

Potensi Flavonoid Dalam Daun Pepaya (*Carica papaya* L.) Sebagai Antiinflamasi Secara In Silico

Janatun Na'imah^{*a}, Anindi Lupita Nasyanka^a

^a D3 Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gresik, Gresik, 61121, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima 05 September 2023
Disetujui 18 Maret 2024

Key word:

anti-inflammatory, COX-2,
papaya leaves, flavonoids, in
silico.

Kata kunci:

antiinflamasi, COX-2, daun
papaya, flavonoid, in silico

ABSTRACT

Inflammation is a response of the body when it experiences injury, infection, or cell damage, so it becomes a sign of something that is harmful to the body. Currently in Indonesia, inflammation is treated using NSAIDs (non-steroidal anti-inflammatory drugs) and AIS (steroidal anti-inflammatory drugs). However, the use of these drugs shows various side effects such as stomach ulcers, dyspepsia, cushing, osteoporosis and immunosuppression. This research is an in silico experimental study on papaya leaves (*Carica papaya* L.) which contain flavonoids suspected as anti-inflammatory compounds. The aim of this research was to determine the interaction of flavonoid compounds with COX-2 in silico. The results showed that flavonoid compounds were suspected as anti-inflammatory by producing a ΔG value between COX-2 and flavonoids of -44.92 kcal/mol. The interaction that occurs between COX-2 receptors and flavonoids, namely the occurrence of hydrogen bonds between the O atoms of flavonoids and several amino acid residues of COX-2, namely Aspargarin 39, Lysine 469 and Cysteine 47.

ABSTRAK

Penatalaksanaan inflamasi di Indonesia saat ini menggunakan obat golongan AINS (*Antiinflamasi Non Steroid*) maupun AIS (*Antiinflamasi Steroid*). Mekanisme kerja obat tersebut berhubungan dengan biosintesis prostaglandin, yaitu menghambat kerja enzim siklooksigenase yang menyebabkan penurunan sintesa prostaglandin. Akan tetapi, penggunaan obat-obatan tersebut menunjukkan berbagai efek samping seperti tukak lambung, dispepsia, cushing, osteoporosis dan immunosuppresif. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in silico* pada daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang mengandung flavonoid diduga sebagai senyawa antiinflamasi. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui interaksi senyawa flavonoid dengan COX-2 secara *in silico*. Hasil penelitian menunjukkan senyawa flavonoid diduga sebagai antiinflamasi dengan menghasilkan nilai ΔG antara COX-2 dengan flavonoid sebesar -44,92 kcal/mol. Interaksi yang terjadi antara reseptor COX-2 dengan flavonoid, yaitu terjadinya ikatan hidrogen antara atom O dari flavonoid dengan beberapa residu asam amino dari COX-2, yaitu Aspargarin 39, Lisin 469 dan Sistein 47.

*e-mail:

janatunnaimah@umg.ac.id

*Telp: 082141005503

Pendahuluan

Inflamasi adalah suatu respon protektif tubuh saat mengalami cedera, terjadinya infeksi, atau kerusakan sel, sehingga menjadi pertanda adanya hal yang membahayakan tubuh. Respon inflamasi ditandai dengan adanya warna merah karena adanya aliran

darah yang berlebihan pada daerah cedera. Selain itu juga menimbulkan edema karena pengiriman cairan dan sel-sel dari sirkulasi darah ke daerah interstitial [1,2].

Saat ini di Indonesia, penatalaksanaan inflamasi menggunakan obat golongan AINS (*Antiinflamasi Non Steroid*) maupun AIS (*Antiinflamasi Steroid*). Akan tetapi, penggunaan

obat-obatan tersebut menunjukkan berbagai efek samping seperti tukak lambung, dispepsia, cushing, osteoporosis dan immunosuppresif. Efek samping muncul seiring dengan peningkatan dosis dan lama penggunaan [3]. Oleh karena efek samping dari penggunaan obat-obatan tersebut, masyarakat ingin menggunakan obat-obatan yang lebih efektif dalam penyembuhan serta memiliki efek samping yang lebih sedikit dari obat sintesis yaitu obat tradisional.

