

STUDI HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS, *MOLECULAR DOCKING* DAN EVALUASI IN VITRO BEBERAPA FLAVONOID TANAMAN SEBAGAI COX-2 INHIBITOR

QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP, *MOLECULAR DOCKING* AND IN VITRO STUDY OF SEVERAL FLAVONOIDS AS COX-2 INHIBITORS

Dadan Suryasaputra, Rina Anugrah, Algi Ikhsan, Rismaya

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi.

Naskah diterima tanggal 20 Februari 2019

ABSTRACT

Flavonoids are polyphenol group compounds that had anti-inflammatory activity and has been considered a new class of natural anti-inflammatory agents by inhibiting COX-2 enzyme, including hesperidin, diosmin, and ginkgetin. This study objective was to determine the potential of several flavonoids (luteolin, kaemferol, apigenin, quercetin, quersitrine, catechin, baikalein, rutin, and mirisetin) as a COX-2 selective inhibitor using quantitative structure activity relationship, and molecular docking approach, and also their interaction with the COX-2 enzyme. The compounds that QSAR predicted to had COX-2 inhibition activity were rutin, quersitrin, mirisetin and quersetin with a $\log(1/IC_{50 \text{ predicted}})$ value of 7.52 μM ; 6.25 μM ; 5.48 μM ; and 5.46 μM respectively. Based on the results of molecular docking study, 4 potential flavonoids obtained as COX-2 inhibitors : mirisetin, quercetin, catechin, and apigenin, with RMSD $0,2301 \pm 0,0185$ and ΔG values respectively -8.57; -8.34; -8.68; and -8.54 (kcal/mol). Ligands that have potential for target receptors were tested using ELISA techniques against COX-2 enzyme, which were rutin, quercetin and miricetin, showed percent inhibition of 42.9%; 40.26%; 53.53% compared to celecoxib as a standard with 57.32% inhibition. These three flavonoids were potential to be developed as COX-2 inhibitor.

Keywords: QSAR, Molecular Docking, COX-2 Inhibitor, Flavonoids, *in vitro*.

ABSTRAK

Flavonoid merupakan senyawa turunan polifenol, yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan dianggap sebagai kelompok baru antinflamasi dengan menghambat enzim COX-2, contohnya hesperidin, diosmin, dan ginkgetin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi beberapa flavonoid (luteolin, kaemferol, apigenin, kuersetin, kuersitrin, katekin, baikalein, rutin, dan mirisetin) sebagai inhibitor selektif COX-2 secara hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA), *molecular docking* dan potensinya terhadap enzim COX-2 secara *in vitro*. Flavonoid yang diprediksikan menggunakan HKSA memiliki aktivitas adalah rutin, quersitrin, mirisetin dan quersetin dengan nilai aktivitas $\log(1/IC_{50 \text{ prediksi}})$ berturut-turut 7.52 μM ; 6.25 μM ; 5.48 μM ; dan 5.46 μM . Dari hasil uji *molecular docking* terhadap enzim COX-2 diperoleh 4 flavonoid potensial yaitu; mirisetin, kuersetin, catechin, and apigenin, dengan RMSD $0,2301 \pm 0,0185$ dan nilai ΔG -nya berturut-turut: -8.57; -8.34; -8.68; and -8.54 (kcal/mol). Ligan yang memiliki potensi terhadap reseptor target dilakukan pengujian aktivitas inhibisi COX-2 secara *in vitro* dilakukan dengan teknik ELISA yaitu rutin, quersetin dan mirisetin, dengan persen inhibisi 42,9%; 40,26%; 53,53% dan celecoxib sebagai pembanding dengan 57,32% inhibisi. Ketiga flavonoid ini berpotensi dikembangkan sebagai inhibitor COX-2.

Kata Kunci : HKSA, Molecular Docking, COX-2 Inhibitor, Flavonoid, *in vitro*.

