



**LAPORAN KEMAJUAN
SKIM RISET DOSEN PEMULA FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS**

JUDUL PENELITIAN

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIINFLAMASI TINOKRISPOSID PADA TINGKAT
MOLEKULER**

Oleh:

1	apt. Annisa Fauzana, M.Farm.	1024049004	Ketua
2	apt. Elsa Badriyya, M.Si.	0025049402	Anggota
3	Wildatul Latifah	1811011031	Anggota
4	Prof. Dr. apt. Dachriyanus	0021016908	Pembimbing

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS**

PADANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN
PROPOSAL RISET DOSEN PEMULA FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS ANDALAS

Judul Penelitian : Studi In Silico Aktivitas Antiinflamasi Tinokrisposid pada Tingkat Molekuler

Ketua Peneliti:

1. Nama Lengkap : apt. Annisa Fauzana, M.Farm.
2. NIDN : 1024049004
3. ID Sinta : 6102895
4. ID Scopus : 57203557139
5. Jabatan Fungsional : Fungsional umum
6. Program Studi/Fakultas : Farmasi/Farmasi
7. Nomor Hp : 085261248604
8. Alamat e-mail : annisafauzana90@gmail.com

Anggota Peneliti 1

1. Nama Lengkap : apt. Elsa Badriyya, M.Si.
2. NIDN : 0025049402
3. Program Studi/Fakultas : Farmasi/Farmasi

Anggota peneliti 2

1. Nama Lengkap : Wildatul Latifah
2. NIM : 1811011031
3. Program Studi/Fakultas : Farmasi/Farmasi

Pembimbing

1. Nama Lengkap : Prof. Dr. apt. Dachriyanus
2. NIDN : 0021016908
3. Jabatan Fungsional : Guru Besar
4. Program Studi/Fakultas : Farmasi/Farmasi

Biaya Penelitian : Rp. 15.000.000

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Andalas

Padang, 20 Juni 2021
Ketua Peneliti



Dr. apt. Meri Susanti, M.Farm.
NIP. 197705282008122002

apt. Annisa Fauzana, M.Farm.
NIP. 19900424 201903 2 021

SURAT PERJANJIAN PELAKSANAAN
DANA PENELITIAN PENGEMBANGAN DOSEN PEMULA
DANA DIPA FAKULTAS FARMASI
TAHUN ANGGARAN 2021

Nomor : 01/UN16.10.D/PJ.01./2021

Pada hari ini Senin tanggal Tiga bulan Mei tahun Dua Ribu Dua Puluh Satu, kami yang bertanda tangan di bawah ini :

1. **Prof. apt. Fatma Sri Wahyuni, Ph.D** : Dekan Fakultas Farmasi Universitas Andalas
Alamat : Gedung Fakultas Farmasi Universitas Andalas Kampus Limau Manis Padang selanjutnya disebut **PIHAK PERTAMA**
2. **apt. Annisa Fauzana, S.Farm, M.Farm** : Ketua Pelaksana Tim Peneliti Fakultas Farmasi Universitas Andalas bertindak untuk dan atas nama diri sendiri dan atas nama anggota pelaksana penelitian selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**

PIHAK PERTAMA dan **PIHAK KEDUA** secara bersama-sama telah bersepakat mengadakan Perjanjian Pelaksanaan Dana Penelitian DIPA Fakultas Farmasi Universitas Andalas sesuai dengan SK Dekan Nomor 13/ XIII/ D-DPPD/FFARMASI-2021 Tanggal 03 Mei 2021 dengan ketentuan dan syarat-syarat yang diatur dalam pasal-pasal berikut ;

Pasal 1
TUGAS PEKERJAAN

PIHAK PERTAMA memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA** dan **PIHAK KEDUA** menerima tugas tersebut untuk melaksanakan penelitian dalam program Dana Penelitian DIPA Fakultas Farmasi Universitas Andalas dengan judul :

“Studi In Silico Aktivitas Antiinflamasi Tinokrisposid Pada Tingkat Molekuler”

Pasal 2
PENDANAAN DAN PEMBAYARAN PENELITIAN

1. **PIHAK PERTAMA** memberikan dana untuk kegiatan sebagaimana dimaksud pada **PASAL 1** sebesar **Rp. 15.000.000,- (lima belas juta rupiah)** yang bebaskan kepada DIPA (Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran) Fakultas Farmasi Universitas Andalas Tahun

pelaksanaan/lokasi/ketua pelaksana penelitian yang telah disepakati dalam kontrak ini, maka **PIHAK KEDUA** harus menyampaikan permohonan perubahan tersebut kepada **PIHAK PERTAMA** secara tertulis.

- 2) Perubahan pelaksanaan/lokasi/ketua pelaksana penelitian, sebagaimana dimaksud ayat (1), dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan dari **PIHAK PERTAMA**.
- 3) **PIHAK PERTAMA** dapat mengubah isi kontrak yang telah disepakati bila diperlukan dan **PIHAK KEDUA** bersedia menandatangani kembali kalau ada perubahan.

