

SKRIPSI

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIINFLAMASI
SENYAWA-SENYAWA FLAVONOID DALAM TANAMAN
ROSELA (*Hibiscus sabdariffa* L.) DENGAN TARGET
SIKLOOKSIGENASE-2**



DEWI ANINGSIH

**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
DEPARTEMEN ILMU KEFARMASIAN
SURABAYA**

2022

Lembar Pengesahan

**STUDI *IN SILICO* AKTIVITAS ANTIINFLAMASI
SENYAWA-SENYAWA FLAVONOID DALAM TANAMAN
ROSELA (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.) DENGAN TARGET
SIKLOOKSIGENASE-2**

SKRIPSI

**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

2022

Oleh:

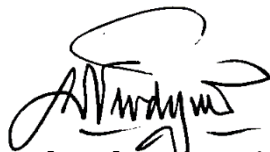
Dewi Aningsih

NIM: 051711133080

Skripsi Ini Telah Disetujui pada Tanggal 28 Februari 2022

Oleh:

Pembimbing Utama



Dr. Apt. Nuzul Wahyuning Diyah, M.Si.

NIP. 196612281992032002

Pembimbing serta



Prof. Dr. Apt. Siswandono, MS.

NIP. 195210021980021001

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Dewi Aningsih

NIM : 051711133080

adalah mahasiswa Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga, menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Studi *In silico* Aktivitas Antiinflamasi Senyawa-Senyawa Flavonoid dalam Tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Target Siklooksigenase-2

adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Skripsi ini merupakan hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh. Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Februari 2021

Yang membuat pernyataan



Dewi Aningsih

NIM 051711133080

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Dewi Aningsih

NIM : 051711133080

menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui abstrak Skripsi yang saya tulis dengan judul:

Studi *In silico* Aktivitas Antiinflamasi Senyawa-Senyawa Flavonoid dalam Tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Target Siklooksigenase-2

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 28 Februari 2021

Yang membuat pernyataan



Dewi Aningsih

NIM 051711133080

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah S.W.T karena atas berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul **Studi *In silico* Aktivitas Antiinflamasi Senyawa-Senyawa Flavonoid dalam Tanaman Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan Target Siklooksigenase-2** sebagai salah satu persyaratan untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Selama proses penyusunan skripsi ini, tentunya tidak lepas dari berbagai dukungan baik fisik maupun psikologis, sehingga pada kesempatan ini, penulis mempersembahkan ucapan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. apt. Nuzul Wahyuning Diah, M.Si., selaku pembimbing utama dan Prof. Dr.apt. Siswandono, MS., selaku pembimbing serta, yang telah membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan memberikan masukan serta ilmu yang sangat bermanfaat selama penyusunan skripsi.
2. Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., M.T., Ak., CMA., selaku Rektor Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker.
3. Prof. apt. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan untuk menyelesaikan program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker.
4. Dr. apt. Juni Ekowati, M.Si. selaku Ketua Departemen dan Apt. Rr. Retno Widyowati, S.Si., M.Pharm., Ph.D. selaku Sekretaris Departemen Ilmu Kefarmasian Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan membantu dalam penyusunan skripsi.
5. Prof. apt. Dr. H. Djoko Agus Purwanto., M.Si. dan apt. Drs. Marcellino Rudyanto, M.Si.,Ph.D selaku dosen penguji dengan kritik dan saran yang sangat membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Apt. Dr. Liza Pristianty, M.Si., MM., selaku dosen wali atas segala bimbingan dan perhatian yang diberikan kepada penulis selama menduduki program pendidikan S1 Pendidikan Apoteker di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

7. Seluruh dosen yang telah mendidik, membimbing, dan membagi ilmu serta pengetahuan selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
8. Keluarga penulis yang terkasih dan tercinta, yang selalu memberikan dukungan dan motivasi selama masa studi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga sampai dengan terselesaikannya skripsi ini.
9. Teman-teman kelas C 2017 Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, yang selama ini telah mewarnai kehidupan perkuliahan penulis, juga mendukung proses penyusunan skripsi ini hingga selesai
10. Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu dan telah membantu penyelesaian skripsi ini.