Mekanisme kerja OAINS berhubungan dengan biosintesis prostaglandin, yaitu menghambat kerja enzim siklooksigenase (COX) yang menyebabkan penurunan sintesa prostaglandin. Hal ini yang mendasari efek analgetik dan antiinflamasi dari OAINS [4]. Enzim siklooksigenase terdiri atas COX-1 dan COX-2 yang mana kedua bentuk isoform tersebut dikode oleh gen berbeda dan ekspresinya bersifat unik. Setiap derivat OAINS memiliki perbedaan daya hambat terhadap masing-masing enzim COX-1 dan COX-2. Enzim COX-2 yang dihasilkan pada sel yang sedang meradang berfungsi sebagai mediator pembentukan prostaglandin [5].

Masyarakat beranggapan bahwa penggunaan obat tradisional lebih aman dibandingkan dengan obat kimia. Oleh karena itu, mereka lebih suka menggunakan obat tradisional untuk menyembuhkan penyakitnya. Walaupun demikian bukan berarti obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, apabila penggunaannya kurang tepat dan kurangnya informasi tentang obat tradisional maka penggunaannya menjadi kurang optimal. Oleh karena itu, banyaknya efek samping dan komplikasi penggunaan farmakologis dan non farmakologis maka perlu dicari pengobatan alternatif yaitu herbal yang memiliki toleransi yang lebih baik dengan efek samping yang minimal.

Salah satu tanaman Indonesia yang bisa dimanfaatkan untuk tujuan terapi inflamasi adalah pepaya (*Carica papaya* L.). Salah satu bagian dari tumbuhan pepaya yang dapat dimanfaatkan, yaitu daun pepaya. Adapun kandungan daun pepaya antara lain: saponin, flavonoid, vitamin C, organic acid, carposide, benzylglukosinolate, papain, tanin dan alkaloid [6].

Flavonoid telah terbukti memiliki efek antiinflamasi dan antibakteri [7]. Enzim papain juga merupakan anti inflamasi yang ampuh [8]. Dengan adanya efek antibakteri dan antiinflamasi tersebut proses inflamasi akan menurun yang diduga dapat menurunkan migrasi sel radang ke daerah infeksi, salah satunya adalah sel makrofag. Berdasarkan penelitian terdahulu ekstrak daun pepaya konsentrasi 12,5%, 25%, 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Salmonella typhi*. Ekstrak daun pepaya 100% tidak memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* [9].

Flavonoid dilaporkan dapat menekan ekspresi COX-2 pada tikus, hal ini menunjukkan bahwa tumbuhan yang kaya akan flavonoid seperti kuersetin memiliki potensi sebagai antiinflamasi. Menurut penelitian Maleki et al (2019), melaporkan bahwa flavonoid dapat mengganggu pembentukan AA dari fosfolipid dan mengurangi produksi metabolit inflamasi [10].

In silico merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mencari senyawa yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat. Penggunaan metode studi in silico ini memiliki banyak keuntungan diantaranya yaitu mengurangi jumlah hewan coba yang digunakan dan dibutuhkan pada saat percobaan serta dapat mengetahui mekanisme senyawa kandidat obat terhadap targetnya dalam bentuk visualisasi yang dapat dilakukan dengan molecular docking [11]. Molecular docking adalah metode in silico yang berbasis komputasi. Metode ini dapat digunakan untuk mencari pola interaksi yang paling tepat antara molekul ligan dan reseptor [12]. Saat ini penelitian dengan menggunakan metode komputasi sangat penting diberbagai aspek penelitian pada bidang biologi dan medis. Salah satu manfaat dari penggunaan metode ini yaitu dapat dilihat dalam berbagai proses penemuan dan pembuatan obat [13]. Pada penelitian ini dilakukan pengujian potensi daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai antiinflamasi yang dilakukan secara *in silico* dengan menggunakan metode *Molecular Docking*.

Bahan dan Metode

Bahan-bahan yang digunakan, yaitu ligan flavonoid serta makromolekul COX-2. Pada percobaan ini dilakukan 3 tahapan yang meliputi optimasi ligan, persiapan makromolekul dan proses Docking. Tahapan awal, yaitu optimasi ligan flavonoid yang diunduh dari *National Center for Biotechnology Information*. Ligan tersebut diunduh dan disimpan dalam bentuk *3D conformer*. Kemudian, dilakukan optimasi untuk mendapatkan struktur yang paling stabil dengan menggunakan perangkat lunak *PyMOL*, dan hasilnya disimpan dalam format (*.pdb*).