Pasal 10 LAIN-LAIN

- 1) Hak Kekayaan intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan penelitian, sebagaimana dimaksud pada pasal 1, diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan-peraturan dan perundang-undangan yang berlaku.
- 2) Hasil penelitian berupa peralatan dan/atau barang yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Institusi/Lembaga/Masyarakat melalui Surat Keterangan Hibah.
- 3) Semua perselisihan dalam bentuk apapun yang berhubungan dengan pelaksanaan kontrak yang tidak dapat diselesaikan dalam musyawarah, maka akan diselesaikan melalui Pengadilan Negeri Padang, sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
- 4) Hal yang belum diatur dalam kontrak ini akan ditentukan oleh kedua belah pihak secara musyawarah.

Pasal 11 PENUTUP

Demikianlah surat perjanjian pelaksanaan penugasan penelitian ini dibuat pada hari, tanggal, bulan dan tahun yang tersebut diatas, dalam 2 (dua) rangkap yang sama bunyinya dan mempunyai ketentuan yang sama, dua diantaranya bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya materai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**

PIHAK PERTAMA

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Andalas



Prof. Dr. Fatma Sri Wahyuni, Apt
NIP. 19541122 198503 1 002

PIHAK KEDUA

Ketua Peneliti



apt. Annisa Fauzana, S.Farm, M.Farm
NIP. 19900424 201903 2 021

pelaksanaan/lokasi/ketua pelaksana penelitian yang telah disepakati dalam kontrak ini, maka **PIHAK KEDUA** harus menyampaikan permohonan perubahan tersebut kepada **PIHAK PERTAMA** secara tertulis.

- 2) Perubahan pelaksanaan/lokasi/ketua pelaksana penelitian, sebagaimana dimaksud ayat (1), dapat dibenarkan apabila telah mendapat persetujuan dari **PIHAK PERTAMA**.
- 3) **PIHAK PERTAMA** dapat mengubah isi kontrak yang telah disepakati bila diperlukan dan **PIHAK KEDUA** bersedia menandatangani kembali kalau ada perubahan.

Pasal 10 LAIN-LAIN

- 1) Hak Kekayaan intelektual yang dihasilkan dari pelaksanaan penelitian, sebagaimana dimaksud pada pasal 1, diatur dan dikelola sesuai dengan peraturan-peraturan dan perundang-undangan yang berlaku.
- 2) Hasil penelitian berupa peralatan dan/atau barang yang dibeli dari kegiatan ini adalah milik Negara yang dapat dihibahkan kepada Institusi/Lembaga/Masyarakat melalui Surat Keterangan Hibah.
- 3) Semua perselisihan dalam bentuk apapun yang berhubungan dengan pelaksanaan kontrak yang tidak dapat diselesaikan dalam musyawarah, maka akan diselesaikan melalui Pengadilan Negeri Padang, sesuai dengan ketentuan yang berlaku.
- 4) Hal yang belum diatur dalam kontrak ini akan ditentukan oleh kedua belah pihak secara musyawarah.

Pasal 11 PENUTUP

Demikianlah surat perjanjian pelaksanaan penugasan penelitian ini dibuat pada hari, tanggal, bulan dan tahun yang tersebut diatas, dalam 2 (dua) rangkap yang sama bunyinya dan mempunyai ketentuan yang sama, dua diantaranya bermaterai cukup sesuai dengan ketentuan yang berlaku, dan biaya materai dibebankan kepada **PIHAK KEDUA**

PIHAK PERTAMA

Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Andalas



Prof. Dr. Fatma Sri Wahyuni, Apt
NIP. 19541122 198503 1 002

PIHAK KEDUA

Ketua Peneliti

apt. Annisa Fauzana, S.Farm, M.Farm
NIP. 19900424 201903 2 021

RINGKASAN

Tinokrisposid merupakan senyawa golongan furanoditerpenoid yang diisolasi dari *Tinospora crispa*, yang secara turun temurun telah digunakan pada pengobatan tradisional. Pada penelitian sebelumnya, didapatkan hasil bahwa tinokrisposid dapat menurunkan kadar NO yang disekresikan oleh sel makrofag RAW 264,7 yang distimulasi dengan LPS secara *in vitro* dengan penurunan lebih dari 70% dan nilai IC_{50} 46,92 μ M. Untuk studi lebih lanjut, diperlukan pemahaman mengenai kemungkinan reseptor dari tinokrisposid dan jalur mekanisme molekulernya yang berperan pada penurunan kadar NO dan mediator pro inflamasi lainnya. Studi awal yang dilakukan untuk memahami karakteristik dan kemungkinan aktivitas farmakologi/biologi suatu senyawa adalah dengan metode *in silico*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ikatan tinokrisposid dengan enzim inisiasi proses inflamasi yaitu 5-LOX, COX-2, MMP-1, dan MMP-2 dan jalur mekanisme melalui NF- κ B, AKT dan MAPK sebagai kemungkinan mekanisme antiinflamasi. Penelitian ini dilakukan dengan metode docking yang menggunakan empat perangkat lunak, yaitu GaussView 5.0.8, AutodockVina, AutodockTools dan MolDock yang masing-masing digunakan untuk merancang struktur dan konformasi tinokrisposid, mempersiapkan proses docking, dan analisis. Kesimpulan penelitian diambil berdasarkan energi ikatan, jumlah ikatan hidrogen, ikatan van der Waals, dan residu asam amino target ikatan tinokrisposid. Hasil penelitian ini kemudian dijadikan dasar penelitian lanjutan secara *in-vitro* dan *in-vivo*. Studi diawali dengan penentuan karakter farmakokinetika dan toksisitas tinokrisposid. Kajian ini dilakukan menggunakan *Swiss ADME tool* untuk melihat karakteristik yang sesuai dengan *Lipinski's rules of five*. Tinokrisposid memenuhi kaidah aturan yang memuaskan.

