

Potensi Senyawa pada Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan*) dalam Menghambat Enzim COX-2 sebagai Antiinflamasi

Riwayat artikel:

Diterima: 29 Juli 2025

Direvisi: 29 November 2025

Diterbitkan: 31 Desember 2025

Lealita¹, Anastasia Rislina Easter Ajie Pramesti², Rollando³, Michael Resta Surya Yanuar^{4*}

Kata kunci:

Antiinflamasi;

COX-2;

Kayu Secang;

Molecular Docking;

In Silico

Peradangan adalah respons imun terhadap infeksi atau kerusakan jaringan yang melibatkan enzim Cyclooxygenase-2 (COX-2) dalam sintesis prostaglandin. Menghambat COX-2 merupakan strategi penting dalam pengembangan obat antiinflamasi. Studi ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi senyawa aktif dari kayu sappan (*Caesalpinia sappan* L.) sebagai penghambat COX-2 melalui pendekatan *in silico*. Docking molekuler dilakukan pada protein COX-2 (PDB ID: 5KIR) menggunakan PyRx, diikuti dengan validasi metode dan analisis interaksi ligan. Simulasi dinamika molekuler (MD) menggunakan YASARA dilakukan pada senyawa dengan afinitas terbaik. Hasil docking menunjukkan bahwa protosappanin A memiliki afinitas ikatan sebesar -9,7 kcal/mol, lebih tinggi daripada brazilin (-9,2 kcal/mol) dan sappanone B (-9,3 kcal/mol), meskipun masih lebih rendah daripada ligan asli (-10,3 kcal/mol). Simulasi MD selama 100 ns menunjukkan stabilitas ikatan dengan nilai RMSD 1,5–2,0 Å dan rata-rata RMSF 1,0 Å. Hasil ini menunjukkan bahwa protosappanin A berpotensi sebagai inhibitor COX-2 selektif dan kandidat antiinflamasi alami yang menjanjikan. Temuan ini memerlukan validasi lebih lanjut untuk mengonfirmasi potensinya. Oleh karena itu, studi ini dapat menjadi titik awal yang kuat untuk penelitian lebih lanjut melalui uji *in vitro* dan *in vivo*, untuk mendukung potensi terapeutiknya yang menjanjikan dan membuka peluang baru dalam pengembangan pengobatan yang lebih efektif.



Copyright: © 2023 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Menurut *World Health Organization* (WHO), Mengatakan 65% penduduk negara maju masih melakukan pengobatan secara tradisional dengan menggunakan obat-obatan dari bahan alami. Indonesia merupakan salah satu negara yang masih menggunakan obat tradisional sebagai alternatif pengobatan. Dari masa lalu, Indonesia telah menggunakan berbagai macam ramuan yang diracik dari daun, akar, kulit, batang, kayu, dan umbi-umbian untuk mencegah dan mengobati penyakit. Menurut

BPOM Indonesia, obat tradisional dikategorikan menjadi beberapa kelompok yaitu jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka [1,2]. Keanekaragaman hayati yang tumbuh di Indonesia sekitar 30.000 tanaman dengan berbagai jenis, dan sekitar 9.600 jenis tanaman yang merupakan tanaman herbal. Obat herbal memiliki berbagai aktivitas senyawa seperti antidiabetes, antioksidan, antiinflamasi, antikanker, dan antibakteri. Salah satu senyawa yang dimiliki beberapa tanaman adalah antiinflamasi[3].

^{1,2,3,4} Program Studi Farmasi S-1, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung Malang

Email: michael.resta@machung.ac.id

Inflamasi (peradangan) merupakan respon imun tubuh terhadap rangsangan berbahaya seperti patogen, sel-sel rusak, senyawa beracun, atau radiasi. Proses inflamasi merupakan mekanisme pertahanan utama tubuh dengan membentuk sitokin-sitokin maupun mediator yang bertanggung jawab dalam inflamasi [4]. Tanda-tanda inflamasi yaitu timbulnya pembengkakan/edema, kemerahan, panas, dan nyeri [5].

Salah satu mediator kunci dalam inflamasi yaitu enzim Cyclooxygenase-2 (COX-2) yang mengkatalisis konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin E2 (PGE2). COX-2 merupakan enzim yang dilepaskan di tempat cedera jaringan untuk menghasilkan zat seperti hormon yang disebut prostaglandin E2 (PGE2). Mekanisme reaksi dari COX-2 adalah Ketika terjadi cedera atau infeksi, sel-sel yang terinflamasi mengaktifkan enzim fosfolipase A₂ (PLA₂), yang memecah fosfolipid membran sel menjadi asam arakidonat. COX-2 menambahkan dua molekul oksigen ke asam arakidonat yang kemudian di ubah menjadi prostaglandin G₂ (PGG₂) melalui reaksi peroksidasi. Selanjutnya, PGG₂ direduksi menjadi prostaglandin H₂ (PGH₂) oleh aktivitas peroksidase COX-2. PGH₂ kemudian berfungsi sebagai prekursor untuk berbagai prostaglandin dan mediator inflamasi. PGE sintase kemudian akan mengkonversi PGH₂ menjadi prostaglandin E₂ (PGE₂), yang berperan dalam menimbulkan nyeri, demam, pembengkakan dan kemerahan[6].