PENDAHULUAN

Siklooksigenase (prostaglandin endoperoksida sintase atau COX) merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses inflamasi (peradangan). Enzim ini mempunyai

dua isoform yakni siklooksigenase 1 dan 2 (COX-1 dan COX-2) [Leval, et-al, 2000]. COX-1 mengkatalis pembentukan prostanoide (prostaglandin, prostasiklin, tromboxan) dan leukotrien [Botting, 2006]. Prostanoid berperan dalam proses trombogenesis dan homeostasis dalam saluran cerna dan ginjal [Rathee et-al, 2009]. COX-2 hampir tidak terdeteksi dalam

Alamat korespondensi :
danfm97@gmail.com

kondisi fisiologis normal. Keberadaan COX-2 diinduksi oleh berbagai rangsangan seperti faktor pertumbuhan, ester phorbol, interleukin-1 (IL-1), atau lipopolisakarida (LPS) [Leval, et-al, 2000]. Tingginya kadar COX-2 terdeteksi dalam eksudat dan sumsum tulang belakang hewan percobaan saat terjadi peradangan. Senyawa-senyawa selektif COX-2 inhibitor menunjukkan efek anti-inflamasi, antipiretik dan analgesik pada hewan percobaan dan manusia [Brachmachari et-al, 2008; Damon et-al, 1987].

Flavonoid memiliki aktivitas anti-inflamasi dan telah dianggap sebagai kelas baru agen anti-inflamasi alami [Strzelecka et-al, 2005]. Flavonoid dapat menghambat kerja enzim COX [Brachmachari et-al, 2008]. Beberapa flavonoid berperan dalam menghambat pembentukan prostaglandin, diantaranya hesperidin, diosmin, amentoflavon, bilobetin, morelloflavon dan ginkgetin [Damon et-al, 1987; Kim et-al, 1999; Kitchen et-al, 2004].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi dan aktivitas beberapa flavonoid (luteolin, kaemferol, apigenin, kuersetin, kuersitrin, katekin, baikalein, rutin, dan mirisetin) dengan enzim COX-2 dan potensinya sebagai inhibitor selektif COX-2 melalui pendekatan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA), *docking* molekular dan pengujian secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Pengujian *in silico* akan dilakukan berdasarkan *ligand based drug design* (LBDD) yaitu rancangan obat berdasarkan ligan yang sudah diketahui aktivitasnya sebagai inhibitor COX-2 dengan menggunakan beberapa perangkat lunak. Metode LBDD yang digunakan adalah kajian HKSA [Tahir dkk, 2003] dan *docking* molekular [Madeswaran et-al, 2012; Taylor et-al, 2002]. Perangkat lunak yang akan digunakan adalah MarvinSketch[®] dan Discovery Studio Client[®] untuk desain molekul dan optimasi ligan serta perhitungan descriptor, EasyQSAR[®] untuk membangun model persamaan HKSA, ChemBioOffice[®] Ultra v.13 untuk optimasi enzim, AutoDocks[®] untuk *docking* dan Discovery Studio Client[®] untuk visualisasi tiga dimensi (3D) hasil *docking*.

Hasil prediksi aktivitas melalui model persamaan HKSA berupa prediksi nilai aktivitas ($\text{Log } 1/IC_{50}$ dalam satuan μMolar) [Tahir dkk, 2003], hasil *docking molekular* dinilai berdasarkan beberapa parameter yaitu energi aktivasi (ΔG), ikatan yang terbentuk, jarak ikatan dan asam amino yang terlibat dalam ikatan ligan-enzim. [Agista dkk, 2013; Morris GM & Lim-Wilby M, 2008].

Pengujian aktivitas inhibisi COX-2 secara *in vitro* akan dilakukan dengan teknik ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

Microplate Reader DNM-9602G menggunakan metode *Colorimetric COX screening assay* terhadap beberapa flavonoid yang diprediksikan memiliki potensi sebagai COX-2 secara HKSA dan *docking* [Pradelles et-al, 1985].

