

Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Aktif Akar Pakis Tangkur (*Polypodium feei* METT) Sebagai Inhibitor Enzim *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS)

Riska Prasetiawati, Alfina Damayanti, Deden Winda Suwandi*
Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut

*Corresponding author: deden@uniga.ac.id

Abstract

Background: Inflammation is an innate immune response that plays a role in the body's defense system against foreign objects by triggering a series of enzyme activities and the release of mediators. Diseases involving inflammatory processes have a high incidence. The part of the plant used for research is the root. **Purpose:** This study aims to predict the mechanism of action of candidate iNOS enzyme inhibitor compounds through Molecular Dynamic simulations. **Method:** Carried out *in silico* on 4 test compounds using the molecular docking method, predicting druglikeness, Pre-ADMET, toxicity and molecular dynamics. **Results:** Molecular docking results show that the four compounds have better affinity for the iNOS enzyme receptor, namely geranin A, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'-deoxydryopteris acid and (+)-afzelechin with the bond free energy value (ΔG) is lower than that of the ibuprofen comparison ligand, which is -7.7 kcal/mol. From the Pre-ADMET test results, it is known that 1 compound has a good absorption and distribution profile, 2 compounds have good drug likeness properties, 2 compounds are not toxic, and the results of molecular dynamic simulations using OpenMM for 10ns show that the four compounds have greater stability. **Good. Conclusion:** Thus, it can be used as a candidate for a new anti-inflammatory drug

Keywords: Inflammatory, *in silico*, enzyme iNOS, molecular docking, molecular dynamic

Abstrak

Pendahuluan: Inflamasi merupakan respon imun bawaan yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap benda asing dengan memicu serangkaian aktivitas enzim dan pelepasan mediator. Penyakit yang melibatkan proses inflamasi angka kejadiannya cukup tinggi. Bagian tanaman yang digunakan sebagai penelitian adalah akarnya. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi mekanisme kerja senyawa kandidat inhibitor enzim iNOS melalui simulasi *Molecular Dynamic*. **Metode:** Dilakukan secara *in silico* terhadap 4 senyawa uji dengan metode *molecular docking*, prediksi sifat *druglikeness*, Pre-ADMET, toksisitas dan *molecular dynamic*. **Hasil:** Hasil *molecular docking* menunjukkan keempat senyawa tersebut memiliki afinitas lebih baik terhadap reseptor enzim iNOS yaitu geranin A, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'-deoxydryopteris acid dan (+)-afzelechin dengan nilai energi bebas ikatan (ΔG) lebih rendah dari ligan pembanding ibuprofen yaitu -7,7 kkal/mol. Dari hasil pengujian Pre-ADMET diketahui terdapat 1 senyawa memiliki profil absorpsi dan distribusi yang baik, 2 senyawa memiliki sifat *drug likeness* yang baik, 2 senyawa yang tidak toksik, dan pada hasil simulasi *molecular dynamic* menggunakan OpenMM selama 10ns menunjukkan keempat senyawa memiliki kestabilan yang lebih baik. **Kesimpulan:** Diperoleh senyawa pemandu geranin A, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'-deoxydryopteris acid dan (+)-afzelechin yang dapat dikembangkan sebagai antiinflamasi.

Kata kunci: Antiinflamasi, *in silico*, enzim iNOS, *molecular docking*, *molecular dynamic*.

PENDAHULUAN

Tanaman pakis tangkur (*Polypodium feei* METT) merupakan tanaman yang tumbuh di daerah Gunung Tangkuban Perahu, Bandung. Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah bagian akarnya. Penelitian telah membuktikan bahwa bagian akar pakis tangkur mempunyai aktivitas analgetika dan antiinflamasi yang diuji melalui hewan

percobaan menggunakan metode *siegmund* dan *hot plate* dari ekstrak dan fraksinya. Tanaman ini merupakan salah satu tanaman asal Indonesia yang dapat tumbuh dengan ketinggian 900-3150 MDPL (Suwandi dkk., 2021).

Inducible Nitric Oxide (iNOS) merupakan enzim yang dapat memproduksi *Nitric Oxide*

(NO) jika diinduksi oleh lipopolisakarida (LPS) ataupun sitokin-sitokin pro-inflamasi (Lee, 2017). Inflamasi adalah respon imun bawaan yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh terhadap benda asing seperti serangan mikroorganisme ataupun penyakit tertentu (Ganie dkk., 2019).