Semoga Allah memberikan balasan atas bantuan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini, sehingga kritik serta saran yang membangun sangat diharapkan dari berbagai pihak demi penyempurnaan ilmu pengetahuan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan digunakan sebaik mungkin untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Penulis

RINGKASAN

**Studi *In Silico* Aktivitas Antiinflamasi Senyawa-Senyawa
Flavonoid dalam Tanaman Rosela (*Hibiscus Sabdariffa* L.) dengan
Target Siklooksigenase-2**

Dewi Aningsih

Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan salah satu tumbuhan keluarga Malvaceae yang termasuk dalam tanaman yang relatif mudah untuk tumbuh serta digunakan sebagai sumber makanan dan serat yang banyak digunakan sebagai alternatif pengobatan (Voon, Bhat dan Rusul, 2011; Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014). Penelitian Dafallah dan Al-Mustafa (1996), Christian *et al.* (2006), Arunachalam *et al.* (2009), Kao *et al.* (2011) dan Obouayeba *et al.* (2015) menunjukkan *Hibiscus sabdariffa* dapat menghambat aktivitas inflamasi.

Penelitian tentang potensi rosela sebagai antiinflamasi dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa metabolit sekundernya sebagai senyawa uji dimana hingga saat ini belum pernah dipastikan senyawa manakah diantara senyawa-senyawa dalam bunga rosela tersebut yang mempunyai aktivitas antiinflamasi dengan menghambat siklooksigenase-2 (COX-2). Rosela mengandung senyawa flavonoid, dimana flavonoid diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi (Mohammed *et al.*, 2014). Senyawa uji pada penelitian ini merupakan senyawa golongan flavonoid yang secara alami terdapat dalam tanaman rosela yaitu delfinidin, delfinidin-3-sambubiosida, delfinidin-3-glukosida, sianidin, sianidin-3-glukosida, sianidin-3-sambubiosida, gosipetin, hibisetin, hibisetin-3-glukosida, kuersetin, kuersetin-3-sambubiosida, dan kuersetin-3-rutinosida. Permasalahannya adalah belum diketahui senyawa manakah diantara 12 senyawa kandungan tanaman tersebut yang menghasilkan aktivitas antiinflamasi. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas 12 senyawa dalam tanaman rosela secara *in silico*.

Aplikasi komputer digunakan untuk melakukan kajian interaksi secara *in silico* antara senyawa sebagai uji dengan ligan dan reseptor yang telah diketahui data struktur 3D nya. Hasil uji interaksi ini dapat memprediksi aktivitas senyawa-senyawa uji dan sekaligus dapat mengeliminasi senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas rendah.

Pada penelitian ini yang dipilih sebagai reseptor adalah COX-2, yaitu enzim yang yang dapat dihambat oleh obat-obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) seperti diklofenak. Diklofenak sering digunakan sebagai terapi garis pertama untuk nyeri akut dan kronis dan peinflamasi dari berbagai penyebab yang terbukti secara *in vitro* dan *in vivo* dapat berinteraksi dengan COX-2 dan menghambatnya sehingga tidak timbul inflamasi. Oleh karena itu untuk mengetahui senyawa mana yang memiliki potensi sebagai inhibitor COX-2, dilakukan *docking* molekul terhadap COX-2 (PDB ID:1PXX) yang mengikat diklofenak sebagai senyawa standar. *Docking* molekul secara *in silico* terhadap reseptor COX-2 dilakukan menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD) untuk dievaluasi nilai *re-rank score* (RS) senyawa uji yang berinteraksi dengan reseptor sebagai ukuran afinitas ligan-reseptor. Nilai RS yang semakin kecil menggambarkan ikatan ligan-reseptor yang semakin stabil, dan jika semakin stabil ikatan ligan-reseptor maka diprediksi aktivitas senyawa tersebut semakin besar (Toutain dan Bousquet-Mélou, 2004). Senyawa yang menunjukkan afinitas yang lebih tinggi terhadap COX-2 daripada senyawa standar

diklofenak kemudian diprediksi sifat absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitasnya (ADMET) menggunakan pkCSM online.