Metode

1. Prediksi Aktivitas Melalui pendekatan HKSA

Persamaan HKSA dibangun dengan melibatkan 7 deskriptor yang mewakili sifat fisikokimia lipofilisitas ($\log P$, Molar refractivity), elektronik (HOMO, LUMO, Moment dipole) dan sterik (Randix index; Harray index) serta melibatkan 25 senyawa yang diketahui telah memiliki aktivitas sebagai COX-2 inhibitor turunan celecoxib. Nilai deskriptor dari 25 senyawa turunan Celecoxib dapat dilihat pada Tabel 1 [Siswandono, Soekardjo B, 2011].

2. Molecular Docking

Molecular docking melibatkan beberapa reseptor COX-2 yang sudah teridentifikasi dan diunduh dari PDB, yaitu enzim COX-2 dengan kode PDB 6COX, 4COX, dan 3PGH. Sebagai ligan uji digunakan sembilan senyawa flavonoid yaitu luteolin, kaemferol, apigenin, kuersetin, kuersitrin, katekin, baikalein, rutin, dan mirisetin. Sebagai pembanding antiinflamasi digunakan obat golongan *Non Steroid AntiInflammatory Drugs* (NSAID) yaitu celecoxib sebagai *selective inhibitor COX-2*.

3. Uji in vitro

Pengujian aktivitas inhibisi COX-2 secara *in vitro* dilakukan dengan teknik ELISA, menggunakan Kit *colorimetric COX (ovine) inhibitor screening assay* No. 560131 (Cayman Chem Com, 2011). Uji aktivitas flavonoid dilakukan pada *micro plate*. Sebanyak 100 μl buffer (*Enzyme Immuno Assay*) EIA dimasukkan pada *sumur Non Spesific Binding* (NSB). Sebanyak 50 μl buffer EIA pada *sumur* B0. Larutan standar prostaglandin ditambahkan sebanyak 50 μl pada masing-masing *sumur* S1-S8. *Sumur* BC diisi dengan 50 μl larutan *background*, sebanyak 50 μl larutan aktivitas awal COX-2 dengan pengenceran 2.000 kali pada *sumur* (%), selanjutnya pada *sumur* inhibitor COX-2 diisi dengan larutan senyawa uji yang telah diencerkan 2.000 kali.

Tahap berikutnya, setiap *sumur* ditambahkan prostaglandin asetilkolinesterase (PG AchE *tracer*) kecuali pada *sumur Total Activity* (TA) dan Blk (Blanko), setiap *sumur* ditambahkan 50 μl antiserum prostaglandin kecuali *sumur* TA dan NSB kemudian plat ditutup dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang. Setelah *plate* diinkubasi, *plate* dicuci dengan larutan penyangga pencuci, kemudian setiap *sumur* ditambahkan dengan pereaksi Ellman sebanyak 0.2 ml dan *sumur* TA diisi dengan larutan PG AchE *tracer* atau prostaglandin