Telah diketahui melalui penambatan senyawa-senyawa akar pakis tangkur terhadap target kedua yaitu enzim iNOS, terdapat 4 senyawa uji yang memiliki nilai energi bebas lebih rendah dari ligan alami dan berinteraksi dengan residu asam amino melalui ikatan hidrogen yang mendekati ligan alami diantaranya yaitu senyawa (+)-afzelechin, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'deoxydryopteris acid, dan geranin A. Dapat dikatakan keempat senyawa tersebut diprediksi memiliki afinitas yang lebih baik dari ligan alami dan memiliki interaksi dengan residu asam amino melalui ikatan hidrogen yang mendekati ligan alami, hal tersebut menunjukkan kemiripan jenis interaksi dalam menggambarkan kemiripan aktivitas (Aswad dkk., 2019). Dinamika molekuler (*molecular dynamic*) mempelajari stabilitas enzim atau protein, struktur protein, perubahan konformasi, pelipatan protein, pengangkutan ion, dan lainlain karena setiap protein memiliki sifat stabilitas berbeda-beda (Hollingsworth dkk., 2018).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat diidentifikasi masalahnya yaitu apakah senyawa aktif dari akar pakis tangkur memiliki interaksi atau afinitas terhadap Enzim iNOS sebagai enzim yang bertanggung jawab dalam proses inflamasi di dalam tubuh melalui penambatan molekuler (*Molecular Docking*), serta bagaimana interaksi senyawa aktif dari akar pakis tangkur melalui simulasi dinamika molekuler (*Molecul Dynamic*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk memprediksi mekanisme kerja senyawa kandidat inhibitor enzim iNOS melalui simulasi

Molecular Dynamic.

Dengan adanya penelitian ini, diharapkan dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan terutama dalam penemuan dan pengembangan kandidat obat baru sebagai antiinflamasi dari pemanfaatan bahan alam yang dilakukan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang dibutuhkan untuk melakukan penelitian ini adalah reseptor enzim iNOS dengan ID PDB 1NSI, 4 senyawa uji yaitu senyawa (+)-afzelechin, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'deoxydryopteris acid, dan geranin A, ligan alami yaitu arginine, dan ligan pembanding yaitu ibuprofen.

Alat

Hardware yang digunakan yaitu Laptop HP ElitBook 840 G5 Intel core i5 RAM 8GB Windows 11. *Software* yang digunakan yaitu Autodock Tools, Autodock Vina, Discovery Studio Visualizer, MarvinSketch, Open Babel GUI dan NotePad. Situs online yang digunakan yaitu Protein Data Bank (PDB), Lipinski's Rule of Five, PubChem, PASS Online, Pre-ADMET, OpenMM yang dihubungkan dengan Google Colab dan Google Drive.

Metode

Penambatan molekul (*molecular docking*)

Tahapan pertama, diawali dengan melakukan pengunduhan reseptor melalui *website* PDB (<https://www.rcsb.org/>) dalam format (.pdb) dengan ID PDB 1NSI. Kemudian, dilakukan preparasi yang meliputi pemisahan antara reseptor dengan ligan kompleks, penghilangan molekul air dan residu yang menempel, penambahan muatan dan atom hidrogen, serta pengaturan *grid box* dengan hasil preparasi disimpan dalam format (.pdbqt). Tahapan kedua, dilakukan validasi *docking* (*redocking*) menggunakan *software* Autodock Vina[®]. Validasi *docking* dikatakan valid jika nilai RMSD ≤ 2 Å.

Tahapan ketiga, proses *docking* senyawa uji dilakukan setelah validasi *docking* (*redocking*) selesai yang diawali dengan menyalin *Canonical SMILES* dari senyawa uji melalui *website* Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) lalu di *paste* dan *software* MarvinSketch[®] dan dilakukan proses optimasi.

Selanjutnya, senyawa diprotonasi dengan mengkondisikan senyawa uji pada pH 7,4 disimpan dalam format (.mol2) yang kemudian diubah ke dalam format (.pdbqt) menggunakan *software OpenBabel GUI*[®]. Setelah itu, dilakukan proses *docking* menggunakan *software Autodock Vina*[®] didapatkan hasil berupa nilai ΔG disimpan dalam folder khusus dengan format (.txt). Hasil tersebut dianalisis dengan membandingkan nilai ΔG dan dilakukan visualisasi menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*[®].

Tahapan keempat, dilakukan studi kemiripan struktur dari senyawa terpilih hasil *docking* terhadap reseptor yang sama dilakukan skrining virtual menggunakan *PASS Online* lalu dipreparasi dan dilakukan penambatan molekuler (*molecular docking*) dengan reseptor, prosedur dan perlakuan yang sama seperti proses *docking* pada senyawa utama.