DAFTAR ISI

Halaman Sampul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kontrak Penelitian	iii
Ringkasan	vi
Daftar Isi	vii
BAB I. Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
BAB II. Peta Jalan Penelitian	3
BAB III. Tinjauan Pustaka	4
BAB IV. Metode Penelitian	8
BAB V. Hasil Sementara	10
Daftar Pustaka	11

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat bahan alam menjadi salah satu pilihan pengobatan, bahkan di era modern seperti saat ini. Masyarakat saat ini cenderung untuk kembali ke alam (*back to nature*) dan menjadikan obat herbal sebagai pengobatan yang mereka percaya mampu mengatasi permasalahan kesehatan. Lebih amannya obat yang berasal dari bahan alam dibandingkan obat sintesis menjadi salah satu pemikiran masyarakat terhadap kecenderungan ini. Selain itu, keterbatasan dan efek tidak diinginkan dari obat-obatan sintetis tersebut mendorong penggunaan obat herbal sebagai alternatif terapi (Salim dan Munadi, 2017).

Salah satu bahan alam yang banyak digunakan untuk pengobatan secara tradisional adalah brotowali (*Tinospora crispa*), yang efek farmakologinya dipengaruhi oleh kandungan senyawanya. Kandungan metabolit sekunder *T. crispa* terdiri dari golongan senyawa alkaloid, flavonoid, flavon glikosida, triterpenoid, diterpenoid dan diterpene glikosida, furanoditerpenoid, lakton, sterol, lignan, dan nukleosida, yang senyawa-senyawa bertanggung jawab terhadap berbagai efek farmakologisnya (Ahmad et al, 2016).

Tinocrisposid merupakan senyawa furanoditerpenoid yang diisolasi dari *T. crispa* yang berdasarkan penelitian sebelumnya memberikan aktivitas antiinflamasi dengan menurunkan produksi nitrit oksida (NO) secara pada sel RAW 264,7 secara in vitro. Penurunan kadar NO yang dihasilkan linear dengan peningkatan konsentrasi tinokrisposid yang diberikan pada sel uji yang telah diinduksi dengan LPS, di mana hambatan produksi NO mencapai 73% dan IC₅₀ 46 µM (Adnan et al, 2018). Berdasarkan hasil ini, tinokrisposid memiliki potensi sebagai senyawa antiinflamasi baru yang diisolasi dari bahan alam. Walaupun didapatkan hasil bahwa tinokrisposid mampu menurunkan produksi NO, mekanisme aksi tingkat molekulernya belum diketahui secara pasti. Pemahaman ini akan menjadi dasar untuk studi in vitro lebih lanjut dan studi in vivo efek antiinflamasi tinokrisposid.

Terdapat beberapa ligan yang menjadi target senyawa antiinflamasi dalam menurunkan produksi NO oleh sel-sel imun, seperti enzim 5-LOX, COX-2, MMP-1 dan MMP-2. Interaksi senyawa dengan residu asam amino enzim-enzim ini terjadi melalui ikatan hidrogen yang memicu beberapa jalur molekuler dalam memberikan efek antiinflamasi (Silva et al, 2021), seperti jalur inhibisi NF-kB, protein kinase B (AKT), dan

mitogen-activated protein kinase (MAPK) merupakan beberapa jalur molekuler (Gunalan et al 2014; Aziz et al, 2018). Aktivasi jalur molekuler tersebut akhirnya memengaruhi produksi mediator inflamasi seperti *cytokines* (interferon, interleukin, dan TNF- α), *chemokines* (monocyte chemoattractant protein 1), dan *eicosanoids* (prostaglandin dan leukotriene). Kemampuan dalam memengaruhi mediator inflamasi ini menjadi syarat suatu senyawa berpotensi menjadi agen antiinflamasi (Aziz et al 2018).

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah tinokrisposid mampu berikatan dengan ligan 5-LOX, COX-2, MMP-1, dan MMP-2 sebagai mekanisme antiinflamasinya?
2. Apakah tinokrisposid memengaruhi jalur NF-kB, AKT dan MAPK dalam mekanismenya mengatur produksi mediator inflamasi secara *in silico*?