Tabel 1. Senyawa turunan celecoxib beserta nilai deskriptor dan aktivitasnya

Kode Senyawa	Nama Senyawa	IC50	LOG (1/IC50)	LogP	HOMO	LUMO	Molar Refractivity	Randic Index	Harary Index	Momen Dipol
A1	2-(4-Sulfamoylphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)-1H-indole	0.000006	5.22	3.73	-8.28419	-10.4383	120.18	12.97	105.07	4.644
A2	3-(4-Fluorophenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-indole	0.00002	4.69	4.27	-8.57152	-12.0834	114.35	12.43	100.1	4.92
A3	3-(4-Methoxyphenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-indole	0.00002	4.69	3.97	-8.34407	-1.14382	120.6	12.97	105.07	4.512
A4	4-(5-Methyl-3-phenyl-1H-indol-2-yl)benzenesulfonamide	0.00002	4.69	4.41	-8.34665	-1.00721	118.09	12.43	100.5	4.184
A5	4-(3-p-Tolyl-1H-indol-2-yl)benzenesulfonamide	0.0000692	4.16	4.41	-8.40357	-10.4219	113.81	12.43	100.1	4.304
A6	4-(3-Phenyl-1H-indol-2-yl)benzenesulfonamide	0.0000891	4.05	3.89	-8.42149	-1.0226	113.81	12.04	94.8	4.323
A7	2-(4-(Methylsulfonyl)phenyl)-3-p-tolyl-1H-indole	0.0000891	4.05	4.64	-8.46358	-1.1248	118.5	12.43	100.1	4.532
A8	4-(5-Chloro-3-phenyl-1H-indol-2-yl)benzenesulfonamide	0.000141	3.85	4.5	-8.54801	-1.14671	118.53	12.43	100.5	3.661
A9	3-(3,4-Dimethylphenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-indole	0.00017	3.77	5.15	-8.33824	-1.13871	122.79	12.84	106.09	4.46
A10	N-(4-(3-Phenyl-1H-indol-2-yl)phenylsulfonamide)	0.000178	3.75	3.88	-8.35	-1.10364	122.19	13.45	110.2	5.542
A11	5-Methyl-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-3-phenyl-1H-indole	0.000282	3.55	4.64	-8.39833	-1.11078	118.5	12.43	100.5	4.267
A12	5-Chloro-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-3-phenyl-1H-indole	0.000363	3.44	4.73	-8.63296	-1.23109	118.94	12.43	100.5	3.431
A13	3-(4-Bromophenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-indole	0.000372	3.43	4.9	-8.59858	-1.23779	121.76	12.43	100.1	4.8
A14	Celecoxib	0.00051	3.29	4.01	-9.54842	-1.25828	102.66	12.05	98.35	7.53
A15	4-[5-Chloro-3-(4-chlorophenyl)-1H-indol-2-yl]benzenesulfonamide	0.000537	3.27	5.01	-8.6118	-1.2131	123.24	12.83	105.91	3.153
A16	4,7-Ethan-4,5,6,7-tetrahydro-1,3-bis(4-fluorophenyl)-2H-isoindole	0.000601	3.22	6.04	-8.14088	-1.11037	105.87	12.2	97.4	0.3278
A17	2-(4-Methylphenyl)-3-phenyl-1H-indole	0.000603	3.22	4.13	-8.49205	-1.13292	114.22	12.04	94.8	4.409
A18	2,4,5,6-Tetrahydro-1,3-diphenylcyclopenta[c]pyrrole	0.000701	3.15	5.2	-7.90578	-0.29365	93.72	9.93	68.81	0.793
A19	5-Chloro-3-(3-chlorophenyl)-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-1H-indole	0.000794	3.1	5.33	-8.71858	-1.31653	123.66	12.83	106.29	4.215
A20	4,7-Methan-4,5,6,7-tetrahydro-1,3-bis(4-fluorophenyl)-2H-isoindole	0.0011	2.95	5.59	-8.15719	-0.54378	101.27	11.7	91.37	0.4451
A21	5-Bromo-2-(4-(methylsulfonyl)phenyl)-3-phenyl-1H-indole	0.00141	2.85	4.9	-8.6468	-1.25837	121.76	12.43	100.5	3.228
A22	4-(3-(3,4-Dimethylphenyl)-1H-indol-2-yl)benzenesulfonamide	0.00145	2.83	4.92	-8.27207	-1.01894	122.37	12.84	106.09	3.544
A23	1,3-Diphenyl-4,5,6,7-tetrahydro-2H-isoindole	0.0015	2.82	5.64	-7.92508	-0.17781	98.32	10.43	73.95	1.059
A24	4,7-Ethan-4,5,6,7-tetrahydro-1,3-diphenyl-2H-isoindole	0.0016	2.79	5.75	-7.96268	-0.1547	105.62	11.42	87.09	0.9952
A25	1,3-Bis(4-fluorophenyl)-4,5,6,7-tetrahydro-2H-isoindole	0.0017	2.77	5.93	-8.11189	-0.50817	98.58	11.22	83.79	0.2364

asetilkolinesterase (*tracer*) sebanyak 5 μ l. *Micro plate* ditutup menggunakan plastik film dan dibiarkan bereaksi dengan diinkubasi pada ruang gelap selama 60-90 menit lalu diukur menggunakan *Elisa reader* dengan panjang gelombang 412 nm. Aktivitas inflamasi diperoleh dengan perhitungan absorbansi.

