides* (L.) Benth.

Mengekstrak komponen kimia yang berada pada simplisia daun jower kotok adalah tujuan dari proses ekstraksi pada penelitian ini. Prinsip utama yang

mendasari ekstraksi adalah prinsip perpindahan masa, di mana komponen zat terlarut dipindahkan ke dalam pelarut yang sesuai. Metode yang digunakan adalah metode maserasi dengan alasan kesederhanaannya dan karena tidak memerlukan peralatan kompleks (Wijaya dan Satriawan, 2023). Proses ekstraksi sangat dipengaruhi oleh sifat zat terlarut itu sendiri dimana akan lebih mudah larut dalam pelarut yang memiliki sifat serupa “*like dissolves like*” (Lü *et al.*, 2010). Pemilihan pelarut dalam ekstraksi sangat penting karena akan menentukan senyawa apa yang akan terekstrak. Pemilihan pelarut etanol pada penelitian ini didasari pada kemampuan etanol dalam melarutkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar dimana flavonoid juga diketahui sebagai senyawa yang cenderung polar dengan keberadaan gugus hidroksil (–OH) yang nantinya juga akan berperan sebagai pendonor atom hidrogen pada proses penghambatan radikal bebas (Rowe *et al.*, 2006; Nur Pratiwi *et al.*, 2021; Widarti *et al.*, 2021). Selain itu tujuan dilakukannya sonikasi pada proses ekstraksi adalah untuk mempercepat proses ekstraksi karena sonikasi

menghasilkan gelombang suara frekuensi tinggi yang menciptakan getaran yang dapat mempercepat difusi zat terlarut dari sel-sel tanaman kedalam pelarut (Susanti *et al.*, 2021).

Ekstraksi 1,5 kg serbuk simplisia daun jawer kotok menghasilkan rendemen sebesar 1,670%. Nilai ini tergolong rendah, mengingat rendemen ekstrak yang dianggap baik umumnya berada di atas 10% (Saerang *et al.*, 2023). Jika dibandingkan dengan target senyawa yang disasar, yaitu antioksidan seperti flavonoid dan betaine, nilai rendemen ini menunjukkan bahwa hanya sebagian kecil komponen aktif yang berhasil terisolasi ke dalam ekstrak. Rendahnya rendemen dapat disebabkan oleh faktor-faktor seperti jenis pelarut (Wijaya dan Satriawan, 2023), metode ekstraksi (Wijaya *et al.*, 2018), durasi ekstraksi (Kristanti *et al.*, 2019), serta kandungan senyawa aktif dalam daun jawer kotok itu sendiri. Dengan demikian, hasil ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak berhasil diperoleh, efisiensi ekstraksinya masih perlu ditingkatkan agar kandungan senyawa aktif yang dihasilkan lebih optimal.

*Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (LC-*

MS/MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan kromatografi cair (LC) untuk memisahkan senyawa berdasarkan sifat kimianya dengan spektrometri massa (MS) yang digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur massa molekul-molekul tersebut. Dalam LC-MS/MS, proses MS/MS (tandem MS) memungkinkan analisis lebih mendalam

dengan memecah ion-ion terpilih menjadi fragmentasi lebih lanjut, memberikan informasi yang lebih rinci tentang struktur dan komposisi senyawa. Teknik ini sering digunakan dalam analisis kimia, farmasi, dan biologi untuk mendeteksi, mengidentifikasi, dan kuantifikasi senyawa dalam sampel yang kompleks (Pitt, 2009).