Berdasarkan hasil penentuan sifat fisikokimia secara *in silico*, diantara senyawa-senyawa yang terdapat dalam rosela hanya sianidin dan kuersetin yang memenuhi semua syarat hukum lima Lipinski yaitu memiliki BM <500 g/mol, nilai LogP lebih kecil dari 5, HBA ≤ 10 dan HBD ≤ 5 . Dari *docking* molekul dua belas senyawa flavonoid yang terkandung dalam rosela, didapatkan hasil bahwa delapan senyawa memiliki nilai RS lebih kecil dari senyawa standar diklofenak (RS: -84,461 kkal/mol), senyawa-senyawa tersebut adalah delfinidin-3-glukosida (RS:-128,367 kkal/mol), sianidin-3-glukosida (RS:-124,88 kkal/mol), delfinidin (RS:-105,665), hibisetin (RS:-105,257), hibisetin-3-glukosida (RS:-124,91), sianidin (RS:-97,630), gosipetin (RS:-95,640), kuersetin (RS:-94,936). Delapan senyawa yang mempunyai RS lebih rendah daripada diklofenak mengikat asam amino yang sama dengan yang diikat diklofenak yaitu Tyr 385, kecuali delfinidin dan delfinidin-3-glukosida yang mengikat asam amino Ser 530 yang sama dengan yang diikat diklofenak. Delapan senyawa yang diprediksi mempunyai aktivitas antiinflamasi terhadap enzim COX-2 lebih tinggi dibanding diklofenak memenuhi persyaratan profil ADMET yang baik secara *in silico* diprediksi dapat diabsorpsi melalui usus, mempunyai volume distribusi sedang, tidak menembus susunan saraf pusat, sebagian besar dari senyawa tersebut tidak menjadi substrat dan penghambat CYP450, dan dapat diekskresi lewat ginjal. Semua senyawa tersebut tidak toksik secara akut, tidak mutagenik, dan tidak bersifat hepatotoksik.

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa dari 12 senyawa yang terdapat dalam tanaman rosela, ada delapan senyawa yang mempunyai aktivitas antiinflamasi melalui hambatan terhadap COX-2 secara *in silico*. Senyawa-senyawa tersebut diprediksi mempunyai sifat ADMET yang memenuhi syarat. Disarankan untuk melakukan uji aktivitas antiinflamasi kedelapan senyawa uji yang terpilih secara *in vitro* dan *in vivo* serta penelitian lebih lanjut terhadap profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas setelah terbukti dari uji *in vitro* dan *in vivo* senyawa terpilih menunjukkan aktivitas antiinflamasi terhadap COX-2.

ABSTRACT

***In Silico* Study Anti-inflammatory Activity of Flavonoid Compounds in Roselle (*Hibiscus Sabdariffa* L.) targeting Cyclooxygenase-2**

Dewi Aningsih

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is a member of the Malvaceae family plant which showed anti-inflammatory activity. This study aims to explore which flavonoid compounds in roselle plant that have anti-inflammatory activity by using molecular docking experiment. *In silico* interactions of the compounds in roselle were carried out by docking the molecules to the COX-2 enzyme (PDB ID:1PXX) where diclofenac was used as a reference. The results of physicochemical properties showed that among the compounds evaluated only cyanidin and quercetin fulfilled all requirements of Lipinski's rule of five law. Based on the docking result of twelve test compounds, it was found that eight compounds had smaller Rerank Score (RS) values than the reference compound diclofenac (RS: -84,461 kcal/mol), these compounds were delphinidin-3-glucoside (RS:-128,367 kcal/mol), cyanidin-3-glucoside (RS:-124,876 kcal/mol), delphinidin (RS:-105,665), hibiscetin (RS:-104,50), hibiscetin-3-glycoside (-124,91), cyanidin (RS:-97,630), gossypetin (RS:-95,640), and quercetin (RS:-94,936). The eight test compounds were investigated for properties of ADMET, where the results indicated that the eight compounds in roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.) could be absorbed through the intestines, had a medium volume of distribution, did not penetrate to the central nervous system. Most of these compounds were not a CYP450 substrate or inhibitor, and could be excreted via the kidneys. All these compounds were not acutely toxic, mutagenic, and hepatotoxic. It was concluded that eight compounds contained in roselle were potential as anti-inflmmaory agent which targeted COX-2.