Inhibisi selektif terhadap COX-2 menjadi target terapi utama untuk pengobatan inflamasi, namun obat konvensional seperti OAINS (Obat Anti-Inflamasi Non-Steroid) sering menimbulkan efek samping ulkus lambung akibat penghambatan COX-1. Oleh karena itu, pencarian senyawa antiinflamasi alami dengan selektivitas tinggi terhadap COX-2 untuk mengendalikan dan mengatasi nyeri terkait inflamasi dengan efek samping yang sedikit, seperti obat herbal berbahan dasar tumbuhan [7].

Kayu secang (*Caesalpinia Sappan*) merupakan tumbuhan dari familia *Fabaceae* dan spesies *Caesalpinia Sappan L.* ciri-ciri secang yaitu pohon kecil/perdu dengan tinggi rata-rata 5-10 meter,

diameter sekitar 15-25 cm, Batang berkayu, bulat dan berwarna hijau kecokelatan. Pada batang dan percabangannya, terdapat duri-duri tempel yang bentuknya bengkok dan letaknya tersebar. kayu secang sangat keras, berat, berwarna jingga dan dapat menghasilkan warna merah [8]. Kayu Secang mengandung senyawa fenolik seperti flavonoid seperti *Brazilin*, *Sappanone B*, dan *Protosappanin A* [9]. kayu secang memiliki berbagai manfaat biologis, seperti antiinflamasi, antibakteri, aktivitas antioksidan, antialergi, aktivitas nuklease, analgesik, dan lain sebagainya [10].

Perkembangan metode dan aplikasi komputasi di bidang kefarmasian terlah berkembang selama beberapa dekade terakhir. Metode analisa untuk membantu proses identifikasi target yaitu dengan menggunakan *molecular docking*. *Molecular docking* adalah prosedur komputasional yang dapat digunakan untuk memprediksi ikatan kimia dari makromolekul (reseptor) dengan sebuah molekul kecil (ligan) secara efisien menggunakan strukturnya melalui simulasi *molecular docking*. Tujuan dilakukannya penambatan (*docking*) adalah untuk mengetahui konformasi dan energi bebas ikatan yang terlibat dalam interaksi antara reseptor dan ligan [11]. *Molecular docking* dilakukan dengan membandingkan kemiripan struktur senyawa uji terhadap senyawa target dalam satu atau lebih *database* sehingga dapat diperdikasikan makromolekul mana yang berpotensi sebagai target [12].

Berdasarkan beberapa penelitian terdahulu, beberapa senyawa yang terdapat di dalam tanaman kayu secang memiliki potensi aktivitas antiinflamasi. Meskipun secang dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi, mekanisme inhibisinya terhadap COX-2 belum sepenuhnya dipahami dan diteliti [10]. Oleh Karena itu, masalah dari penelitian ini yaitu untuk memprediksi apakah senyawa aktif dari kayu secang memiliki interaksi atau afinitas terhadap enzim COX-2 sebagai enzim yang bertanggung jawab dalam proses inflamasi di dalam tubuh melalui *molecular docking*, serta bagaimana interaksi senyawa aktif dari kayu secang melalui simulasi dinamika molekular

(molecular dynamic). Tujuan penelitian ini adalah untuk memprediksi mekanisme kerja senyawa kandidat inhibitor enzim COX-2 melalui simulasi.

Hasil dan Pembahasan

Preparasi Protein Ligan

Preparasi protein ligan dilakukan dengan menggunakan aplikasi YASARA. Preparasi ini bertujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa non asam amino dan molekul air. Selain penghilangan senyawa-senyawa tersebut, dilanjutkan dengan menambahkan hidrogen dan penyesuaian pH (pH 7,4). Penambahan atom hidrogen bertujuan untuk menyesuaikan suasana *docking* agar mendekati pH fisiologis tubuh [12]. Preparasi Protein target bertujuan untuk memisahkan *ligan* asli dari protein target, sehingga menyediakan *pocket* atau *binding site* yang akan digunakan selama proses *docking* [13].

Validasi Metode Molecular Docking

Penelitian validasi *molecular docking* antara protein target (5KIR) dengan senyawa *ligan native* dan antara ligan senyawa uji dengan menggunakan aplikasi PyRx ditunjukkan pada **tabel 1**. Validasi *docking* dilakukan untuk menentukan apakah metode *molecular docking* yang digunakan reliabel atau valid dengan membandingkan konformasi kristalografi *ligan* alami terhadap protein target. Proses validasi perlu menentukan kotak *grid* atau koordinat pusat, di mana interaksi *ligan* dan protein dikenal sebagai situs aktif protein. Dimensi koordinat pusatnya yaitu X: 80.724; Y: 62.175; dan Z: 65.070. Dalam proses *redocking*, akan diperoleh berbagai konformasi dengan tingkat energi ikatan yang bervariasi, mulai dari yang terendah hingga tertinggi. Konformasi yang optimal dipilih berdasarkan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) terkecil dan harus memenuhi batas validasi yang telah ditentukan, yaitu RMSD \leq 2 Å [13]. Dalam penelitian ini, dikatakan valid karena menghasilkan nilai RMSD yaitu 0 Å. Semakin besar nilai RMSD maka penyimpangan yang terjadi akan semakin besar pula, sebaliknya nilai RMSD yang kecil menunjukkan bahwa struktur ligan hasil *docking*

akan semakin mendekati struktur ligan alami [11]. Ligan protein 5KIR pada penelitian ini memiliki *binding affinity* sebesar -10.3 kkal/mol, sedangkan pada senyawa uji *brazilin* sebesar -9.2 kkal/mol, *sappanone B* -9.3 kkal/mol, dan *protosappanin A* sebesar -9.7 kkal/mol.