Tabel 1. Hasil Uji LC-MS/MS

Nama Senyawa	Formula	Calc.MW	Smile	Area (Mx)	Kode
11-Aminoundecanoic acid	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> N O <sub>2</sub>	201,1729	C(CCCCCN)CCCC C(=O)O	1,30E+07	1,2
2,3,19-Trihydroxyurs-12-ene-23,28-dioic acid	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>7</sub>	518,3248	C[C@@H]1CC[C@@]2 (CC[C@@]3(C(=CC[C@H]4[C@@]3(CC[C@@H]5[C@@]4(C[C@H]([C@@H]([C@@]5(C)C O)O)O)C)C	9,70E+06	1,3
Apigenin	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	270,0530	C1=CC(=CC=C1C2=CC (=O)C3=C(C=C(C=C3O 2)O)O	6,60E+07	1,6
Betaine	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	117,0789	C[N+](C)(C)CC(=O)[O-]	3,80E+08	1,8
DL-Stachydrine	C <sub>7</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>	143,0946	C[N+](C)(CCCC1C(=O)O)C	4,40E+07	1,11
Epinephrine	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub>	183,0896	CNC[C@@H](C1=CC(=C(C=C1)O)O)O	1,90E+06	1,12
Kaempferol	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>	286,0478	C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O	3,50E+07	1,13
Kresoxim-methyl	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> N O <sub>4</sub>	313,1316	CC1=CC=CC=C1OCC2=CC=CC=C2/C(=N\OC)/C(=O)OC	4,20E+06	1,14
N-Boc-guanidine	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	159,1008	CC(C)(C)OC(=O)N=C(N)N	1,40E+06	1,18
Palmitamidopropyl dimethylamine	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> N <sub>2</sub> O	340,3455	CCCCCCCCCCCCCCCCC(=O)NCCCN(C)C	1,90E+07	1,2
Piperine	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>	285,1366	C1CCN(CC1)C(=O)/C=C/C=C/C2=CC3=C(C=C2)OCO3	8,10E+07	1,22
Cafestol	C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub>	316,2040	C[C@@]12CCCC3=C([C@H]1CC[C@]45[C@H]2CC[C@H](C4)[C@](C5)(CO)O)C=CO3	3,80E+08	2,6
Deltaguanidinovaleri	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	302,1963	CC[C@H](C)[C@	1,40E+06	2,1

Nama Senyawa	Formula	Calc.MW	Smile	Area (Mx)	Kode
c acid			<chem>H][C@H](C)C(=O)N</chem>		
Dodecylurea	$C_{13}H_{28}N_2O$	228,2203	<chem>CCCCCCCCCCCCNC(=O)N</chem>	5,60E+06	2,12
Lauryldimethylammonium chloride	$C_{14}H_{31}NO$	229,2407	<chem>CCCCCCCCCCCC[N+](C)(C)[O-]</chem>	15,11	2,16
Myreth-3	$C_{20}H_{42}O_4$	346,3083	<chem>CCCCCCCCCCCCCOCCOCCOCCO</chem>	2,60E+07	2,17
Galangin	$C_{15}H_{10}O_5$	270,0530	<chem>C1=CC=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O</chem>	6,60E+07	3,16
Ileukidinol B	$C_{29}H_{44}O_4$	456,3242	<chem>C[C@H]1CC[C@@H]2(CC[C@@H]3</chem>	1,60E+07	3,19
Mephenoxalone	$C_{11}H_{13}NO_4$	223,0847	<chem>COC1=CC=CC(=O)OCC2CNC(=O)O2</chem>	2,30E+05	3,23
Octyl cyanoacrylate	$C_{12}H_{19}NO_2$	209,1416	<chem>CCCCCCCCOC(=O)C(=O)C#N</chem>	2,90E+06	3,27
Penicillic acid	$C_8H_{10}O_4$	170,0580	<chem>CC(=C)C(=O)/C(=C/C(=O)O)/OC</chem>	9,10E+06	3,28
Pregabalin	$C_8H_{17}NO_2$	159,1259	<chem>CC(C)C[C@H](C(=O)O)CN</chem>	1,10E+06	3,31
Gentioflavine	$C_{10}H_{11}NO_3$	193,0739	<chem>CC1C(=C2CCOC(=O)C2=CN1)C=O</chem>	8,80E+04	4,11
Luteolin	$C_{15}H_{10}O_6$	286,0478	<chem>C1=CC(=C(C=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O</chem>	3,50E+07	4,12
Scoparone	$C_{11}H_{10}O_4$	260,5802	<chem>COC1=C(C=C2C(=C1)C=CC(=O)O2)OC</chem>	8,30E+06	4,2
Trifolin	$C_{21}H_{20}O_{11}$	448,1006	<chem>C1=CC(=CC=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O[C@H]4[C@H]([C@H]([C@H]([C@H](O4)CO)O)O)O</chem>	2,40E+07	4,21