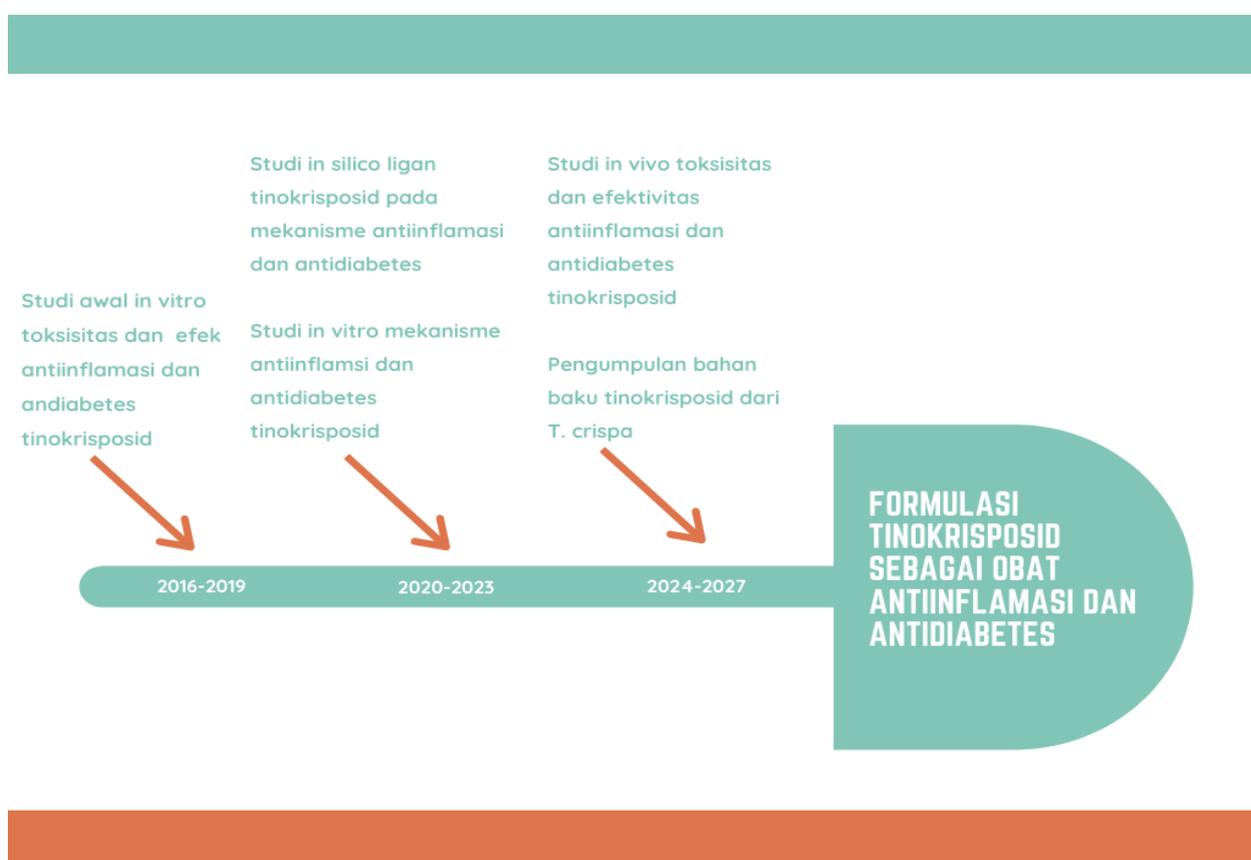
1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui aktifitas antiinflamasi tinokrisposid pada tingkat molekuler.
2. Mengetahui ligan dan jalur molekuler aktivasi efek antiinflamasi tinokrisposid.
3. Menyediakan panduan penelitian lanjutan dalam evaluasi kemungkinan tinokrisposid dan *Tinospora crispa* sebagai antiinflamasi dari bahan alam.
4. Menunjang bahan ajar mekanisme ikatan obat antiinflamasi dengan reseptornya untuk penemuan dan pengembangan obat.

BAB II. PETA JALAN PENELITIAN

Penelitian ini bertujuan untuk mempersiapkan tinokrisposid sebagai kandidat obat yang diisolasi dari bahan alam. Selain itu, penggunaan *T. crispa* sebagai herbal medicine juga dapat dipersiapkan karena salah satu kandungan kimianya adalah tinokrisposid. Penelitian ini menunjang salah satu misi Universitas Andalas untuk menjadi yang terdepan dalam pengembangan obat/kosmetik yang bersumber dari bahan alam. Dari penelitian ini didapatkan informasi mekanisme kerja antiinflamasi tinokrisposid tingkat molekuler secara in silico yang menjadi acuan dalam penelitian in vitro dan in vivo selanjutnya. Kemudian juga dapat dipersiapkan informasi mengenai absorpsi, distribusi, dan metabolisme tinokrisposid. Peta jalan penelitian dapat dilihat pada skema di bawah ini:



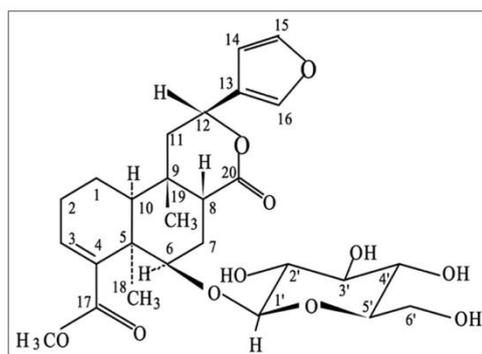
Gambar 1. Road Map Penelitian Tinokrisposid