Prediksi sifat druglikeness, Pre-ADMET dan toksisitas

Analisis fisikokimia (prediksi *druglikeness*) melalui *website* (<http://scfbio-iitd.res.in>) dengan melihat aturan *Lipinski's Rule of Five* diantaranya bobot molekul senyawa <500 g/mol, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10 dan nilai koefisien partisi (Log P) <5 (Mardianingrum et al., 2021). Untuk analisis farmakokinetika dan prediksi toksisitas menggunakan *Pre-ADMET* melalui *website* (<http://preadmet.bmdrc.org/>) berdasarkan parameter nilai permeabilitas *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan sel *Human colon adenocarcinoma* (Caco-2) serta sifat distribusi berdasarkan parameter nilai *Protein Plasma Binding* (PPB). Kemudian, prediksi toksisitas dilakukan melalui prediksi sifat karsinogenik dan mutagenik (PreADMET, 2022).

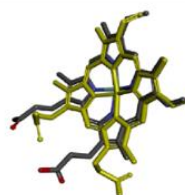
Dinamika molekuler (*molecular dynamic*)

Proses simulasi *molecular dynamic* ini meliputi tahap pembuatan topologi, tahap solvasi, netralisasi, minimisasi, ekuilibrasi, simulasi produksi serta analisis *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Root Mean Square*

Fluctuation (RMSF) dan RoG (*Radius of Gyration*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Reseptor yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) yang berperan dalam pembentukan *Nitric Oxide* (NO) (Khan dkk., 2020).



Gambar 1. Hasil visualisasi tumpang tindih ligan alami dari enzim iNOS

Pengunduhan struktur makromolekul dilakukan di situs *Protein Data Bank* (PDB). Dilakukan preparasi pada saat pemisahan reseptor murni dengan *native ligand* dan penghilangan molekul air agar tidak dapat mengganggu proses simulasi *docking*. Lalu, penambahan muatan *kollman charges* pada reseptor yang akan memberikan nilai untuk setiap asam amino agar makromolekul tersebut dapat menyesuaikan dengan lingkungan komputasi. Sedangkan, penambahan muatan *gasteiger* pada ligan bertujuan untuk berinteraksi secara optimal dengan reseptor dan adanya penambahan atom hidrogen pada ligan bertujuan agar ligan mirip dengan bentuk aslinya. Ligan uji yang digunakan adalah 4 senyawa yang terkandung dalam akar pakis tangkur yaitu geranin A, (+)-afzelechin-O- β -4'-Dglucopyranoside, 3'-deoxydryopteris acid dan (+)-afzelechin. Validasi dengan cara *redocking* untuk mengetahui apakah sudah valid atau tidak. Parameter hasil yang dilihat berupa RMSD (*Root Mean Square Deviation*) digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur dari konformasi ligan struktur kristalografi dengan konformasi ligan hasil penambatan ulang, dikatakan valid jika memiliki nilai ≤ 2 Å untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur dari konformasi ligan struktur kristalografi dengan konformasi ligan hasil penambatan ulang.

Terdapat hasil visualisasi tumpang tindih ligan alami dari reseptor iNOS yaitu kristalografi sinar-X (hitam) dengan ligan hasil *redocking* (kuning) menunjukkan posisi tumpang tindih tidak memperlihatkan perbedaan posisi. Hasilnya dapat dilihat pada gambar 1

Pada posisi penambatan dapat disesuaikan dengan posisi asal ligan alami dalam kristalografi. Pengaturan dapat dilihat dari *grid box* nya yang meliputi center $x = 20,215$, $y = 69,882$, $z = 48,731$, *size x* = 40, *size y* = 40, *size z* = 40. Untuk mengetahui prediksi afinitasnya terhadap protein target dapat dilihat dari beberapa parameter antara lain skor penambatan berupa nilai energi bebas (ΔG), melihat residu asam amino dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk dari hasil interaksi antara ligan dengan protein target (Muttaqin, 2019).

Dapat diketahui semakin rendah nilai energi bebas menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi karena terjadi kestabilan dan

kekuatan interaksi. Parameter lain yang dapat dilihat ialah hasil visualisasi penambatan dengan membandingkan interaksi antara senyawa uji dengan residu asam amino berdasarkan ikatan hidrogen pada protein target (Susanti dkk., 2019).