Hasil analisis LC-MS/MS dapat dilihat pada Tabel 1. Senyawa yang dominan dalam ekstrak etanol daun jawar kotok berdasarkan hasil uji LC-MS/MS adalah betaine. Betaine (trimetilglisin) adalah salah satu senyawa bioaktif yang memiliki potensi farmakologis, termasuk sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan hepatoprotektif. Betaine adalah senyawa alami yang dikenal sebagai donor metil dan osmoprotektan penting. Bukti

ilmiah menunjukkan betaine memiliki efek anti-inflamasi pada berbagai penyakit, terutama dengan menekan aktivitas faktor transkripsi NF- $\kappa$ B, yang berperan sentral dalam regulasi gen-gen inflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-23. Betaine juga menghambat aktivasi inflammasom NLRP3, mengatur metabolisme energi, serta mengurangi stres oksidatif dan stres retikulum endoplasma, yang semuanya berkontribusi pada penurunan reaksi



inflamasi (Ren dan Peng, 2018). Dengan karakteristik tersebut, betaine dari ekstrak daun jawer kotok berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen terapeutik dalam berbagai aplikasi biomedis.

Senyawa betaine diunduh struktur 3D melalui website Pubchem. Protein yang akan digunakan dalam penelitian ini dilakukan studi literatur terlebih dahulu dari beberapa jurnal dengan

mencari database protein pada website <https://www.rcsb.org/>. Dari protein-protein yang terdapat dalam RCSB, ditemukan satu protein yang cocok untuk dilakukan *molecular docking* pada penelitian ini. Protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6COX, kriteria dari protein 6COX yang sesuai untuk melakukan *molecular docking* adalah tidak terdapat mutasi.

Tabel 2. Hasil Penambatan Molekuler

Senyawa	Asam Amino	Jenis ikatan
Betaine	Tyr385	Van Der Waals
	Val523	Van Der Waals
	Gly526	Van Der Waals
	Ser530	Van Der Waals
S58	Tyr355	Pi-Sigma
	Val349	Pi-Sigma
	Leu531	Pi-Sigma
	Leu359	Pi-Sigma
	Arg120	Pi-Kation
	Ala527	Alkil & Pi-Alkil
	Gly526	Alkil & Pi-Alkil
	Arg513	Alkil & Pi-Alkil
	Tyr385	Alkil & Pi-Alkil
	Leu384	Alkil & Pi-Alkil
	Trp387	Alkil & Pi-Alkil
	Gln192	Hidrogen Konvensional
	Leu352	Hidrogen Konvensional
	Phe518	Hidrogen Konvensional
	Val523	Pi-Sigma

Hasil nilai *binding affinity* dari Betaine adalah -3.9 kcal/mol, yang mengindikasikan bahwa hasil interaksi antara betaine dan target protein 6COX tidak terlalu kuat. Hasil ini karena betaine adalah molekul kecil polar dengan gugus karboksilat (-COO-) dan

trimetilammonium (+N(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) yang mendukung pembentukan ikatan hidrogen dengan residu polar di situs aktif dan interaksi elektrostatis dengan residu. Namun, COX-2 adalah enzim yang cenderung berikatan dengan molekul non-polar atau hidrofobik

disitus aktifnya, yang mengikat substrat utama 6COX adalah asam arakidonat, senyawa lipid non-polar. Oleh karena itu, gugus polar betaine mungkin tidak cocok dengan situs aktif 6COX yang cenderung hidrofobik. Jenis ikatan yang terbentuk adalah ikatan van der Waals, ikatan tersebut terbentuk karena betaine adalah molekul kecil dengan sifat polar tetapi gugusnya tidak cukup kompleks untuk membentuk banyak ikatan.