Berdasarkan hasil penelitian, senyawa uji *Protosappanin A* memiliki energi ikatan yaitu -9.7 kkal/mol. Nilai tersebut menunjukkan kestabilan pengikatan ligan terhadap reseptor, dimana semakin kecil/negatif energi ikatan maka semakin stabil/kuat ikatan yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa *Protosappanin A* merupakan senyawa dengan *Binding Affinity* terbaik karena memiliki energi ikatan yang paling rendah dari senyawa uji lainnya.

Visualisasi Hasil Molecular Docking

Hasil visualisasi dari pengujian *molecular docking* antara protein target dan *ligan native* serta ligan senyawa uji menunjukkan beberapa interaksi ligan-protein. Dilihat dari **gambar 1**, interaksi ligan-protein yang paling banyak terjadi ditunjukkan pada *ligan native* sebanyak 9 interaksi ikatan. Pada senyawa *brazilin* terjadi 8 interaksi ligan protein, senyawa *sappanone B* ada 7 interaksi yang terjadi, dan pada senyawa *protosappanin A* terjadi 6 interaksi ligan-protein.

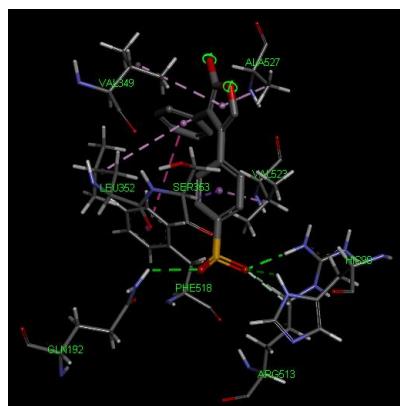
Analisis Data

Analisis interaksi hasil *docking* dilakukan untuk melihat penambatan antara *ligan* pembanding dan ligan senyawa uji yang digunakan. Dengan adanya interaksi yang terjadi memungkinkan adanya kontak ligan senyawa uji dengan enzim COX-2 sehingga memiliki aktivitas penghambatan [11].

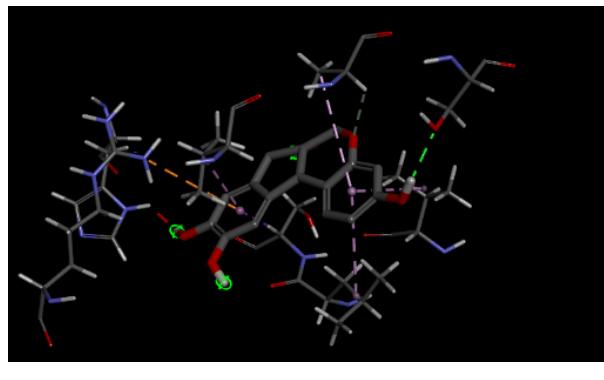
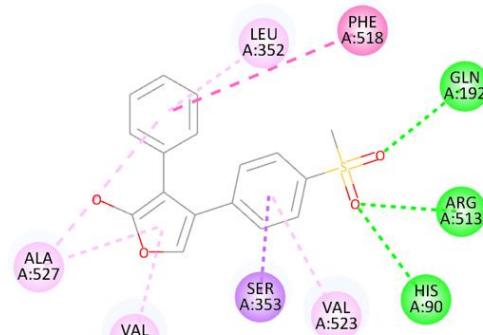
Berdasarkan hasil *Molecular docking* pada **tabel 2**. Hasil interaksi ligan-protein dari ligan 5KIR membentuk 3 ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu HIS A:90, ARG A:513, GLN A:192. Terbentuk 6 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino yaitu tipe Pi-Alkyl ALA A:52, VAL A:523, LEU A:352, VAL A:349; tipe Pi-sigma SER A:353, tipe Pi-Pi Stacked PHE A:518.

Tabel 1. Hasil antara protein target dengan *ligan native* dan antara *ligan* senyawa uji

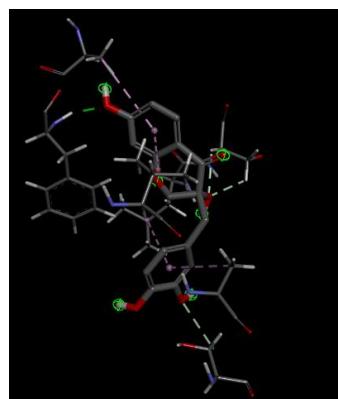
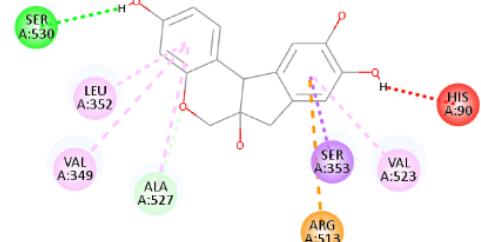
Ligan	Binding Affinity (kkal/mol)
Validasi Docking	
Native ligan 5KIR	-10.3
Docking Ligan Uji	
Brazilin (73384)	-9.2
Sappanone B (13888976)	-9,3
Protosappanin A (128001)	-9,7