Diketahui 1 senyawa tersebut memiliki nilai energi bebas lebih rendah dari ligan alami dan berinteraksi dengan residu asam amino melalui ikatan hidrogen yang mendekati ligan alaminya, serta terdapat 4 senyawa memiliki nilai energi bebas lebih rendah dari ligan pembanding dan berinteraksi dengan residu asam amino melalui ikatan hidrogen yang mendekati ligan pembandingnya. Dapat dikatakan senyawa tersebut memiliki afinitas yang lebih baik dari ligan alami dan ligan pembanding serta memiliki interaksi dengan residu asam amino melalui ikatan hidrogen yang mendekatinya, hal tersebut bahwa menunjukkan kemiripan jenis interaksi juga menggambarkan kemiripan aktivitas biologisnya. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil penambatan molekul ligan pembanding dan senyawa uji pada enzim iNOS

Ligan/Senyawa	Energi Bebas (ΔG) kkal/mol	Jumlah Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino
Ligan Alami			
Arginine	-11,998	1	ARG B:199
Ligan Pembanding			
Ibuprofen	-7,7	1	TRP B:463
Ligan Uji			
Geranin A	-12,6	3	ARG B:199 PRO B:350 TRP B:463
(+)-afzelechin- β - 4'Dglukopyranoside	-9,9	3	ARG B:199 MET B:120 TRP B:463
3'-deoxydryopteris acid	-8,3	4	ILE B:462 TRP B:463
(+)-afzelechin	-8,0	2	ILE B:462 TRP B:463
3'-deoxydryopteris acid	-8,3	4	ILE B:462 TRP B:463
(+)-afzelechin	-8,0	2	ILE B:462 TRP B:463

Terdapat parameter lain yaitu *Lipinski's Rule of Five* sebagai pengembangan dan penemuan obat secara oral (Muchtari, 2018). Parameter ini dapat dilihat dari aturan suatu obat harus memiliki berat molekul <500 dalton, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10 dan nilai Log P <5 (Mardianingrum dkk., 2021). Jika obat tersebut memenuhi persyaratan dapat dikatakan mempunyai kemampuan absorpsi dan distribusi peroral dalam tubuh dengan baik. Sifat fisikokimia senyawa dari akar pakis tangkur berdasarkan hasil pengujian *Lipinski's*

Rule of Five menunjukkan terdapat 2 senyawa yang memenuhi aturan yaitu (+)-afzelechin dan 3'-deoxydryopteronic acid yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral. Sedangkan, pada 2 senyawa lainnya tidak memenuhi aturan *Lipinski's Rule of Five* untuk dijadikan kandidat obat perlu dilakukan modifikasi terlebih dahulu. Seperti, senyawa (+)-afzelechin-O-β-4'-D-glucopyranoside karena memiliki donor ikatan hidrogen lebih dari 5 dan geranin A memiliki donor ikatan hidrogen lebih dari 5 serta bobot molekul lebih dari 500 g/mol. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil penambatan molekul ligan perbandingan dan senyawa uji terhadap reseptor iNOS

Senyawa Uji	Donor Ikatan Hidrogen	Akseptor Ikatan Hidrogen	Bobot Molekul	Log P	Memenuhi Syarat/Tidak
Geranin A	7	10	544	3,38	Tidak Memenuhi
(+)-afzelechin-β-4'Dglukopyranosid e	7	10	436	-0,69	Tidak Memenuhi
3'-deoxydryop teric acid	5	7	332	1,86	Memenuhi
(+)-afzelechin	4	5	274	1,84	Memenuhi

Kemudian, dilakukan analisis uji *Pre-ADMET* dan uji toksisitas. Untuk kategori permeabilitas yang rendah kurang dari 4 nm/sec⁻¹, kategori permeabilitas sedang 4-70 nm/sec⁻¹ dan kategori permeabilitas baik adalah 70 nm/sec⁻¹ (Mardianingrum dkk., 2021).

Parameter selanjutnya melihat penjumlahan dari bioavailabilitas dan absorpsi yang di evaluasi rasio eksresi melalui urin, empedu dan feses. Dapat dilihat pada HIA (*Human Intestinal Absorption*) yang terabsorpsi didalam usus dibagi tiga golongan yaitu kurang baik apabila nilai parameter pada persentase 0-20%, sedang apabila nilai parameter pada persentase 20-70% dan baik apabila nilai parameter pada persentase 70-100% (Mardianingrum dkk., 2021).

Untuk parameter penggambaran distribusi dan metabolisme obat dapat dilihat dari PPB

(*Protein Plasma Binding*) lebih dari 90% artinya senyawa tersebut memiliki ikatan kimia yang kuat dengan protein plasma (Mardianingrum dkk., 2021).