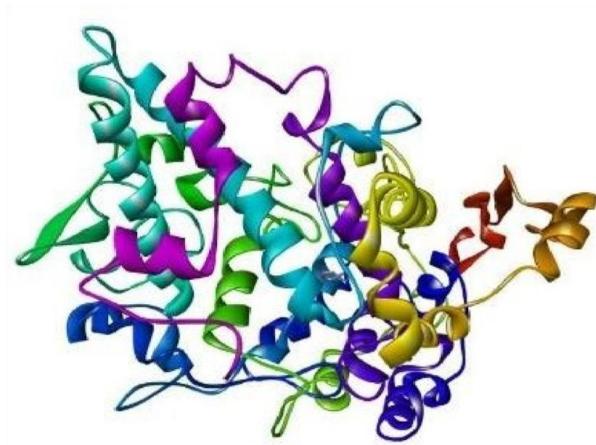
Situs aktif 6COX mengandung banyak residu seperti Val 523 yang lebih mendukung interaksi van der Waals dengan ligan polar seperti betaine. Dengan dominasi ikatan van der Waals, interaksi betaine dengan 6COX kurang spesifik dan stabil. Hasil dari binding affinity S58 menunjukkan hasil -11.2 kcal/mol, yang mengindikasikan bahwa interaksi antara ligan S58 dan protein terjadi interaksi yang kuat. Nilai binding affinity yang lebih negatif menunjukkan bahwa kompleks yang terbentuk lebih stabil, yang berarti energi yang diperlukan untuk menghambat interaksi lebih besar. Stabilitas ini dapat disebabkan oleh protein 6COX adalah enzim yang berperan dalam produksi prostaglandin, senyawa yang bertanggung jawab dalam respon inflamasi di dalam tubuh. Jika

aktivitas 6COX dapat dihambat, maka produksi prostaglandin juga akan berkurang, yang berkontribusi terhadap penurunan peradangan serta stres oksidatif dalam tubuh. Ligan S58, yang merupakan ligan alami, memiliki gugus fungsional yang berkontribusi terhadap interaksinya dengan protein 6COX. Salah satu gugus penting adalah gugus amonium kuartener ( $+N(CH_3)_3$ ), yang memiliki muatan positif dan memungkinkan interaksi elektrostatik dengan residu bermuatan negatif yang terdapat dalam situs aktif 6COX.

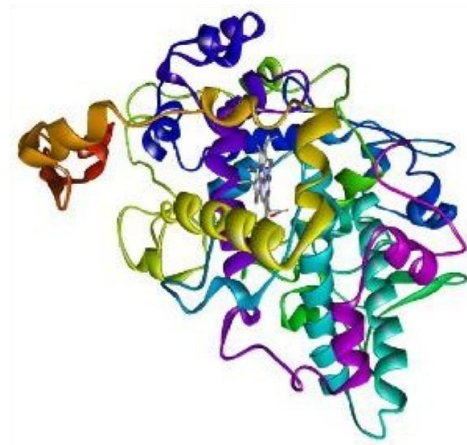
Interaksi ini berperan dalam memperkuat ikatan antara ligan dan protein, sehingga meningkatkan kestabilan kompleks yang terbentuk. Selain itu, gugus karboksilat ( $-COO^-$ ) memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen dengan residu polar yang terdapat dalam situs aktif 6COX. Pembentukan ikatan hidrogen ini berkontribusi pada kestabilan kompleks dan meningkatkan afinitas pengikatan ligan terhadap enzim. Keberadaan cincin aromatik dalam struktur ligan S58 juga memberikan kontribusi terhadap interaksi dengan protein 6COX. Cincin aromatik ini memungkinkan terbentuknya interaksi  $\pi$ - $\pi$  stacking

dengan residu asam amino aromatik seperti Tyr355 dan Phe518 yang terdapat dalam situs aktif enzim. Interaksi ini meningkatkan kekuatan pengikatan antara ligan dan protein serta membantu menstabilkan kompleks yang terbentuk selama proses docking molekuler. Bagian lain dari ligan S58 memiliki sifat hidrofobik parsial, yang memungkinkan interaksi dengan residu non-polar dalam situs aktif 6COX.