Tahapan ke-2 adalah persiapan Makromolekul atau Protein Reseptor yang digunakan pada penelitian ini, yaitu α -glukosidase yang diunduh dalam bentuk urutan asam amino dari *RCSB Protein Data Bank*. Makromolekul tersebut diunduh dan disimpan dalam bentuk *3D conformer*. Lalu, dilakukan optimasi untuk mendapatkan struktur geometri yang paling stabil dengan menggunakan perangkat lunak *PyMOL*, dan hasilnya disimpan dalam format (*.pdb*).

Tahapan ke-3 yaitu proses Docking yang meliputi 4 langkah. Pertama, dilakukan preparasi koordinat ligan dan makromolekul (menjadi format *.pdbqt*), yaitu penentuan file yang digunakan sebagai ligan dan mengkonversinya dalam format (*.pdbqt*). Sedangkan preparasi koordinat makromolekul adalah penentuan file makromolekul yang digunakan sebagai reseptor pada proses *docking*, dan struktur protein yang telah dipilih disimpan dalam format (*.pdbqt*). Langkah kedua yaitu dilakukan *running autogrid* (menjadi format *.gpf*) terhadap makromolekul dengan cara melakukan penentuan posisi dan ukuran *grid box*.

Langkah ketiga adalah dilakukan *running autodock* (menjadi format *.pdb*). pada langkah ini dilakukan penentuan rigiditas dari makromolekul sebagai reseptor, pemilihan ligan untuk proses *docking*, penentuan parameter *docking* dengan menggunakan *Genetic Algorithm*, serta penentuan *output docking* sebagai *Lamarckian GA(4.2)* dan disimpan dalam format (*.pdb*). Selanjutnya, langkah terakhir adalah analisa hasil *docking*,

yaitu analisis interaksi yang terjadi, pengumpulan data hasil *docking* yang meliputi *binding energy*, *electrostatic energy*, dan RMSD. Konformasi hasil *docking* yang telah ditentukan disimpan dalam format (*.pdbqt*) dan selanjutnya diproses oleh perangkat *PoseView*.

Hasil dan Pembahasan

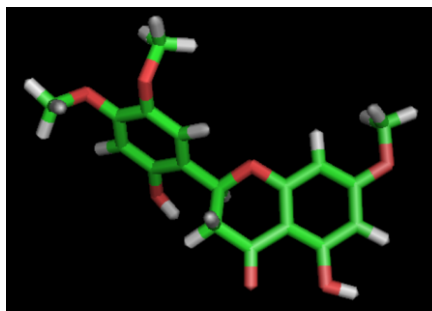
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi flavonoid yang terkandung dalam daun pepaya (*Carica papaya* L.) sebagai antiinflamasi secara *in Silico*. Penelitian secara *in silico* dilakukan untuk mengetahui interaksi antara reseptor makromolekul dengan ligan yang dianalisis secara *molecular docking* menggunakan software *PatchDock*. Hasil yang diperoleh dari pemodelan interaksi antara makromolekul dengan ligan, antara lain nilai energi ikatan antara makromolekul dengan ligan (ΔG), *Root Mean Square Deviation* (RMSD), dan lain sebagainya.

Metode *molecular docking* merupakan suatu metode untuk mengetahui interaksi antara makromolekul dengan ligan berdasarkan teori *Lock and Key*. Reaksi antara makromolekul (enzim) dengan ligan (substrat) terjadi karena kesesuaian bentuk ruang antara substrat dengan sisi aktif enzim, sehingga akan diketahui jenis asam amino yang merupakan sisi aktif dari makromolekul beserta parameter lainnya.

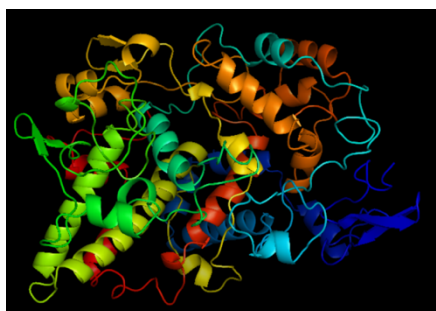
Pada penelitian ini ligan yang digunakan adalah flavonoid. Ligan ini diunduh dari *National Center for Biotechnology Information* dalam bentuk format file (*.sdf*). Kemudian, diubah menjadi format (*.pdb*) dengan menggunakan perangkat lunak *NCI/CADD* [14]. Setelah itu dilakukan optimasi dengan menggunakan perangkat lunak *PyMOL*, sehingga dapat diperoleh konformasi dengan struktur geometri yang paling stabil.