Dilihat dari ketiga parameter tersebut, senyawa yang terkandung dalam akar pakis tangkur terdapat 2 senyawa yang memiliki nilai Caco-2 dalam kategori sedang dengan rentang antara 4-70 nm/sec⁻¹ dan 2 senyawa yang memiliki nilai Caco-2 dalam kategori rendah. Parameter HIA dengan nilai di atas 70% dimiliki oleh 2 senyawa akar pakis tangkur dan 2 senyawa masuk dalam kategori sedang. Pada parameter PPB terdapat 2 senyawa terikat kuat oleh protein plasma dan 2 senyawa terikat lemah oleh protein plasma. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil prediksi profil absorpsi dan distribusi senyawa akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT)

No	Senyawa/Ligan	Absorpsi		Distribusi
		Caco-2 cell (nm sec-1)	HIA (%)	Protein Plasma Binding (PPB)
1	Geranin A	11,80 ^b	73,11 ^a	100,0 ^a

2	3'-deoxydryopteris acid	13,87 ^b	69,23 ^b	87,44 ^b
3	(+)-afzelechin-β-4'Dglukopyranoside	2,40 ^c	31,42 ^b	65,20 ^b
4	(+)-afzelechin	1,29 ^c	80,41 ^a	100,0 ^a

Dari hasil di atas diketahui terdapat 1 senyawa yang memiliki profil absorpsi dan distribusi yang baik yaitu senyawa geranin A. Kemudian, pada pengujian toksisitas mutagen adalah agen yang bisa menyebabkan mutasi pada kromosom atau DNA dan perubahan informasi genetik, sedangkan karsinogen adalah agen yang bisa menyebabkan terjadinya kanker atau tumor (Kesuma dkk., 2018). Untuk keempat senyawa yang diketahui memiliki nilai energi bebas lebih negatif dari ligan alami yaitu

geranin A bersifat non mutagen dan negatif karsinogen, (+)-afzelechin-O-β-4'-D-glucopyranoside bersifat mutagen dan negatif karsinogen, 3'deoxydryopteris acid bersifat mutagen dan negatif karsinogen, sedangkan (+)-afzelechin bersifat mutagen dan negatif karsinogen. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil prediksi toksisitas senyawa akar pakis tangkur (*Polypodium feei* METT)

No	Senyawa/Ligan	Mutagen	Karsinogen
		Mutagen/Non-Mutagen	(-) / (+)
1	Geranin A	Non-Mutagen	Negatif
2	3'-deoxydryopteris acid	Non-Mutagen	Negatif
3	(+)-afzelechin-β-4'Dglukopyranoside	Mutagen	Negatif
4	(+)-afzelechin	Mutagen	Negatif

Simulasi MD ini diawali dengan melakukan perubahan *runtime* menjadi GPU, lalu *instalasi packages* atau aplikasi utama yang dibutuhkan pada proses simulasi MD yang dilanjutkan dengan penautan antara *google colab* dengan *google drive* agar terbuhung. Lalu, dibuat folder khusus dan upload protein serta ligan yang digunakan untuk simulasi MD di *google drive* sehingga proses MD dapat berlangsung dan hasil proses nantinya akan tersimpan otomatis pada folder tersebut.

Setelah dilakukan pengaturan, tahap selanjutnya yaitu pembuatan topologi dengan pemberian medan gaya (*force field*) ff19sb pada ligan uji dan GAFF2 (*Generan Amber Force Field 2*) pada protein. Setelah itu, dilakukan tahap solvasi dengan melarutkan kompleks ligan dan reseptor dalam model TIP3 air dengan *Box type* kubik. Selanjutnya, tahap netralisasi yaitu membuat sistem menjadi netral dengan pemberian ion, dimana dalam penelitian ini menggunakan ion Na⁺ dan ion Cl⁻ dengan konsentrasi 0,15. Kemudian dilanjutkan dengan tahap minimasi yang bertujuan untuk meminimasi efek sterik yang

muncul dari struktur dengan energi tinggi dan menghindari terjadinya kontak ikatan yang tidak sesuai. Tahap equilibrasi dilakukan untuk menstabilkan sistem sehingga dalam kondisi volume, tekanan, dan suhu yang konstan. Setelah tahap equilibrasi selesai dilakukan, kemudian dilakukan tahap produksi yang menandakan bahwa proses simulasi dinamika molekuler (MD) dimulai (Muttuqin, 2019). Simulasi MD dijalankan selama 10ns pada suhu (T) 310°K atau 36,8°C. Setelah proses *running* tahap produksi selesai, kemudian analisis terhadap hasil simulasi dinamika molekuler yang meliputi parameter RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dan RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) dengan membandingkan antara hasil simulasi dinamika molekuler senyawa uji dan ligan pembanding yang digunakan. Terkait ligan alami yang tidak bisa dilakukan simulasi MD dikarenakan adanya kegagalan dalam pembuatan topologi dan tahap persiapan. Hal tersebut diakibatkan oleh ligan alami yang tidak memiliki bentuk isomer sehingga sistem mengalami kesulitan saat membaca dan menentukan topologi. Adanya keterbatasan

pada penggunaan *software openMM* dengan bantuan *google colab* seperti waktu penggunaan dan kekuatan GPU.