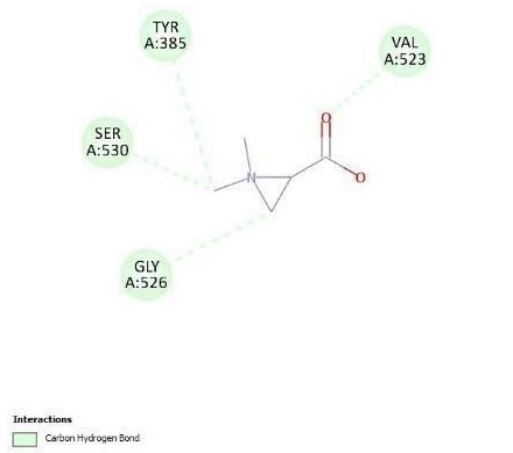
Interaksi hidrofobik ini berperan dalam meningkatkan daya ikat ligan terhadap protein, terutama di area yang memiliki kecenderungan untuk berinteraksi dengan molekul yang bersifat non-polar. Dengan kombinasi berbagai jenis interaksi ini, ligan S58 mampu membentuk kompleks yang lebih stabil dengan 6COX, yang tercermin dari nilai binding affinity yang lebih negatif dibandingkan dengan betaine.



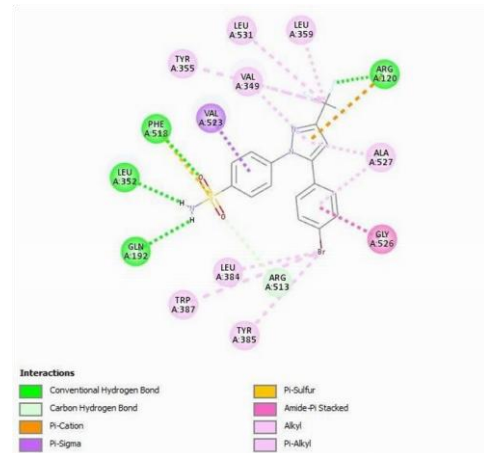
Gambar 2. Betaine Dengan Protein 6COX



Gambar 3. S58 dengan Protein 6COX



Gambar 4. Betaine 2D



Gambar 5. S58 2D

Berdasarkan visualisasi menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio dapat dilihat pada beberapa gambar diatas bahwa betaine dan S58 tertambat pada protein 6COX menunjukkan adanya interaksi dengan situs aktif protein 6COX. Betaine dapat berikatan dengan baik karena memiliki struktur polar dengan bentuk molekul yang kecil, sehingga memungkinkan pembentukan ikatan hidrogen dan interaksi dengan residu polar dalam situs aktif protein 6COX. S58 dapat tertambat dengan baik juga karena memiliki gugus amonium kuartener, karboksilat, dan alkil, yang berkontribusi terhadap interaksi hidrogen, elektrostatik, hidrofobik, dan  $\pi$ - $\pi$  stacking dengan protein 6COX. Gugus ini memungkinkan ikatan yang kuat dan stabil (Rudrapal *et al.*, 2023).

#### SIMPULAN DAN SARAN

Pada uji *in silico* dengan metode *molecular docking*, didapatkan hasil *binding affinity* betaine sebesar -3,9 kcal/mol dan S58 sebagai ligan alami sebesar -11,2 kcal/mol. Meskipun afinitas betaine lebih rendah, betaine menunjukkan kemampuan dalam berinteraksi dengan situs aktif enzim, termasuk asam amino Tyr385, Val523,

dan Gly526 melalui ikatan van der Waals.

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk dapat mengetahui aktivitas biologis betaine secara *in vivo*. Selain itu, analisis struktur-aktivitas senyawa lain dalam daun jawer kotok perlu diperluas agar diperoleh kandidat inhibitor dengan afinitas dan kompatibilitas yang lebih baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahsana, D. *et al.* (2021) "Molecular Docking Study of Flavonoid Compounds in The Guava Leaves (*Psidium Guajava* L.) Which Has Potential as Anti-Inflammatory COX-2 Inhibitors," *Lambung Farmasi: Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(2), hal. 67.
- Giuliana, F.E. *et al.* (2015) "Pengaruh pH terhadap aktivitas antioksidan ekstrak daun miana (*Coleus atropurpureus* L. Benth)," *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 1, hal. 242–251.
- Hamidah, M. dan Moektiwardoyo, M. (2019) "Review Artikel: Senyawa Aktif Antiinflamasi Daun Jawer Kotok," *Farmaka*, 17(1), hal. 89–96.