Keywords: Roselle, Flvonoids, COX-2, Docking, ADMET

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan	ii
KATA PENGANTAR	v
RINGKASAN	vii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB II	7
TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tinjauan Tentang Rosela	7
2.1.1 Deskripsi Tumbuhan	7
2.1.2 Penggunaan Tradisional Rosela	8
2.1.3 Kandungan dalam Rosela	8
2.2 Tinjauan Tentang Antiinflamasi	11
2.2.1 Proses Terjadinya Inflamasi	11
2.2.2 Siklooksigenase	12
2.2.3 Obat Antiinflamasi	13
2.2.4 Metabolit Sekunder Yang Memiliki Efek Antiinflamasi	14
2.2.5 Aktivitas Rosela Sebagai Antiinflamasi	18
2.3 Tinjauan Tentang <i>Docking In silico</i>	20
2.4 Tinjauan Sifat Fisikokimia	21
2.5 Tinjauan ADMET	22
2.5.1 Absorpsi	22
2.5.2 Distribusi	23
2.5.3 Metabolisme	24
2.5.4 Ekskresi	25

2.5.5 Toksisitas	26
BAB III	27
KERANGKA KONSEPTUAL.....	27
3.1 Kerangka Konseptual.....	27
3.2 Skema Kerangka Konseptual	30
3.3 Hipotesis.....	31
BAB IV	32
METODE PENELITIAN	32
4.1 Jenis Penelitian.....	32
4.2 Bahan Penelitian	32
4.3 Alat Penelitian.....	32
4.4 Variabel Penelitian.....	34
4.4.1 <i>Docking</i> Molekul	34
4.4.2 Prediksi ADMET	34
4.5 Definisi Operasioal.	34
4.6 Kerangka Operasional.....	35
4.7 Prosedur Kerja.....	36
4.7.1 Preparasi Senyawa Uji dan Penentuan Sifat Kimia Fisika Senyawa Uji....	36
4.7.2 Preparasi Protein Reseptor.....	36
4.7.3 Validasi Metode <i>Docking</i>	36
4.7.4 <i>Docking</i> Molekul Ligan Uji Dengan Reseptor	37
4.7.5 Prediksi ADMET	37
4.8 Analisis Data	38
4.8.1 Analisis Sifat Fisika Kimia	38
4.8.2 Analisis Hasil <i>Docking</i>	38
4.8.3 Analisis Hasil Prediksi ADMET	38
BAB V	39
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	39
5.1 Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Uji.....	39
5.2 Validasi Metode <i>Docking</i>	40
5.3 <i>Docking</i> Ligan Uji pada COX-2	41
5.4 Hasil Prediksi ADMET	44
5.5 Pembahasan.....	47
5.5.1 Sifat fisikokimia.....	47
5.5.2 <i>Docking</i> molekul.....	53
5.5.3 Profil ADMET	55
BAB VI.....	61

KESIMPULAN DAN SARAN	61
6.1 Kesimpulan	61
6.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62
LAMPIRAN	69