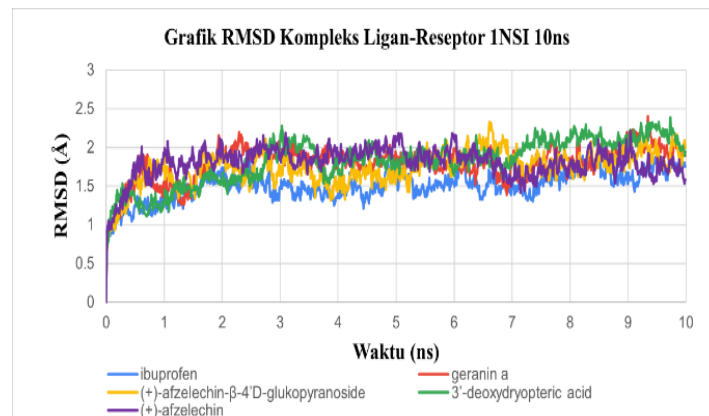
Analisis terhadap hasil RMSD bertujuan untuk membandingkan terkait perubahan atau pergeseran yang terjadi pada konformasi molekul selama proses simulasi MD berlangsung (Mengist dkk., 2021). RMSD merupakan nilai penyimpangan yang menggambarkan perbandingan antara konformasi ligan dengan reseptor saat proses simulasi MD berlangsung dengan konformasi ligan dan reseptor awal (Dermawan dkk., 2019).

Nilai RMSD dapat dikatakan stabil dan memenuhi syarat apabila tidak terjadi fluktuasi tidak terlalu tajam atau tidak terlalu tinggi hingga 0.2-0,5 nm (2-5 Å) (Mengist dkk., 2021).

Terjadinya peningkatan nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur protein atau target mulai terbuka dan ligan mulai mencari koordinat sisi ikatan yang sesuai dengan targetnya. Adanya peningkatan fluktuasi nilai RMSD yang terlalu tinggi menandakan bahwa terdapat ikatan dari protein atau reseptor yang

terlepas, sehingga dapat terjadinya denaturasi pada protein.

Berdasarkan hasil grafik nilai RMSD kompleks ligan uji terhadap reseptor 1NSI selama 10ns, diperoleh hasil bahwa pada ligan uji geranin A memiliki nilai fluktuasi pada rata-rata sebesar 1.79 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 2.40 Å, (+)-afzelechin-O-β-4'-D-glucopyranoside pada rata-rata sebesar 1.73 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 2.32 Å, 3'-deoxydryopteris acid pada rata-rata sebesar 1.82 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 2.38 Å, dan (+)-afzelechin pada rata-rata sebesar 1.80 Å dengan fluktuasi tertinggi sebesar 2.20 Å. Pada ligan perbandingan ibuprofen, menunjukkan nilai rata-rata fluktuasi RMSD yaitu 1.50 Å dengan nilai tertinggi yang dicapai sebesar 1.96 Å. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa ligan uji dan ligan perbandingan diprediksi memiliki interaksi stabil ketika berikatan dengan reseptor 1NSI selama 10ns. Hal tersebut dikarenakan, masih dalam *range* 0.2-0.5 nm (25 Å) (Elfita dkk., 2023). Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 2.



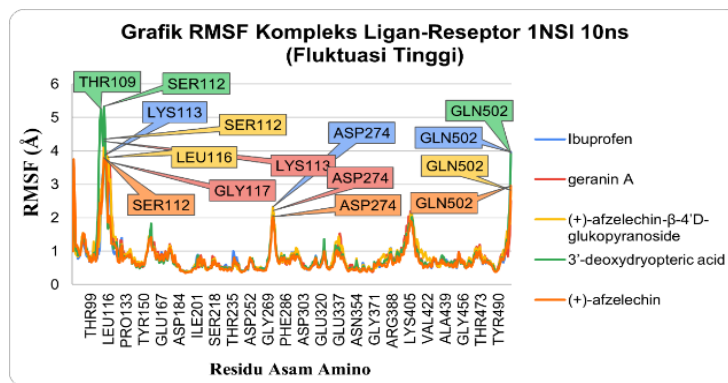
Gambar 2. Grafik *Root mean Square Deviation* (RMSD) kompleks ligan-reseptor iNOS 10ns