BAB III. TINJAUAN PUSTAKA

3.1 *Tinospora crispa*

T. crispa merupakan tumbuhan merambat yang banyak hidup di wilayah Asia Tenggara, termasuk Indonesia. *T. crispa* secara turun-temurun telah digunakan sebagai obat tradisional untuk berbagai penyakit (Adnan et al, 2018). Karena penggunaannya sebagai obat yang cukup luas, penelitian mengenai efektivitas *T. crispa* juga banyak dilakukan dari berbagai negara. Efek farmakologis *T. crispa* tidak lepas dari kandungan metabolit sekundernya, seperti golongan senyawa alkaloid, flavonoid, flavon glikosida, triterpenoid, diterpenoid dan diterpene glikosida, furanoditerpenoid, lakton, sterol, lignan, dan nukleosida (Ahmad et al, 2016). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, *T. crispa*, baik simplisia, ekstrak, dan senyawa hasil isolasinya, mampu memberikan efek antioksidan (Zulkefli et al, 2013), penurunan produksi NO pada mekanisme antiinflamasi (Adnan et al, 2018), penurunan kadar glukosa darah (Ruan et al, 2013), peningkatan sensitivitas insulin melalui induksi diferensiasi sel adiposit (Adnan et al, 2018), antiproliferasi (Ibrahim et al, 2011), imunomodulator (Abood et al, 2014; Ahmad et al, 2018), antipiretik, hepatoprotektor (Rakib et al, 2020), dan manajemen COVID-19 (Rakib et al, 2020).

3.2 Tinokrisposid



Gambar 2. Struktur Tinokrisposid

Tinokrisposid merupakan salah satu kandungan senyawa dalam *T. crispa* yang termasuk ke dalam golongan furanoditerpenoid (Gambar 2). Senyawa ini diisolasi dari fraksi diklorometana *T. crispa* dan menjadi senyawa yang memengaruhi efek farmakologis *T. crispa*. Beberapa aktivitas tinokrisposid yang telah diketahui adalah antimalaria,

antiinflamasi (Adnan et al, 2018; Adnan et al, 2019), dan peningkatan diferensiasi sel adiposit (Adnan et al, 2018).

3.3 Inflamasi dan Senyawa Antiinflamasi

Inflamasi merupakan respon normal tubuh terhadap stimulus benda asing yang efeknya dapat bersifat lokal maupun secara umum. Salah satu pemicu inflamasi adalah enzim siklooksigenase (COX) yang merupakan protein membrane yang bertanggung jawab pada biosintesis prostaglandin (Khatri et al, 2017). Selama respon inflamasi terjadi, sel imun menghasilkan banyak tipe mediator, seperti *cytokines* (interferons, interleukins, dan TNF- α), *chemokines* (monocyte chemoattractant protein 1), dan *eicosanoids* (prostaglandins dan leukotrienes). Mediator inflamasi ini bertanggung jawab untuk mengeliminasi pathogen yang menyerang dan memulai proses. Kegagalan dalam menyelesaikan proses inflamasi akut mengakibatkan berkembangnya inflamasi kronis, yang ditandai dengan meningkatnya mediator pro inflamasi dan berefek pada kerusakan. Hambatan pada produksi atau fungsi sitokin dan mediator inflamasi penting dalam mengatasi (Aziz et al, 2018).

Inflamasi terjadi karena proses kompleks oleh sel imun dan non imun. Tujuan utama dari reaksi inflamasi adalah untuk mengeliminasi stimulus yang membahayakan bagi tubuh, yang pada umumnya disebabkan melalui kerja sel imun, seperti sel NK dan makrofag, dengan mengaktifasi berbagai jalur signaling. Urutan kejadian molekuler pada sel inflamasi mengakibatkan produksi mediator, di mana beberapa mediator ini adalah NO dan TNF- α , yang bersifat sitotoksik tidak hanya terhadap senyawa pathogen tetapi juga sel inang yang berujung pada kerusakan jaringan (Aziz et al, 2018).

Obat antiinflamasi yang saat ini digunakan secara luas adalah golongan non-steroidal antiinflammation drugs (NSAIDs) yang bekerja dengan memengaruhi enzim COX sehingga menghambat produksi prostanoide dari asam arakidonat (Azizian et al, 2016). Enzim COX terdiri dari dua isomer yaitu COX-1 dan COX-2 dimana COX-1 memberikan efek perlindungan gastrointestinal dan COX-2 mampu memediasi inflamasi. Karena senyawa antiinflamasi yang tersedia memiliki selektivitas yang lebih tinggi terhadap COX-1, efek samping obat antiinflamasi pada saluran gastrointestinal hampir tidak dapat dihindarkan. Efek samping senyawa NSAIDs pada saluran pencernaan inilah yang menjadi salah satu faktor utama masih pentingnya dilakukan penemuan obat antiinflamasi baru yang tidak hanya poten, tetapi juga rendah efek samping. Salah satu faktor yang

berkontribusi pada efek saluran cerna obat-obat antiinflamasi adalah gugus karboksilat pada kebanyakan NSAIDs, sehingga modifikasi gugus ini merupakan cara untuk menurunkan efek samping obat tetapi dengan usaha tanpa menghilangkan efektivitasnya (Palkar et al, 2014).