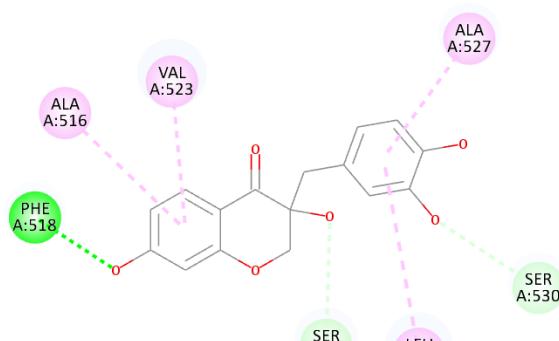
A

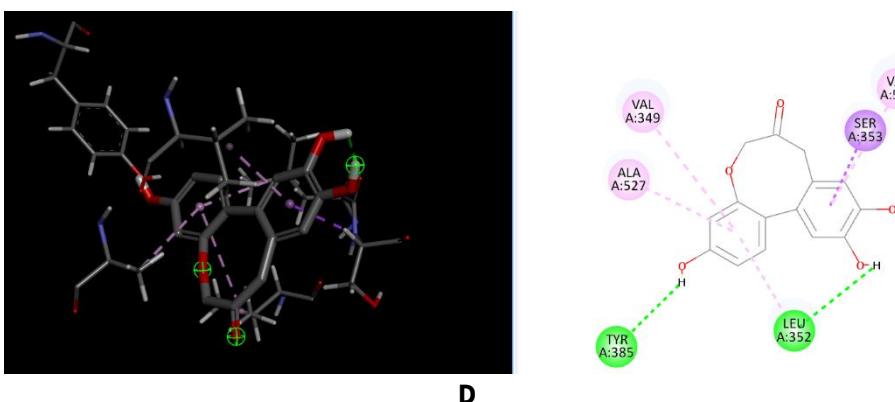


B



C





Gambar 1. Interaksi Ligan-protein. (a) *Ligan native*: (b) *brazilin* (73384); (c) *Sappanone B* (13888976); (d) *Protosappanin A* (128001)

Tabel 2. Hasil Docking antara protein target dengan *ligan native* dan antara *ligan* senyawa uji

Nama Senyawa	Afinitas Ikatan (kcal/mol)	Residu Asam Amino	Interaksi Yang terjadi
<i>Ligan Native</i> (5KIR)	-10.3	ALA A:527	ALA A:527 (hidrofobik)
		VAL A:349	VAL A:349 (hidrofobik)
		SER A:353	SER A:353 (hidrofobik)
		VAL A:523	VAL A:523 (hidrofobik)
		HIS A:90	HIS A:90 (hidrogen)
		ARG A:513	ARG A:513 (hidrogen)
		GLN A:192	GLN A:192 (hidrogen)
		PHE A:518	PHE A:518 (hidrofobik)
		LEU A:352	LEU A:352 (hidrofobik)
		SER A:530	SER A:530 (hidrogen)
<i>Brazilin</i> (73384)	-9.2	LEU A:352	LEU A:352 (hidrofobik)
		VAL A:349	VAL A:349 (hidrofobik)
		ALA A: 527	ALA A: 527 (hidrogen)
		ARG A:513	ARG A:513 (elektrostatik)
		SER A:353	SER A:353 (hidrofobik)
		VAL A:523	VAL A:523 (hidrofobik)
		HIS A:90	HIS A:90 (<i>unfavorable</i> donor-donor)
<i>Sappanone B</i> (13888976)	-9,3	PHE A:518	PHE A:518 (hidrogen)
		ALA A:516	ALA A:516 (hidrofobik)
		VAL A:523	VAL A:523 (hidrofobik)
		ALA A:527	ALA A:527 (hidrofobik)
		SER A:530	SER A:530 (hidrogen)
		LEU A:352	LEU A:352 (hidrofobik)
		SER A:353	SER A:353 (hidrogen)
<i>Protosappanin A</i> (128001)	-9,7	VAL A:349	VAL A:349 (hidrofobik)
		ALA A:527	ALA A:527 (hidrofobik)
		TYR A:385	TYR A:385 (hidrogen)
		LEU A:352	LEU A:352 (hidrogen)
		SER A: 353	SER A: 353 (hidrofobik)
		VAL A:523	VAL A:523 (hidrofobik)

*ALA= Alanine; VAL = Valine; SER = Serine; HIS = Histidine; ARG = Arginine; GLN = Glutamine; PHE = Phenylalanine; LEU = Leucine; TYR= Tyrosin.

Senyawa brazilin membentuk 2 ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu SER A:530, ALA A:527. Terbentuk 4 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino yaitu LEU A:352, VAL A:349, tipe Pi-sigma SER A:353, tipe Pi-Alkyl VAL A:523. Terbentuk 1 ikatan elektrostatik dengan residu asam amino yaitu Pi-cation ARG A:513 dan 1 ikatan unfavorable donor-donor dengan residu asam amino yaitu HIS A:90 (**tabel 2**).