- Klau, M.H.C. dan Hesturini, R.J. (2021) "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans* (Burm F) Lindau) Terhadap Daya Analgetik Dan Gambaran Makroskopis Lambung Mencit," *Jurnal Farmasi & Sains Indonesia*, 4(1), hal. 6–12.
- Kristanti, Y. *et al.* (2019) "Pengaruh Waktu Ekstraksi Dan Konsentrasi Etanol Menggunakan Metode Microwave Assisted Extraction (Mae) Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rambut Jagung (*Zea mays* L.)," *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(1), hal. 94.
- Lü, J.M. *et al.* (2010) "Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems," *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14(4), hal. 840–860.
- Maden, S.F. *et al.* (2022) "Fundamentals of Molecular Docking and Comparative Analysis of Protein–Small-Molecule Docking Approaches," in *Molecular Docking - Recent Advances similar*. Lond: IntechOpen.
- Md Idris, M.H. *et al.* (2022) "Flavonoids as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX): molecular docking and in vitro studies," *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1).
- Na'imah, J. (2019) "In silico study of COX-2 on indomethacin and diclofenac as nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)," *Farmasains: Jurnal Farmasi dan Ilmu Kesehatan*, 4(1), hal. 31.
- Nur Pratiwi, D. *et al.* (2021) "Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Ekstrak, Fraksi Polar, Semi Polar serta Non Polar Bunga Pepaya Jantan (*Carica papaya* L.) Identification Flavonoids on Extract, Fraction Polar, Semi Polar and Non Polar of Male Papaya Flower (*Carica papaya* L.)," *Jurnal Farmasi*, 2(1), hal. 25–31.
- Pitt, J.J. (2009) "Principles and Applications of Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in Clinical Biochemistry," 30(February), hal. 19–34.
- Ren, W. dan Peng, Y. (2018) "Betaine in inflammation: Mechanistic Aspects and Applications," 9(May), hal. 1–13.
- Rowe, R.C. *et al.* (2006) *Handbook of*

- Pharmaceutical Excipients*. 5 ed, *AusIMM Bulletin*. 5 ed. London: Pharmaceutical Press.
- Rudrapal, M. *et al.* (2023) “Dual synergistic inhibition of COX and LOX by potential chemicals from Indian daily spices investigated through detailed computational studies,” *Scientific Reports*, 13(1), hal. 1–27.
- Saerang, M.F. *et al.* (2023) “Formulasi Sediaan Krim Dengan Ekstrak Etanol Daun Gedi Hijau (*Abelmoschus manihot* L.) TERHADAP *Propionibacterium acnes*,” *Pharmacon*, 12(3), hal. 350–357.
- Susanti *et al.* (2021) “Pengaruh Variasi Waktu Sonikasi Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.),” *Prosiding Seminar Nasional UAD*, hal. 1–10.
- Widarti *et al.* (2021) “Aktivitas Antioksidan Dari Tiga Fraksi Pelarut Ekstrak Daun Dandang Gendis (EDDG),” *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 12(1), hal. 56–65.
- Wijaya, A. dan Satriawan, B. (2023) “Pengaruh perbedaan jenis pelarut terhadap nilai rendemen ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* .L),” *Jurnal Ilmiah JOPHUS: Journal Of Pharmacy UMUS*, 5(1), hal. 10–17. Tersedia pada: <https://doi.org/10.46772/jophus.v5i1.728>.
- Wijaya, H. *et al.* (2018) “Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambui Laut (*Sonneratia caseolaris* L. Engl),” *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 4(1), hal. 79–83.
- Zufar, W.R. *et al.* (2024) “Potensi Meniran (*Phyllanthus niruri*) Sebagai Antiinflamasi Alternatif dengan Mekanisme Penghambatan Aktivitas Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) dan Extracellular Signal-Regulated (ERK2): Studi In Silico,” *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(1), hal. 1–15.