Obat-obat antiinflamasi diantaranya bekerja secara molekuler dengan menghambat sintesis dan ekspresi iNOS dan produksi NO; menetralkan ROS; menghambat produksi ROS dan aktivasi enzim antioksidan; menghambat produksi dan pelepasan; menekan ekspresi sitokin proinflamasi; menghambat jalur NF- κ B, protein kinase B (AKT), dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). Selain itu, senyawa antiinflamasi juga bekerja dengan mencegah ikatan ATP dengan *spleen tyrosine kinase* (Syk) atau *proto-oncogene tyrosine-protein kinase* (Src) yang dapat dikonfirmasi melalui analisis docking.

3.4 Nitrit Oksida

Nitrit Oksida atau NO dalam darah dihasilkan oleh sel endothelium di pembuluh darah. Nitrit oksida berperan penting dalam mengatur tekanan darah dengan merelaksasi pembuluh darah (Saseen dan MacLaughlin, 2019). Nitrit Oksida dengan fungsinya untuk merelaksasikan pembuluh darah juga dikenal sebagai EDRF (*Endothelium Derived Relaxation Factor*). EDRF merupakan senyawa-senyawa endogen yang dapat menyebabkan relaksasi pada pembuluh dengan mengaktifkan senyawa guanilat sikkase dan meningkatkan guanilat monofosfat siklis (cGMP) (Butler dan Nicholson, 2003).

NO sebagai EDRF disintesis dengan bantuan enzim Nitrit Oksida Sintetase (NOS) melalui transformasi asam amino L-arginin dari jalur *L-Arginin-nitric oxide*. Disfungsi dari sel endotel yang merupakan penghasil NO dapat menyebabkan penurunan sintesa NO (Sargowo, 2015). Pada pasien hipertensi essensial terjadi penurunan kadar NO dan kerusakan pada sel endotel yang mengatur vasodilatasi pembuluh darah (Ahmad et al, 2018). Disfungsi sel endotel dapat disebabkan stress oksidatif oleh ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Hermann et al, 2006; Sargowo, 2015) yang mengakibatkan gangguan profibrinolitik dan berujung pada trombogenesis serta pembentukan dinding vaskular yang tidak normal. Selain itu, kadar glukosa darah yang sangat tinggi di dalam pembuluh darah dapat meningkatkan apoptosis pada karena peningkatan produksi komponen matriks seperti kolagen, fibrinolektin, protein prokoagulan, farktor jaringan, dan penurunan potensi proliferasi, migrasi serta fibrinolitik (Sargowo, 2015).

Penurunan kadar NO, dapat diatasi baik dengan terapi farmakologi maupun secara nonfarmakologi. Aktivitas fisik sebagai terapi nonfarmakologi dapat meningkatkan kadar NO plasma darah dengan meningkatkan fungsi dari sel endotel itu sendiri. Kadar NO dapat ditingkatkan dengan pemberian L-Arginin sebagai sumber nitrogen dalam proses sintesis NO (Ahmad et al, 2018). Selain itu, antioksidan juga dapat membantu untuk meningkatkan kadar NO (Armenia et al, 2019).

3.5 Bioinformatika

Bioinformatika adalah bentuk dari pengaplikasian alat komputasi yang ditujukan untuk menginterpretasikan data-data biologi. Bioinformatika merupakan kajian yang memadukan berbagai macam disiplin ilmu yang meliputi ilmu biologi molekuler, matematika, fisika, dan ilmu komputer yang berperan penting untuk manajemen data dalam biologi modern dan kedokteran (Bayat, 2002). Dewasa ini kajian bioinformatika tidak lepas dari perkembangan biologi molekuler modern yang ditandai dengan kemampuan manusia untuk memahami genom, yaitu cetak biru dari informasi genetik yang menentukan sifat setiap makhluk hidup yang disandi dalam bentuk pita molekul DNA.

Pada perkembangannya bioinformatika juga dijadikan sebagai sarana didalam studi penemuan obat yang biasanya dilakukan dengan menemukan senyawa/ zat yang dapat menekan perkembangbiakkan suatu agent penyebab penyakit. Perkembangbiakkan agent penyakit tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti enzim-enzim yang diperlukan untuk perkembangbiakkan yang kemudian dapat dijadikan target kerja dari obat. Analisa struktur dan fungsi enzim dapat dilakukan dengan cara mengganti asam amino tertentu dan menguji efeknya. Asam amino yang berperan sebagai situs-aktif dan kestabilan enzim tersebut ditemukan, kemudian dicari atau disintesis senyawa yang dapat berinteraksi dengan asam amino tersebut. Dengan bantuan bioinformatika proses tersebut dapat dilakukan lebih cepat dan efisien baik dari segi waktu maupun finansial (Bayat, 2002).