Senyawa sappanone B membentuk 3 ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu PHE A:518, SER A:353, SER A:530. Terbentuk 4 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino yaitu tipe Pi-Alkyl ALA A:516, VAL A:523, LEU A:352, ALA A:527. Sedangkan senyawa protosappanin A membentuk 2 ikatan hidrogen dengan residu asam amino yaitu TYR A:385, LEU A:352. Terbentuk 4 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino yaitu tipe Pi -sigma SER A:353, tipe Pi-Alkyl VAL A:523, VAL A:349, ALA A:527 (**tabel 2**).

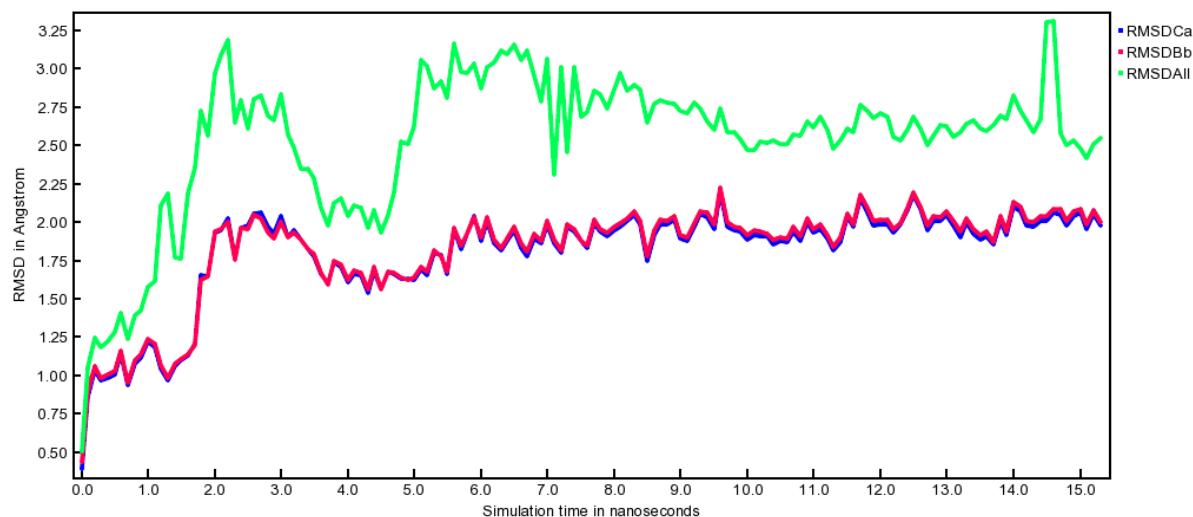
Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, data yang diperoleh menunjukkan validitas yang valid dimana dapat terlihat dari *binding affinity* yang dihasilkan melalui analisis *molecular docking*. Ligan *native* menghasilkan nilai *binding affinity* sebesar -10,3 kkal/mol, sedangkan ketiga ligan uji yaitu *brazilin*, *protosapanin A*, dan *sappanone B* masing-masing memiliki nilai *binding affinity* sebesar -9,2; -9,7; dan -9,3 kkal/mol. Meskipun nilai afinitas ligan uji sedikit lebih rendah jika dibandingkan dengan nilai afinitas ligan *native*, ligan uji tetap menunjukkan potensinya untuk menghambat enzim COX-2. Analisis interaksi yang terjadi pada ligan uji menunjukkan bahwa interaksi hidrofobik merupakan jenis interaksi yang mendominan, hal iki dikarenakan situs aktif COX-2 memiliki banyak residu yang bersifat hidrofobik. Meskipun jumlah total interaksi yang terbentuk antara ligan *native* dan ligan uji relatif lebih sedikit, interaksi yang dihasilkan tetap memiliki potensi untuk menghambat COX-2. Ketiga ligan uji juga tetap mempunyai potensi aktivitas untuk menghambat

COX-2 hanya potensi aktivitasnya tidak sebaik ligan *native*.