Selain nilai RMSD dilakukan juga analisis terhadap nilai RMSF. Nilai RMSF merupakan sebuah parameter hasil simulasi MD yang menggambarkan terkait fleksibilitas residu asam amino selama proses simulasi MD berlangsung. Hasil residu dengan fluktuasi yang rendah menggambarkan bahwa residu tersebut tidak memberikan fluktuasi yang tinggi sehingga dapat disebutkan bahwa residu tersebut mempunyai ikatan atau interaksi yang

stabil dan aktif berperan pada situs pengikatan ligan dan reseptor. Sedangkan, pada hasil residu yang memiliki fluktuasi tinggi menggambarkan bahwa residu tersebut mempunyai fluktuasi yang tinggi sehingga dapat disebutkan residu tersebut mempunyai interaksi yang tidak stabil akibat terjadinya banyak perubahan posisi saat proses simulasi MD berlangsung (Mardianingrum dkk., 2021). Berdasarkan hasil grafik nilai RMSF kompleks

ligan uji terhadap reseptor 1NSI hasil simulasi dinamika molekuler selama 10ns, diperoleh hasil bahwa pada ligan uji geranin A residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu LYS113, GLY117, ASP274, pada ligan uji (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER112, LEU116, GLN502, pada ligan uji 3'-deoxydryopteric acid residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER112, THR109, GLN502, dan pada ligan uji (+)-afzelechin

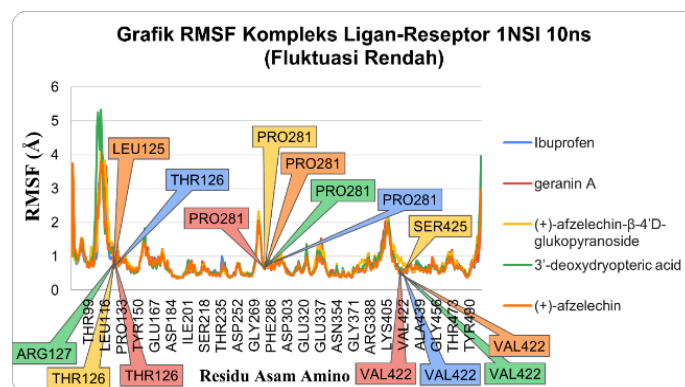
residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu SER112, GLN502, ASP274. Kemudian, pada ligan perbandingan ibuprofen residu yang mengalami fluktuasi tinggi yaitu LYS113, GLN502, dan ASP274. Dari hasil analisis, menunjukkan bahwa residu asam amino yang mempunyai fluktuasi tinggi diprediksi memiliki ikatan yang tidak stabil dan tidak aktif dalam situs pengikatan, dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Root Mean Square Fluctuation (RMSF) kompleks ligan-reseptor iNOS 10ns yang mempunyai nilai fluktuasi tinggi

Residu asam amino yang mengalami fluktuasi rendah pada kompleks ligan uji geranin A terhadap reseptor 1NSI yaitu THR126, PRO281, VAL422, pada kompleks ligan uji (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside yaitu THR126, PRO281, SER425, pada kompleks ligan uji 3'-deoxydryopteric acid yaitu ARG127, PRO281, VAL422, dan pada kompleks ligan uji (+)-afzelechin yaitu LEU125, PRO281, VAL422. Sedangkan, pada ligan perbandingan

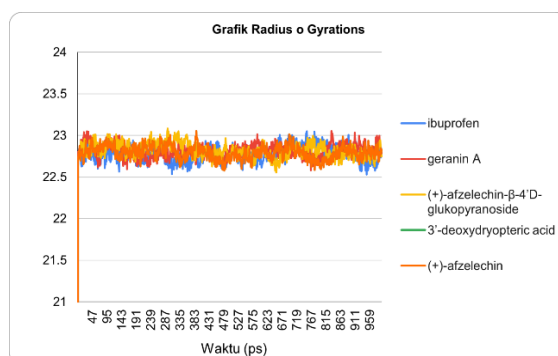
ibuprofen residu yang mengalami fluktuasi rendah yaitu THR126, PRO281, dan VAL422. Hasil yang menunjukkan residu asam amino dengan fluktuasi rendah pada kompleks ligan uji dan ligan perbandingan terhadap reseptor 1NSI selama 10ns diprediksi memiliki interaksi yang stabil dan berperan aktif pada daerah pengikat tersebut yang memiliki kesamaan residu asam amino, dapat dilihat pada Gambar 4



Gambar 4. Grafik *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) kompleks ligan-reseptor iNOS yang mempunyai fluktuasi rendah