Nilai % inhibisi pada konsentrasi 100 ppm diperoleh berdasarkan persamaan garis $Y = a + bx$ dari kurva standar prostaglandin yang telah dibuat. Nilai x yang diperoleh dari persamaan (1) sebanding dengan konsentrasi prostaglandin yang berhasil dihambat oleh COX-2.

$$Y = a + b \ln(x) \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan:

a dan b = konstanta
X = [prostaglandin] pg/mL
Y = % inhibisi

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Prediksi Aktivitas Melalui pendekatan HKSA

Persamaan HKSA diperoleh dengan menghubungkan antara nilai sifat fisikokimia (deskriptor) dengan nilai aktivitas 25 senyawa turunan celecoxib, yang tercantum pada Tabel 1. Senyawa turunan celecoxib beserta nilai deskriptor dan aktivitasnya, menggunakan pendekatan matematik persamaan regresi linier multivarian melalui perangkat lunak EasyQSAR[®] yang kemudian persamaan HKSA tersebut

Tabel 2. Nilai aktivitas senyawa turunan celecoxib

Kode Senyawa	LOG (1/IC50) Eksperimen	LOG (1/IC50) Prediksi
A6	4.05	4.1
A8	3.85	3.67
A11	3.55	3.57
A12	3.44	3.52
A13	3.43	3.43
A15	3.27	3.32
A18	3.15	3.15
A19	3.1	3.09
A20	2.95	2.97
A24	2.79	2.79
A25	2.77	2.75

digunakan untuk memprediksikan aktivitas sembilan senyawa flavonoid dengan luaran berupa konsentrasi (μ Molar). EasyQSAR[®] menghasilkan persamaan hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) yang memberikan pendekatan deskripsi dan prediksi terbaik adalah sebagai berikut (persamaan (2)):

$$\text{LOG (1/IC}_{50}) = 5.537 - 0.682*(\text{LogP}) - 5.275 \times 10^{-9}*(\text{HOMO}) - 7.332 \times 10^{-2}*(\text{LUMO}) - 7.04 \times 10^{-3}*(\text{Molar_Refractivity}) + 0.321*(\text{Randix_Index}) - 2.019 \times 10^{-2}*(\text{Harary_Index}) - 3.978 \times 10^{-3}*(\text{Moment_Dipole}) \dots\dots\dots(2)$$