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
II.1 Kandungan Fitokimia Yang Teridentifikasi Pada Daun Rosela	9
II.2 Kandungan Senyawa dalam Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosela (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	10
V.1 Hasil Penentuan Sifat Fisikokimia Senyawa Uji	39
V.2 Hasil <i>Rerank Score</i> ligan uji dan jenis interaksi dan asam-asam amino yang berinteraksi dengan enzim COX-2 (PDB:1PXX)	42
V.3 Absorpsi Senyawa Uji	44
V.4 Distribusi Senyawa Uji	45
V.5 Metabolisme Senyawa Uji	46
V.6 Ekskresi Senyawa Uji	46
V.7 Toksisitas Senyawa Uji	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tumbuhan Rosela	7
2.2 Mekanisme Pembentukan Inflamasi	11
2.3 Struktur Dasar Senyawa Flavonoid	15
2.4 Struktur Dasar Aglikon Senyawa Flavonoid	15
2.5 Struktur Kristal COX-2 Dari Mencit Yang Mengandung Ligan Diklofenak Yang Termasuk Inhibitor Siklooksigenase	21
4.1 Struktur Senyawa Uji	33
5.1 <i>Cavity-1</i> pada reseptor COX-2 (PDB ID:1PXX)	40
5.2 Hasil <i>docking</i> ligan diklofenak pada tempat ikatan (<i>cavity-1</i>)	41
5.3 Interaksi 12 ligan uji pada tempat ikatan (<i>cavity-1</i>) yang sama dengan diklofenak (struktur stick warna ungu) yaitu: delfinidin-3-glukosida (putih), delfinidin (hijau), delfinidin-3-sambubiosida (hijau muda), gosipetin (kuning), hibisetin (coklat), hibisetin-3-glukosida (merah), kuersetin (hijau tua), kuersetin-3-rutinosida (biru muda), kuersetin-3-sambubiosida (biru tua), sianidin (merah muda), sianidin-3-glukosida (oranye), sianidin-3-sambubiosida (abu-abu tua)	41
5.4 Ikatan hidrogen antara diklofenak dengan asam-asam amino pada tempat ikatan COX-2 yang ditampilkan dalam bentuk tiga dimensi (A) dan dua dimensi (B)	43
5.5 Ikatan hidrogen delfinidin-3-glukosida dengan residu asam amino COX-2 yang ditampilkan dalam bentuk tiga dimensi (A) dan dua dimensi (B)	43
5.6 Digram Batang CLogP Senyawa Uji	48
5.7 Diagram HBA dan HBD Senyawa Uji	50
5.8 HBA dan HBD senyawa sianidin (A) dan kuersetin (B)	50
5.9 Diagram batang CMR senyawa uji	51
5.10 Diagram pKa Senyawa Uji	52
5.11 Digram <i>Re-rank Score</i> ligan uji dan diklofenak	53
5.12 Struktur senyawa A=Delfinidin-3-glukosida; B=Sianidin-3-sambubiosida; C=Delfinidin-3-sambubiosida; D=Kuersetin-3-sambubiosida	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bentuk Struktur Dua Dimensi Dan Tiga Dimensi Senyawa Uji	70
2. Nilai RMSD Redocking Ulang Ligan Standar Diklofenak	73
3. Hasil <i>Rerank Score</i> Senyawa Uji Dan Diklofenak	74
4. Kode SMILES Delapan Senyawa Terpilih	75
5. Gambar 2D Interaksi Hidrogen dan Sterik antara Residu Asam Amino dari Reseptor COX-2 (PDB: 1PXX) Dengan Dua Belas Senyawa Uji	76
6. Gambar 3D Interaksi Hidrogen dan Sterik antara Residu Asam Amino dari Reseptor COX-2 (PDB: 1PXX) Dengan Dua Belas Senyawa Uji	81
7. Perhitungan Parameter Toksisitas <i>Rat</i> LD ₅₀	86

DAFTAR SINGKATAN

2D	= 2 dimensi
3D	= 3 dimensi
ADMET	= Absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas
BBB	= Blood brain barrier
BM	= Berat Molekul
Caco2	= Human Colon Carcinoma Cell Line
CMR	= Calculated MR
COX-1	= Cyclooxygenase-1
COX-2	= Cyclooxygenase-2
CPU	= Central Processing Unit
HBA	=Hydrogen - Bond Acceptor
HBD	= Hydrogen - Bond Donor
HPLC	=High-Performance Liquid Chromatography
LD ₅₀	= Lethal Dose, 50%
LogP	= Logaritma koefisien partisi oktanol-air
LOX	=Lipoksigenase
MMFF94	= Merck Molecular Force Field 94
MVD	= Molegro Virtual Docker
MR	= Molar Refractivity
NSAID	= Non Steroid Anti inflammatory Drugs
PDB	= Protein Data Bank
PG	= Prostaglandin
PGE2	= Prostaglandin E2
RMSD	= Root Mean Square Deviation
RS	=Rerank Score
VD _{ss}	= Volume Distribusi Steady State