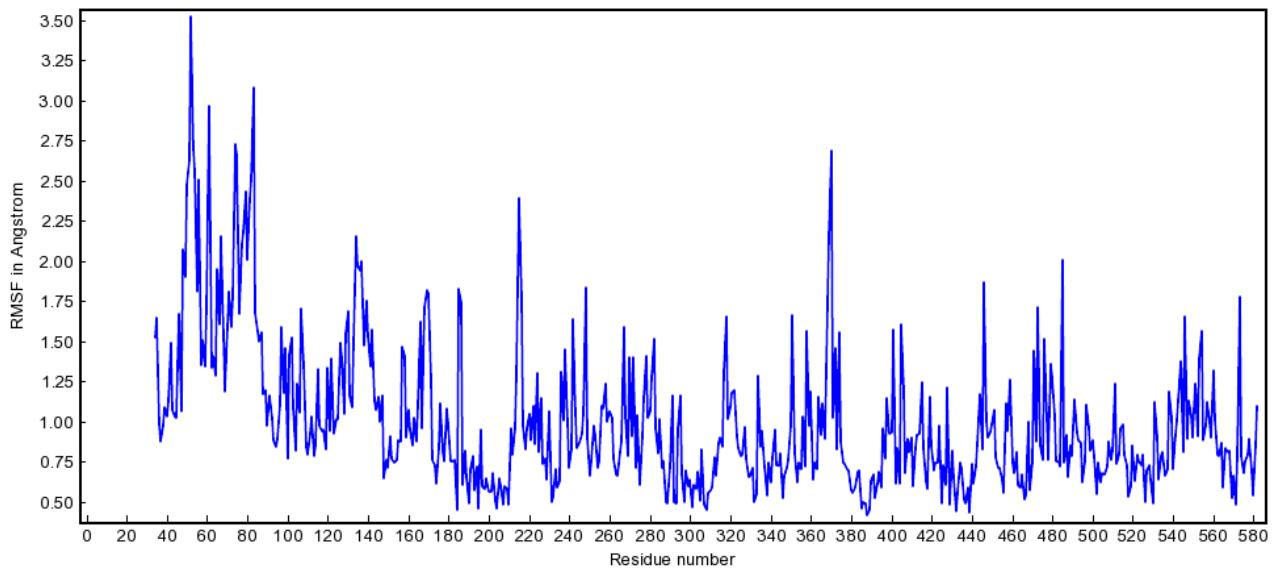
Molecular Dynamic (MD)

Simulasi MD bertujuan untuk mempelajari pergerakan dan interaksi atom dalam sistem molekuler. Simulasi ini memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang sifat fisik dan kimia molekul, termasuk struktur, stabilitas, dinamika, dan reaktivitasnya. Simulasi dinamika molekul dilakukan untuk melihat kestabilan interaksi protein dengan ligan dalam kondisi yang dibuat semirip mungkin dengan fisiologis tubuh manusia dalam rentang waktu tertentu. Berdasarkan penelitian ini, satu senyawa dalam tanaman kayu secang ditambatkan ke protein target menggunakan metode simulasi MD, yaitu YASARA Dynamics. Pada simulasi dinamika molekul, dipilih salah satu dari ketiga ligan uji yaitu ligan uji *Protosappanin A* dengan nilai afinitas ligan sebesar -9,7 dan menunjukkan banyaknya interaksi yang terjadi antara protein dengan ligan uji. Simulasi ini memberikan pemahaman yang lebih mendalam tentang sifat fisik dan kimia molekul, termasuk struktur, stabilitas, dinamika, dan reaktivitasnya. Stabilitas ikatan ligan-protein dapat ditentukan dengan menghitung nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) [14].

RMSD atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan suatu ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan perubahan atau pergerakkan konformasi molekul. Tujuan dilakukan analisis RMSD hasil simulasi dinamika molekul ini adalah untuk menggambarkan seberapa jauh keadaan kompleks protein-ligan berubah tiap waktunya sampai akhir simulasi serta memastikan stabilitas struktur kompleks protein-ligan. Data RMSD dijelaskan dalam bentuk grafik yang diplotkan antara nilai RMSD protein terhadap waktu simulasi [15].



Gambar 2. Grafik RMSD atom *Backbone* protein (merah muda), *Calpha* (biru), dan semua atom berat dalam ligan (hijau) untuk *Protosappanin A* dengan 5KIR selama simulasi MD. Gambar diambil pada interval waktu 100 ns (10.0).



Gambar 3. Grafik Fluktuasi Root Mean Square (RMSF) pada skala waktu yang berbeda

Hasil simulasi menunjukkan bahwa senyawa uji yang terikat pada reseptor stabil selama simulasi yang ditunjukkan dengan grafik RMSD yang dibawah 2 Å selama simulasi [14]. Peningkatan nilai RMSD mengindikasikan bahwa struktur protein atau target mulai membuka dan ligan mulai mencari posisi pengikatan yang sesuai dengan target. Namun, jika fluktuasi RMSD terlalu tinggi, hal ini dapat menandakan adanya pelepasan ikatan pada protein atau reseptor, yang berpotensi menyebabkan denaturasi protein. sedangkan nilai RMSD yang stabil menandakan bahwa konformasi maksimal protein terikat dengan ligan mulai tercapai sehingga protein mampu mempertahankan posisinya. Selain itu,

adanya interaksi antar residu membuat protein cenderung mempertahankan strukturnya [16].

Berdasarkan hasil grafik nilai RMSD dari atom *backbone* ligan uji terhadap reseptor COX-2 (protein 5KIR) selama 100ns pada **Gambar 2**, diperoleh hasil bahwa pada ligan uji *protosappanin A* terjadi peningkatan nilai RMSD diawal dan stabil pada waktu 60ns (6.0) disekitar rentang 1.5-2.0 Å. Berdasarkan hasil analisis RMSD fluktuasi yang mengalami kenaikan menunjukkan struktur protein mulai terbuka dan kestabilan fluktuasi menunjukkan bahwa ligan telah mencapai kepada konformasi yang stabil berikatan dengan protein.

RMSF atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi adalah ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensi. RMSF dihitung terhadap masing-masing residu asam amino penyusun protein dan melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu asam amino selama simulasi berlangsung. Tujuan dilakukan analisis RMSF dari hasil simulasi dinamika molekul adalah untuk melihat fleksibilitas residu asam amino pada sisi aktif [17].