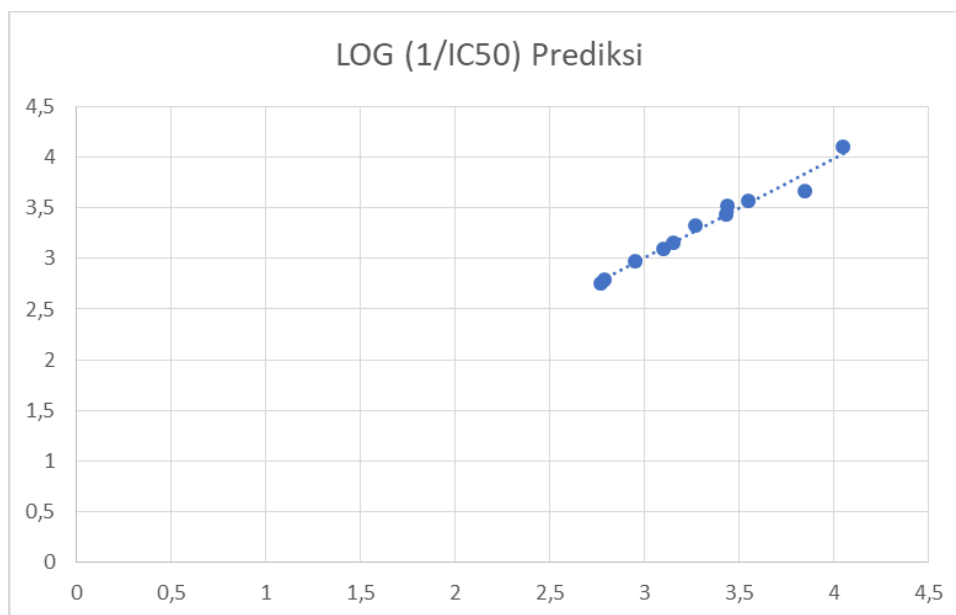
dengan analisis statistik yaitu : $r=0,99$, $r^2=0.98$ $SE=0.04$ $F_{hit}/F_{tab}=16,11$. Data validasi persamaan HKSA serta kurva validasinya dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Senyawa flavonoid dihitung nilai deskriptornya. Nilai deskriptor senyawa flavonoid

dapat dilihat pada Tabel 4. Nilai deskriptor senyawa Flavonoid. Nilai deskriptor tersebut disubstitusi ke persamaan HKSA (persamaan (2)) sehingga diperoleh nilai aktivitas. Nilai aktivitas ($\log(1/IC_{50})$) hasil prediksi senyawa flavonoid dapat dilihat pada Tabel 3. Flavonoid yang memiliki aktivitas COX-2 inhibitor terbaik yaitu rutin, kuersitrin, quersetin dan mirisetin dengan nilai $\log(1/IC_{50pred})$ berturut-turut 7,52 μ M, 6,25 μ M, 5,46 μ M, 5,48 μ M, dan senyawa pembandingan celecoxib memiliki nilai $\log(1/IC_{50})$ sebesar 3,29 μ M.

2. Prediksi Aktivitas Melalui *Molecular Docking*

Penelitian ini menggunakan enzim COX-2 sebagai protein target dengan tiga kode PDB yaitu 6COX, 4COX, dan 3PGH. Senyawa *original ligand* yang terdapat pada file PDB 6COX adalah



Gambar 1. Kurva validasi persamaan HKSA

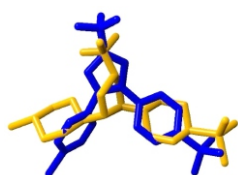
Tabel 3. Nilai IC₅₀predicted Flavonoid dari persamaan HKSA

No.	Nama	Log(1/IC50) (μM)	IC50 (μM)
1	Luteolin	5.09	8x10 ⁻⁶
2	Kaemferol	5.04	9x10 ⁻⁶
3	Apigenin	4.85	1.4x10 ⁻⁵
4	Quersetin	5.46	3.5x10 ⁻⁶
5	Quersitrin	6.25	5.6x10 ⁻⁷
6	Katekin	5.45	3.5x10 ⁻⁶
7	Baikalein	5.45	3.5x10 ⁻⁶
8	Rutin	7.52	3x10 ⁻⁸
9	Mirisetin	5.48	3.3x10 ⁻⁶
	Celecoxib	3.29	5.1x10 ⁻⁴