Makromolekul yang digunakan pada penelitian ini adalah Cyclooxygenase-2 (COX-2). Makromolekul ini diunduh dalam bentuk molekul dari *RCSB PDB* dengan kode 4PH9.

[15]. Makromolekul COX-2 dioptimasi terlebih dahulu menggunakan *PyMOL*, sehingga diperoleh konformasi dengan struktur geometri yang paling stabil.



Gambar 1. Flavonoid hasil optimasi

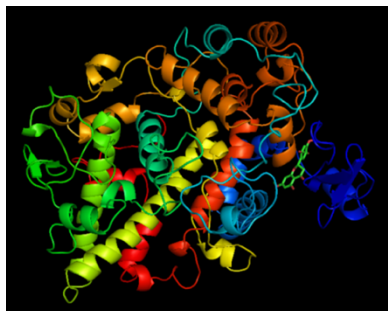


Gambar 2. COX-2 hasil optimasi

Secara *In Silico*, proses docking antara makromolekul COX-2 dengan ligan flavonoid dilakukan dengan penentuan grid box secara keseluruhan pada sisi reseptor COX-2. Penentuan grid box dilakukan untuk mengetahui titik koordinat pada sisi aktif dari COX-2 saat dilakukan proses docking terhadap flavonoid.

Tahapan Docking reseptor COX-2 dengan ligan flavonoid dilakukan dengan menggunakan software *Patch Dock* dan dihasilkan puluhan model konformasi interaksi antara COX-2 dengan flavonoid. Kemudian, dipilih sepuluh model terbaik, lalu dipilih satu model dengan konformasi paling stabil yang dilihat dari nilai ΔG (Gambar 3).

Berdasarkan model konformasi paling stabil antara COX-2 dengan flavonoid (Gambar 3) dapat diketahui bahwa interaksi yang terjadi yaitu terjadinya ikatan hidrogen antara atom O dari flavonoid dengan beberapa residu asam amino dari reseptor COX-2, yaitu Asparagin 39, Lisin 469 dan Sistein 47 (Gambar 4).

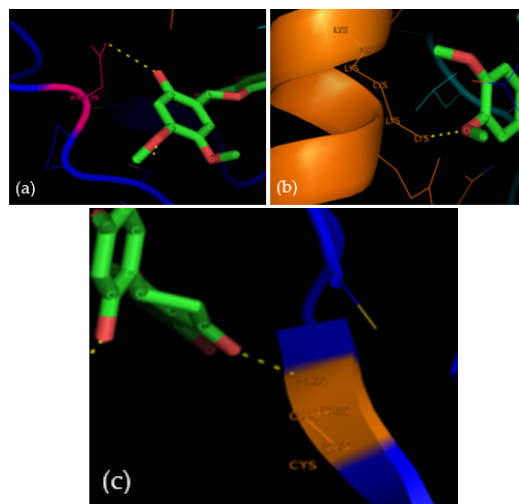


Gambar 3. Visualisasi struktur 3D kompleks COX-2 dengan flavonoid

Selain itu, juga diperoleh beberapa parameter interaksi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Parameter Docking COX-2-flavonoid

No.	Parameter	Nilai
1	ΔG	-44,92 kcal/mol
2	RMSD	0 Å
3	Attractive VdW	-21,41
4	Repulsive VdW	5,51



Gambar 4. Interaksi antara flavonoid dengan reseptor COX-2 asam amino : (a) Asn-39, (b) Lys-469, (c) Cys-47

Konformasi reseptor COX-2 dengan flavonoid, diperoleh nilai Energy Gibbs (ΔG^0) sebesar -44,92 kcal/mol. Nilai tersebut merupakan nilai yang rendah dibandingkan dengan konformasi struktur lainnya. Energy Gibbs menginterpretasikan kekuatan dari

ikatan antara reseptor dengan ligan. Interaksi COX-2 dengan flavonoid, dengan nilai energy gibbs (ΔG^0) yang rendah memiliki ikatan yang kuat. Afinitas pengikatan (energi ikat) merupakan aspek penting yang harus diperhatikan pada interaksi suatu molekul dengan makromolekul.