Hasil residu dengan fluktuasi rendah menunjukkan bahwa dinamika residu tersebut relatif tenang, mengindikasikan adanya stabilitas dalam ikatan atau interaksinya. Hal ini menandakan bahwa residu tersebut berperan aktif dalam situs pengikatan antara ligan dan reseptornya. Sebaliknya, residu dengan fluktuasi tinggi mencerminkan ketidakstabilan interaksi, yang disebabkan oleh pergerakan atau perubahan posisi yang signifikan selama simulasi dinamika molekuler (MD) berlangsung [18].

Berdasarkan hasil grafik nilai RMSF ligan uji terhadap reseptor COX-2 (protein 5KIR) hasil simulasi dinamika molekuler selama 100ns. Diperoleh hasil bahwa pada ligan uji *protosappanin A* residu yang rata-rata mengalami fluktuasi rendah dengan nilai rata-rata sebesar 1.0 Å. Akan tetapi, secara keseluruhan ligan uji memiliki kemampuan untuk mengikat secara kuat dengan residu asam amino pada situs aktif pengikatan pada reseptor COX-2 (protein 5KIR).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dari ketiga senyawa kayu secang yang memiliki afinitas paling rendah terhadap enzim COX-2 yaitu *protosappanin A* dengan nilai *binding affinity* sebesar -9,7 kkal/mol. Hasil simulasi *molecular dynamic* menggambarkan bahwa *protosappanin A* membentuk interaksi kompleks yang stabil dengan enzim COX-2. Stabilitas ditunjukkan dengan nilai RMSD < 2 Å selama 100 ns dan fluktuasi residu yang rendah pada RMSF dan mengindikasikan bahwa kompleks ligan-reseptornya memiliki konformasi yang menguntungkan sebagai penghambat enzim COX-2. Temuan ini memerlukan validasi lebih lanjut untuk memastikan potensinya. Oleh karena itu, penelitian ini dapat menjadi

landasan awal yang kuat untuk melakukan penelitian lanjutan melalui uji *in vitro* dan *in vivo*, guna mendukung potensi terapeutik yang menjanjikan dan membuka peluang baru dalam pengembangan pengobatan yang lebih efektif.

Bahan dan Metode

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah PC, aplikasi YASARA, aplikasi PyRx, dan aplikasi *Discovery Studio*.

Bahan

File protein (5KIR.pdb), file senyawa *Brazilin* (CID : 73384), *Sappanone B* (CID : 13888976) & *Protosappanin A* (CID : 128001)

Metode

Preparasi Protein Ligan dengan YASARA

Struktur 3D Protein target dengan kode 5KIR diunduh kedalam file Protein Data Bank (PDB) melalui situs *Research Collaboratory For Structural Bioinformatics* (RCSB) (<https://www.rcsb.org/pdb/>). Selanjutnya, dilakukan penghilangan molekul air dan residu dari struktur protein yang dapat mempengaruhi analisis interaksi nantinya. Kemudian ditambahkan hidrogen polar dan penyesuaian pH (pH 7,4). *Ligan native* pada protein target dihilangkan untuk menyediakan ruang, sehingga koordinat ruang dan *binding site* sebagai bahan *docking* dapat diketahui. *Ligan native* yang telah terpisah dengan protein target disimpan dengan format.PDB dan siap digunakan untuk validasi metode. Sampel senyawa tambahan dari kayu secang seperti *brazilin*, *sappanone B*, dan *protosappanin A* diunduh file SDF melalui situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Selanjutnya minimalisasi energinya.

Validasi Metode Molecular Docking dengan PyRx

Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan mendockingskan kembali (*redocking*) *ligan native* pada protein target yang telah dihilangkan *ligan native*-nya. *Molecular docking ligand native* bertujuan untuk menentukan konformasi 3D *ligan native* terhadap protein target dengan memperhatikan koordinat pusat dan besaran *gridbox* dari *binding site* dalam satuan *angstrom* (Vina) atau

number of points (AutoDock). Hasil *docking* yang diperoleh disejajarkan dengan konformasi *ligan native* hasil pengukuran kristalografi yang dinyatakan dalam nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Parameter yang dilihat yaitu nilai *binding affinity* yang dihasilkan.

Visualisasi Hasil Molecular Docking

Proses visualisasi dilakukan untuk melihat interaksi yang terjadi berdasarkan pada hasil *docking* antara enzim COX-2 dan *ligan* senyawa. Visualisasi ditampilkan dalam bentuk 2D dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio*.

Analisis Data

Hasil energi ikatan yang dihasilkan berupa nilai energi ikatan yang memperlihatkan ikatan antara senyawa uji dengan protein target. Analisis hasil *molecular docking* dilihat dari *Binding affinity*. *Binding affinity* adalah nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor dalam satuan kkal/mol. Nilai *binding affinity* yang lebih negatif (mendekati -12 kkal/mol) menunjukkan afinitas yang lebih kuat. Semakin kuat ikatan *ligan* terhadap reseptor dinyatakan dengan semakin negatif energi suatu ikatan maka ikatan yang terjadi antara senyawa uji dengan protein target semakin kuat dan stabil. Selain itu, *molecular docking* juga memberikan data pose ikatan dan RMSD nilai yang digunakan untuk menentukan apakah prediksi modus ikatan tersebut berhasil ($\leq 2\text{\AA}$). Semakin besar penyimpangan, semakin besar pula kesalahan pada prediksi interaksi *ligan* dengan protein. Jarak ikatan antar *ligan* dan protein yang pendek maka ikatan yang dihasilkan menjadi semakin kuat.