Tabel 4. Nilai deskriptor senyawa Flavonoid

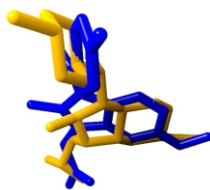
No.	Nama	LogP	HOMO	LUMO	Molar Refractivity	Randic Index	Harary Index	Momen Dipol
1	Luteolin	2.40	-8.9919	-0.8419	81.49	9.95	73.24	4.901
2	Kaemferol	2.46	-8.6079	-0.7969	81.56	9.97	73.94	4.501
3	Apigenin	2.71	-9.0759	-0.7402	79.88	9.54	67.99	5.143
4	Quersetin	2.16	-8.6015	-0.8626	83.17	10.38	79.35	4.719
5	Quersitrin	0.90	-8.8209	-0.9777	114.06	15.08	137.77	2.095
6	Katekin	1.80	-8.9321	-0.0857	80.69	9.95	73.26	3.286
7	Baikalein	1.80	-8.9321	-0.0857	80.69	9.95	73.26	3.286
8	Rutin	-0.87	-8.8248	-1.0026	146.47	20.28	205.94	3.538
9	Mirisetin	1.85	-8.6518	-0.9115	84.77	10.79	85.02	5.428

a. 1-phenylsulfonamide -3-trifluoromethyl-5-parabromophenylpyrazole



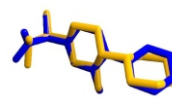
PDB : 6COX
RMSD 0,825± 0,0117 A

b. indometasin



PDB : 4COX
RMSD 0,650± 0,0117 A

c. flubiprofen



PDB : 3PGH
RMSD 0,230± 0,0185 A

Gambar 2. Visualisasi hasil docking ulang senyawa ligan original pada Enzim COX

Tabel 5. Nilai Energi Bebas Ikatan Kompleks Flavonoid dengan COX-2

No	Ligan Uji	Energi Bebas Ikatan Kompleks Ligan uji-Protein Target (ΔG (Kkal/Mol))		
		6COX	4COX	3PGH
1	Apigenin	-8,54	-8,54	-7,35
2	Baikalein	-7,74	-8,16	-7,29
3	Kaemferol	-7,89	-8,21	-7,05
4	Katekin	-8,14	-8,68	-6,89
5	Kuersetin	-8,29	-8,34	-6,87
6	Kuersitrin	-8,53	-7,79	-7,85
7	Luteolin	-8,34	-8,03	-7,44
8	Mirisetin	-9,05	-8,57	-7,17
9	Rutin	-5,85	-4,44	-2,44
10	Celecoxib (Pembanding)	-11,18	-10,01	-9,42

Tabel 6. Persen Inhibisi COX-2

No.	Nama senyawa	Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibisi COX-2
1	Celecoxib	10	57.32 \pm 0.05
2	Rutin	10	42.9 \pm 0.02
3	Quersetin	10	40.26 \pm 0.03
4	Mirisetin	10	53.53 \pm 0.03

1-phenylsulfonamide-3-trifluoromethyl-5-parabromophenylpyrazole, pada file PDB 4COX adalah indometasin dan pada file PDB 3PGH dengan flurbiprofen., seperti yang terlihat pada Gambar 2. Masing-masing kode reseptor memenuhi syarat dengan nilai RMSD $<2\text{\AA}$.

Hasil pengujian sembilan senyawa flavonoid dan satu pembanding dengan metode *molecular docking* dapat dilihat pada Tabel 5. Nilai Energi Bebas Ikatan Kompleks Flavonoid dengan COX-2. Hasil pengujian memperlihatkan bahwa senyawa flavonoid menunjukkan aktivitas lebih baik terhadap reseptor 6COX dan 4COX, dibandingkan terhadap reseptor 3PGH. Untuk senyawa pembanding celecoxib, memperlihatkan energi bebas ikatan Ligan-Reseptor yang cukup rendah terhadap ketiga kode PDB, dengan nilai energi bebas ikatan Ligan-Reseptor yang lebih kecil dari -9 Kkal/mol.

3. Hasil uji in vitro beberapa flavonoid dengan metode ELISA

Hasil pengujian secara in vitro dapat dilihat pada Tabel 6. Pengujian secara in vitro terhadap tiga senyawa flavonoid, yang diprediksikan memiliki aktivitas secara HKSA dan *molecular docking*, diperoleh data bahwa

mirisetin memiliki persen inhibisi sebesar 53,53% yang mendekati aktivitas celecoxib sebagai senyawa pembanding, sebesar 57,32%.