Energi ikat yang lebih rendah menandakan bahwa suatu senyawa tersebut membutuhkan energi yang sedikit untuk melakukan pengikatan atau interaksi. Hal tersebut menunjukkan bahwa nilai energi ikat yang lebih rendah dapat meningkatkan potensi untuk melakukan pengikatan dengan protein target (reseptor).

Ikatan antara reseptor COX-2 dengan flavonoid menghasilkan nilai RMSD ≤ 2 , yaitu 0 Å. Hal ini menunjukkan bahwa posisi *ligan copy* mirip dengan *native ligand*, sehingga metode docking valid digunakan untuk memprediksi interaksi COX-2 terhadap flavonoid.

Ucapan terimakasih

Terimakasih kepada semua pihak yang membantu kegiatan penelitian ini.

Kesimpulan

Senyawa flavonoid diduga sebagai antiinflamasi dengan menghasilkan nilai ΔG antara COX-2 dengan flavonoid sebesar -44,92 kcal/mol. Interaksi yang terjadi antara reseptor COX-2 dengan flavonoid, yaitu terjadinya ikatan hidrogen antara atom O dari flavonoid dengan beberapa residu asam amino dari COX-2, yaitu Asparagin 39, Lisin 469 dan Sistein 47

Daftar Pustaka

1. Lima, G.R.M., Montenegro, C.A., Almeida, C.L.F., Athayde-Filho, P. F., Barbosa-Filho, J. M., & Batista, L.M. Database survey of anti-inflammatory plants in South America: a review. *International Journal of Molecular Science*. 2011, 12(4), 2692–2749.
2. Souto, A.L., Tavares, J.F., Da Silva, M.S., Diniz, M.F.F.M., De Athayde-Filho, P.F., & Barbosa Filho, J.M. Anti-inflammatory activity of alkaloids: an update from 2000 to 2010. *Molecules*. 2011, 16(10), 8515–8534
3. Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafrialdi, dan Elysabeth. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Balai Penerbit FKUI: Jakarta. 2007. hal. 230-246, ISBN 978-979-16104-0-7
4. Wilmana, F. dan Gan, S. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: Jakarta. 2012, pp.230-231, 233-237.
5. Lelo, A., Hidayat, D.S., dan Juli, S. *Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik*. e-USU. 2004
6. Duke, James, A. *Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Database*. [data base]. <http://www.Ars-grin.Gov/Duke/>. 2009
7. Pramono, Suwijoyo. Efek Anti Inflamasi Beberapa Tumbuhan Umbelliferae. *Hayati*. 2004, 12 (1): 7-10.
8. Azza, Sauqina, S. *Mencegah dan Mengobati Penyakit dengan Sayuran*. Klik Publishing. 2011
9. Setyowati, Arini, D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L) 100% terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Pioderma. *Skripsi*. 2011. Fakultas Kedokteran. Universitas Jember.
10. Maleki, S.J., Crespo, J.F., Cabanillas, B. Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*. 2019, 299: 125-124.
11. Mirza, D. Studi In Silico Dan In Vitro Aktivitas Antineuroinflamasi Ekstrak Etanol 96% Daun Marsilea Crenata C Presl. *Skripsi*. 2019. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
12. Ruyck, J.D., Brysbaert, G., Blossey, R., Lensink, M. Molecular Docking as a Popular Tool in Drug Design, an in Silico Trave. *Dovepress*. 2016, 1–11.
13. Widodo., Utomo, D., Ramadhani, A., Hasanah, A., Fitriah, A. Cara Mudah Melakukan Docking Dengan PyRx(1). Malang: Global Science. 2018
14. National Center for Biotechnology Information. 2022. *PubChem Compound Summary for CID 9997719, Hispidone [Flavonoid]*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/9997719>. diakses tanggal 17 Maret 2022.
15. RCSB-PDB. 2022. *4PH9-The Structure of Ibuprofen bound to Cyclooxygenase-2*. <https://www.rcsb.org/structure/4PH9>. diakses tanggal 17 Maret 2022.



© 2024 by the authors. Licensee Fullerene Journal Of Chem. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).