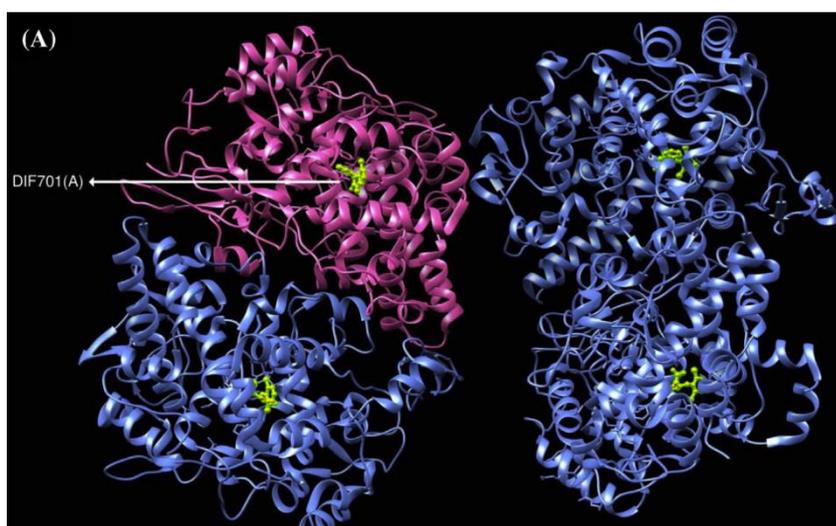
BAB IV. METODA PENELITIAN

4.1 Bahan

Bahan yang digunakan adalah protein target yang didapatkan dari Protein Data Bank pada <http://www.rcsb.org/pdb>.

4.2 Perangkat lunak dan keras

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah komputer dengan CPU Ryzen® 5 Generasi Zen 3 dengan kartu grafis NVIDIA RTX 2060 Super. Perangkat lunak yang digunakan adalah GaussView 5.0.8, AutodockVina, AutodockTools dan MolDock.



Gambar 3. Enzim COX-2 yang berikatan kompleks dengan diklofenat dalam bentuk dimer alami dengan dua subunit identik pada masing-masing monomer

4.3. Cara Kerja

Metode docking dilakukan untuk melakukan prediksi ikatan senyawa dengan protein target, menentukan mode interaksi dengan protein, dan menghitung energi ikatan ligan pada *active pocket*. Senyawa dipersiapkan menggunakan program GaussView 5.0.8, dan konformasi ideal senyawa dihitung dengan metode PM6 semi empiris pada program Gaussian 09 sehingga didapatkan struktur pada analisis docking (Khatri et al, 2017). Struktur enzim sebagai tempat ikatan target didapatkan dari Protein Data Bank (5-LOX, PDB code: 3V98), cyclooxygenase-2 (COX-2, PDB code: 5KIR), matrix metalloproteinase-1 (MMP-1, PDB code: 4AUO), and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2, PDB code: 1CK7) dengan zileuton, celecoxib and batimastat digunakan sebagai control positif pada docking (Silva et al, 2021). Tinokrisposid diikat pada bagian aktif enzim target

menggunakan AutodockVina untuk menentukan semua konformasi ikatan yang memungkinkan dengan AutodockTools digunakan pada persiapan proses input file. Protein dipersiapkan dengan menghilangkan molekul-molekul air, menambahkan hidrogen polar dan menghilangkan ikatannya dengan ligan lain. Posisi ikatan dipilih berdasarkan residu asam amino yang terlibat pada ikatan COX-2 dengan ligan diklofenat yang didapatkan dari protein data bank. Evaluasi interaksi ligan dan protein diatur pada grid box 40 x 40 x 40 Å (x, y, z) di sekitar *active pocket* dengan spasi pada masing-masing dimensi adalah 1 mm. Pusat grid box diatur pada rata-rata koordinat kristal ligan pada struktur pdb. Parameter lain pada vina docking diatur default (Azizian et al, 2016).

4.4 Analisis Data

Hasil dianalisis berdasarkan ikatan hidrogen tinokrisposid dengan residu asam amino masing-masing enzim dibandingkan dengan control positif. Hasil yang diperhitungkan adalah nilai Glide Score, jumlah ikatan hidrogen, interaksi van der Waals, dan residu asam amino yang memberikan ikatan hidrogen antara ligan dan masing-masing enzim.

BAB V. HASIL SEMENTARA

Analisis *in silico* tinokrisposid dibagi menjadi tiga bagian, yaitu kajian (1) farmakokinetika, (2) toksisitas, dan (3) penambatan terhadap protein target. Analisis karakteristik dilakukan menggunakan perangkat Swiss ADME, untuk melihat kesesuaian karakter tinokrisposid terhadap lima aturan Lipinski. Didapatkan hasil yang memuaskan, yang menyatakan bahwa tinokrisposid mengikuti lima aturan farmakokinetika Lipinski. Hal ini berarti, secara farmakokinetika, tinokrisposid memiliki karakter yang ideal sebagai obat. Penelitian akan dilanjutkan untuk melihat prediksi karakter toksisitas tinokrisposid menggunakan perangkat lunak Protox-II, dan selanjutnya menentukan prediksi reseptor target menggunakan perangkat Swiss target prediction. Terakhir, kajian ikatan tinokrisposid terhadap beberapa protein target yang mungkin dilakukan menggunakan perangkat AutodockVina dan PLANTS.