KESIMPULAN

Dari hasil prediksi secara komputasi menggunakan pendekatan HKSA, docking molecular, dan uji in vitro terhadap enzim COX-2 diperoleh senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai inhibitor COX-2 adalah Rutin, Kuersetin, dan Mirisetin.

SARAN

Perlu dilakukan perhitungan HKSA dan docking molecular dengan tes set dan senyawa pembanding yang lebih banyak untuk validasi data, dan pengujian in vitro untuk senyawa flavonoid lain yang belum diujicobakan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Penelitian Dosen Pemula tahun 2018.

DAFTAR PUSTAKA

- Agista, Dany D, Purnomo H, Tegar M, Nugroho AG. Interaksi senyawa aktif dari *Aeglemarmelos correa*. sebagai anti-inflamasi dengan reseptor COX-1 dan COX-2. *Trad. Med. J.* 2013;18(2): 80.
- Botting RM. 2006. Cyclooxygenase: Past, present and future. *J. Therm. Bio.* 2004;1017(31): 208.
- Brahmachari G, Jash SK, Mandal LC, Mondal A dan Roy R. Cyclooxygenase (COX) – inhibitory flavonoid from *Limnophila heterophylla*. *Rasāyan journal of chemistry.* 2008;1(2):288-291.
- Damon M, Flandre O dan Fichel F. Effect of chronic treatment with a purified flavonoid fraction on inflammatory granuloma in the rat: Study of prostaglandin E2 and F2 and thromboxane B2 release and histological changes. *Arzneimittel-Forschung.* 1987;37(10):1149-1153.
- Kim H.K, Son KH, Chang HW, Kang SS dan Kim HP. Inhibition of rat adjuvant-induced arthritis by ginkgetin and biflavone. *Planta Med.* 1999;65:465-467.
- Kitchen DB, Decornez H, Furr JR dan Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature review, Drug Discovery.* 2004;3:935-949.
- Leval XD, Delarge J, Somers F, Tullio PD, Henrotin Y, Pirotte B dan Dogné JM. 2000. Recent advances in inducible cyclooxygenase (COX-2) inhibition. *Current Medicinal Chemistry.* 2000;7:1041-1062.
- Madeswaran A, Umamaheswari M, Asokkumar K, Thirumalaisamy, Sivashanmugam, Subhadradevi V dan Jagannath P. In silico docking studies of cyclooxygenase inhibitory activity of commercially available flavonoids. *Asian Journal of Pharmacy and Life Science.* 2012;2(2):174-181.
- Morris GM dan Lim-Wilby M. Molecular docking, methods in molecular biology, dalam Kukol, A, Molecular modeling of proteins. Humana Press, Totowa, New Jersey. 2008: 365-382.
- Pradelles P, Grassi J, and Maclouf J A. Enzyme immunoassays of eicosanoids using acetylcholinesterase as label: An alternative to radioimmunoassay. *Anal. Chem.* 1985;57:1170-1173.
- Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V dan Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: A Review. *Inflammation & Allergy - Drug Targets.* 2009;8:229-235.
- Siswandono, Soekardjo B. *Kimia Medisinal.* Jilid 1. Surabaya: Airlangga University Press; 2011. Hal. 255-276.
- Strzelecka M, Bzowska M, Kozieł K, Szuba B, Dubiel O, nunez DR, Heinrich M, dan Beretaanti J. Inflammatory effects of extracts from some traditional mediterranean diet plants. *Journal of physiology and pharmacology.* 2005;56(1):139.156.
- Tahir I, Wijaya K, dan Widianingsih D. Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Antiradikal Senyawa Turunan Flavon/Flavonol Berdasarkan Pendekatan Free Wilson. Semarang: Universitas diponegoro; 2003.
- Taylor RD, Jewsbury PJ dan Essex JW. A review of protein-small molecule docking methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design.* 2002;16: 151–166.