Molecular Dynamic

Satu ligan uji terbaik yang mempunyai nilai energi bebas ikatan terkecil dan residu asam amino yang mirip dengan ligan asli. Proses simulasi MD dilakukan menggunakan YASARA terhadap 1 senyawa uji dengan afinitas terbaik untuk memperoleh data kestabilan interaksi dari waktu ke waktu. Pada simulasi MD digunakan ligan uji *Protosappanin A* yang sudah di dockingkan dengan protein 5KIR. Data yang diperoleh kemudian dianalisis nilai RMSD dan RMSF-nya.

Daftar Pustaka

1. Adiyasa MR, Meiyanti. Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia: distribusi dan faktor demografis yang berpengaruh. *Jurnal Biomedika dan Kesehatan*. 2021;4(3):130-138.
2. Rahmasiah, Shabran H, Washliaty S. Evaluasi Penggunaan Obat Tradisional Berdasarkan Dimensi Ketepatan Cara Penggunaan. *Jurnal Farmasi IKIFA*. 2024;3(2):83-94.
3. Musyaffa MSI, Novanto Y, Rahman MA, Ahmad HB, Besse FM, Jati B. IndoHerb: Indonesia medicinal plants recognition using transfer learning and deep learning. *Heliyon*. 2024;10(2024):1-16.
4. Bare Y, Agustina DK, Apriani HR, Gabriella CK, Margaretha RWGL, Dewi RTS. Prediksi Asam Kuinat Sebagai Anti-Inflamasi Terhadap COX-2 Secara Virtual. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*. 2019;4:124–129.
5. Ramadhani R, Sumiwi SA. Aktivitas antiinflamasi berbagai tanaman diduga berasal dari flavonoid. *Farmaka*. 2016;14(2):111–122.
6. Desai SJ, Prickril B, Rasooly A. Mechanisms of Phytonutrient Modulation of Cyclooxygenase-2 (COX-2) and Inflammation Related to Cancer. *Nutr Cancer*. 2018;70(3):350–75.
7. Sari R, Suhartati. Secang (*Caesalpinia sappan L.*): Tumbuhan Herbal Kaya Antioksidan. *Info Teknis EBONI*. 2016;13(1):57–67.
8. Vij T. A narrative review on Sappan wood (*Caesalpinia sappan L.*) Twinkle Vij. *The Pharma Innovation Journal*. 2023;12(5):2861–2865.
9. Vij T, Anil PP, Shams R, Dash KK, Kalsi R, Pandey VK, et al. A Comprehensive Review on Bioactive Compounds Found in *Caesalpinia sappan*. *Molecules*. 2023;28(17):1-22
10. Sucita RE, Hamid IS, Fikri F, Purnama MTE. Secang Wood Ethanol Extract (*Caesalpinia sappan L.*) Topically Effective on Collagen Density During Wound Healing in Albino Rats. *Jurnal Medik Veteriner*. 2019;2(2):119–126.

11. Putri TZAD, Findrayani RP, Isrul M, Lolok N. Studi Molecular Docking Senyawa Kimia dari Herba Putri Malu (*Mimosa pudica*) Terhadap Inhibisi Enzim A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Melitus. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 2024;3(4):225-233
12. Pratama AB, Rina H, Hery MA. Studi Docking Molekuler Senyawa Dalam Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* H.) Dan Senyawa Turunan Miristisin Terhadap Target Terapi Kanker Kulit. *Majalah Farmaseutika*. 2021;17(2):233-242.
13. Priastari AAIM. Uji In Silico Molecular Docking Pinostrobin Sebagai Agen Anti-Inflamasi. *Acta Holistica Pharmaciana*. 2022;4(2):48–56.
14. Sargsyan K, Grauffel C, Lim C. How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. *J. Chem. Theory Comput.* 2017;13(4):1518–1524.
15. Yusuf M, Bayu SWP, Umi B, Shabarni G, Ukun MSS. Studi In Silico Gadolinium(III)-Diethylene Triamine Pentaacetic AcidFolat Dan Modifikasinya Terhadap Reseptor Folat Sebagai Senyawa Pengontras Untuk Deteksi Kanker. *Chimica et Natura Acta*. 2021;9(3):90-97.
16. Prasetiawati R, Alfina D, Deden WS. Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Aktif Akar Pakis Tangkur (*Polyodium feei* METT) Sebagai Inhibitor Enzim Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS). Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian. 2023;3:390-400.
17. Wicaksono RG, Hariono M, Istyastono EP. Molecular dynamics studies of full human matrix metalloproteinase 9 liganded with N-hydroxy-2-[(4-phenylphenyl)sulfonyl-propan-2-yloxyamino]acetamide. *J. Pharm. Sci. Community*. 2020;17(1):1-7.
18. Mardianingrum R, Bachtiar KR, Susanti S, Aas N, Ruswanto R. Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2Ethyl3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY J Penelitian Kimia*. 2021;17(1):83-95.