Analisis selanjutnya yaitu *radius of gyration* pada kompleks ligan pembanding dan ligan uji. Dari hasil analisis kompleks ligan pembanding yaitu ibuprofen menunjukkan adanya fluktuasi tinggi pada 753 ns sehingga protein menjadi terbuka akan tetapi lipatan protein kembali menjadi stabil. Kemudian, kompleks ligan uji geranin A menunjukkan adanya fluktuasi yang tinggi pada 834 ns, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside pada 295 ns, 3'-deoxydryopteris acid pada 389 ns, dan (+)afzelechin pada 389 ns yang menyebabkan protein menjadi terbuka. Hasil menunjukkan bahwa semua kompleks mengalami satu kali

lipatan dan bisa dikatakan stabil. Berdasarkan rata-rata nilai RoG kompleks ibuprofen sebagai ligan pembanding memiliki kestabilan yang lebih rendah yaitu 22.7 Å dari pada kompleks ligan uji geranin A dengan rata-rata 22.8 Å, (+)-afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside dengan rata-rata 22.8 Å, 3'-deoxydryopteris acid dengan rata-rata 22.7 Å, dan (+)-afzelechin dengan rata-rata 22.7 Å. Hasil analisis RoG ini menunjukkan ligan pembanding dengan ligan uji memiliki kestabilan dengan nilai yang tidak jauh berbeda antara semua kompleks tersebut dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. *Radius of Gyration* (RoG) kompleks ligan-reseptor iNOS

KESIMPULAN

Diperoleh senyawa pemandu geranin A, (+)afzelechin-O- β -4'-D-glucopyranoside, 3'-deoxydryopteris acid dan (+)-afzelechin yang dapat dikembangkan sebagai antiinflamasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang telah membantu menyelesaikan pelaksanaan penelitian ini, sehingga dapat dituangkan dalam bentuk tulisan.

DAFTAR PUSTAKA

Aswad, M., Nursamsiar, Christine, L. & Hardianti, B. 2019. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Bioaktif dari Kulit Akar Murbei (*Morus sp.*). 23: 85–100.

Dermawan D, Sumirtanurdir R, D.D. 2019. Molecular Dynamics Simulation Estrogen Receptor Alpha againsts Andrographolide as Anti Breast Cancer. *Indones J Pharm Sci Technol*, 2: 65.

Elfita L, Apriadi A, Supandi S, D.S. 2023. Studi Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Turunan Furanokumarin terhadap Reseptor Estrogen Alfa (ER- α) Sebagai Anti Kanker Payudara. *J Sains Farm Klin*, 9: 255.

Ganie, M. A., Sahar, T., Rashid, A., Wani, I. A., Nisar, S., Sathyapalan, T. and Vishnubhatla, S., Ramakrishnan, L., Parvez, T., & Geer, I. 2019. Comparative evaluation of biomarkers of inflammation among Indian women with polycystic ovary syndrome (PCOS)

- consuming vegetarian vs. non-vegetarian diet. *Frontiers in Endocrinology*. 10: 699.
- Hollingsworth SA, D.R. 2018. Molecular Dynamic Simulation for All. *Neuro*. 6: 29–43.
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. and dan Hardjono, S. 2018. Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N- (Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *J. Pharm. Sci. Clin. Res.*, 1: 1–11.
- Khan FH , Dervan E , Bhattacharyya DD , McAuliffe JD , Miranda KM, G. and SA. 2020. The role of nitric oxide in cancer: master regulator or not? *Int J Mol Sci*. 21: 9393.
- Mardianingrum R, Bachtiar KR, Susanti S, Aas Nuraisah AN, R.R. 2021. Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY J Penelit Kim*, 1: 83.
- Mengist HM, Dilnessa T, J.T. 2021. Structural Basis of Potential Inhibitors Targeting SARS-CoV-2 Main Protease. 9: 1–19.
- Muchtaridi, Y.M. 2018. Teori dan Praktek Penambatan Molekul (Molekular Docking). 37–38.
- Muttaqin FZ. 2019. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies Of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (SIRT3) Histone Deacetylase Inhibitor On Melanoma Skin Cancer And Their Toxicities Prediction. 2: 112–121.
- Muttaqin FZ. 2019. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. *Pharmacoscript*, 1: 49–64.
- PreADMET. 202. Description of PreADMET. Available from: <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/description-ofpreadmet/> [Preprint].
- Susanti, N. M. ., Laksmiani, N. P. L., Noviyanti, N. K. M., Arianti, K.M.& D. and K, I. 2019. Molecular Docking Terpinen-4-OL Sebagai Antif...
Suwandi DW, Rostinawati T, M.M.& S.A. 2021. Safety assessment of the Polypodium feei root extract: Acute and subchronic studies, *Toxicology Reports*. 8: 696–704.



*Prosiding Seminar Nasional Diseminasi Penelitian Volume 3
Program Studi S1 Farmasi 2023
Universitas Bakti Tunas Husada
Tasikmalaya, 29 September 2023
p-ISSN: 2964-6154*