DAFTAR PUSTAKA

- Abood WN, Fahmi I, Abdulla MA, Ismail S. Immunomodulatory effect of an isolated fraction from *Tinospora crispa* on intracellular expression of INF- γ , IL-6 and IL-8. 2014. 14:1-12.
- Adnan AZ, Taher M, Afriani T, Fauzana A, Roesma DI, Putra AE. Anti-inflammatory activity of tinocrisposide by inhibiting nitric oxide production in lipopolysaccharides-stimulated raw 264.7 cells. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. 11(4).
- Adnan AZ, Taher M, Fauzana A, Afriani T, Roesma DI, Putra AE. Antihyperglycemic activity of tinocrisposide by stimulating 3t3-l1 adipocyte cell differentiation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2018. 11(11):494-498.
- Adnan AZ, Armin F, Sudji IR, Novida MD, Roesma DI, Ali HA, Fauzana A. In Vitro Anti-Inflammatory Activity Test of Tinocrisposide and Freeze-Dried Aqueous Extract of *Tinospora Crispa* Stems on Human Red Blood Cell By Increasing Membrane Stability Experiment. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2019. 12(5):125-129.
- Ahmad A, Dempsey SK, Daneva Z, Azam M, Li N, Li PL, et al. Role of nitric oxide in the cardiovascular and renal systems. *Int J Mol Sci*. 2018.19(9).
- Ahmad W, Jantan I, Bukhari S. *Tinospora crispa* (L.) Hook. f. & Thomson: A review of its ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological aspects. *Frontiers in Pharmacology*. 2016.7(3):1-19.
- Armenia A, Hidayat R, Meiliani M, Yuliandra Y. Blood pressure lowering effect of scopoletin on oxidative stress-associated hypertensive rats. *Marmara Pharm J*. 2019.23(2):249–58.
- Aziz N, Kim MY, Cho JY. Anti-inflammatory effects of luteolin: A review of in vitro, in vivo, and in silico studies. *Journal of Ethnopharmacology*. 2018. 225(September 2017):342-358.
- Azizian H, Mousavi Z, Faraji H, Tajik M, et al. Arylhydrazone derivatives of naproxen as new analgesic and anti-inflammatory agents: Design, synthesis and molecular docking studies. 2016. 67:127-136.
- Bayat A. Science, medicine, and the future: Bioinformatics. *British Medical Journal*. 2002. 324(7344): 1018–1022.
- Butler A, Nicholson R. *Life, Death and Nitric Oxide*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry: 2003.

- Gunalan G, Vijayalakshmi K, Saraswathy A, Hopper W, Tamilvannan T. Anti-Inflammatory activities of phytochemicals from *bauhinia variegata* Linn. Leaf: An in silico approach. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2014. 6(9):334-348.
- Hermann M, Flammer A, Lüscher TF. Nitric oxide in hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2006.8(12 Suppl 4):17–29.
- Ibahim MJ, Wan-Nor I'zzah WMZ, Narimah AHH, Nurul Asyikin Z, Siti-Nur Shafinas SAR, Froemming GA. Anti-proliferative and antioxidant effects of *Tinospora crispa* (Batawali). 2011. 22(1).
- Khatri CK, Indalkar KS, Patil CR, Goyal SN, Chaturbhuj GU. Novel 2-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro[b]benzothiophene analogues as selective COX-2 inhibitors: Design, synthesis, anti-inflammatory evaluation, and molecular docking studies. 2017. 27(8):1721-1726.
- Palkar MB, Singhai AS, Ronad PM, Vishwanathswamy AHM, et al. Synthesis, pharmacological screening and in silico studies of new class of Diclofenac analogues as a promising anti-inflammatory agents. 2014. 22(10): 2855-2866.
- Rakib A, Paul A, Nazim UC, Sami SA, et al. Biochemical and Computational Approach of Selected Phytochemicals from *Tinospora crispa* in the Management of COVID-19. 2020. 25(17).
- Ruan CT, Lam SH, Lee SS, Su MJ. Hypoglycemic action of borapetoside A from the plant *Tinospora crispa* in mice. *Phytomedicine*. 2013. 20(8-9): 667-675.
- Salim Z, Munadi E. *Info Komoditi Tanaman Obat*. Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia. 2017. 94 p.
- Sargowo D. *Disfungsi Endotel*. Malang: Universitas Brawijaya. 2015.
- Saseen JJ, MacLaughlin EJ. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Chapter 13: Hypertension. Tenth Edit. Mc Graw Hill Education. 2019. 497–566 p.
- Silva LP, Santos EC, Borges BA, Veloso MP, Chagas-Paula DA, Gonçalves RV, Novaes RD. Tagitinin F has anti-inflammatory, anti-nociceptive and anti-matrix metalloproteinase properties: An in silico, in vitro and in vivo study. *Pharmacological Research*. 2021. 164(July 2020).
- Zulkefli HN, Mohamad J, Abidin NZ. Antioxidant activity of methanol extract of *tinospora crispa* and *tabernaemontana corymbosa*. *Sains Malaysiana*. 2013. 42(6):697-706.