

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KAROTENOID DARI *NAVICULLA SP*  
DENGAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL**

**Laporan Tugas Akhir**

**Widi Mushizar  
11171121**



**Universitas Bhakti Kencana  
Fakultas Farmasi  
Program Strata I Farmasi  
Bandung  
2021**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KAROTENOID DARI *NAVICULLA SP*  
DENGAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL**

**Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Widi Mushizar  
11171121**

Bandung, 14 agustus 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Dewi Kurnia, M.Si.,)  
NIDN. 0416038501



(Apt. Purwaniati, M.Si.,)  
NIDN. 0403018206

# UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KAROTENOID DARI *NAVICULLA SP* DENGAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL

Oleh :

Widi Mushizar

11171121

## ABSTRAK

*Naviculla sp.* merupakan mikroalga kelas diatom yang memiliki kandungan senyawa karotenoid. Karotenoid adalah pigmen alami yang banyak disintesis di alam dan berpotensi sebagai antiinflamasi. Pada umumnya inflamasi dapat diobati menggunakan obat golongan steroid (AIS) dan nonsteroid (AINS). Namun, Penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid dalam jangka panjang dapat berakibat buruk pada kondisi fisiologis. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antiinflamasi dari senyawa karotenoid yang terkandung dalam *Naviculla sp* secara *in silico*. Metode penelitian yang dilakukan meliputi persiapan ligan uji karotenoid serta protein target dengan ligan alami ibuprofen (COX-1) dan celecoxib (COX-2). Optimasi geometri, validasi dan simulasi *docking* dilakukan pada senyawa uji. Hasil validasi *docking* dilakukan dengan melihat parameter nilai *RMSD*, energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), dan nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Dilakukan penambatan molekul 7 ligan uji karotenoid dengan target 1EQG (COX-1) dan 3LN1 (COX-2). Data aktivitas menunjukkan bahwa ligan uji tidak memiliki interaksi pada COX-1. Namun, pada COX-2 ligan uji memiliki aktivitas akan tetapi interaksi yang terjadi sangat lemah. Nilai  $\Delta G$  ligan alami pada COX-2 adalah -8,96 kkal/mol sedangkan senyawa uji dengan nilai  $\Delta G$  paling rendah dimiliki oleh senyawa betakaroten dengan nilai sebesar -1,51 kkal/mol. Seluruh senyawa uji karotenoid pada mikroalga *Naviculla sp.* hanya memiliki aktivitas antiinflamasi pada COX-2, dan aktivitas antiinflamasi pada COX-2 menunjukkan interaksi yang lebih lemah dibandingkan dengan ligan alami.

**Kata kunci** : Antiinflamasi, karotenoid, , *Naviculla sp.*, siklooksigenase-1 (COX-1), siklooksigenase-2 (COX-2)

**ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF CAROTENOIDS FROM NAVICULLA SP BY  
DOCKING METHOD**

**By:**

**Widi Mushizar**

**11171121**

**ABSTRACT**

*Naviculla sp.* is microalgae diatom class that contains carotenoid compounds. Carotenoids are natural pigments that are widely synthesized in nature and potentially as anti-inflammatories. In general, inflammation can be treated using steroid-type drugs (SAID) and nonsteroids (NSAID). However, long-term use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs can adversely affect physiological conditions. In this study, carotenoid compound in *Naviculla sp.* has been test with *in silico* methode. The research methods included the preparation of carotenoid test ligands as well as target proteins with ibuprofen natural ligands (COX-1) and celecoxib (COX-2). Optimization geometry, validation and docking simulations are performed on test compounds. Docking validation results are done by looking at the parameters of RMSD value, Gibbs free energy ( $\Delta G$ ), and inhibition constant ( $K_i$ ). 7 ligands of carotenoid were tested with targets 1EQG (COX-1) and 3LN1 (COX-2). Data activity indicates that the tested ligand has no interaction on COX-1. However, COX-2 ligand test has activity but the interaction that occurs is very weak. The natural ligand  $\Delta G$  value in COX-2 is -8.96 kcal/mol while the test compound with the lowest  $\Delta G$  value is betakaroten with value  $\Delta G$  showed -1.51 kcal/mol. All of the carotenoid compounds tested on microalgae *Naviculla sp.* only has anti-inflammatory activity in COX-2, and anti-inflammatory activity in COX-2 shows weaker interactions compared with natural ligands.

**Keywords:** Anti-inflammatory, carotenoids, *Naviculla sp.*, cyclooxygenase-1 (COX-1), cyclooxygenase-2 (COX-2)

## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahim

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir dengan judul “UJI AKTIVITAS ANTIINFLAMASI KAROTENOID DARI *NAVICULLA SP* DENGAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL” Dalam laporan tugas akhir ini penulis tidak lepas dari bimbingan serta dorongan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dewi Kurnia, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan, saran, dan ilmu kehidupan didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
2. Apt. Purwaniati, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang juga telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
3. Yang tercinta Ibu, Bapak, Adik dan Teman-teman yang telah memberi dorongan moril dan materil selama penulisan laporan tugas akhir ini.
4. Bapak dan Ibu dosen selaku pengajar di fakultas farmasi Universitas Bhakti Kencana.

Dalam penulisan tugas akhir ini penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan tulisan ini. Akhirnya penulis berharap semoga Allah Subhanahu wata'ala berkenan untuk memberikan balasan dan kemuliaan kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan tugas akhir ini, dan kepada pihak-pihak yang telah memberikan kritik dan saran atas tersusun nya penelitian ini.

Bandung, 22 Juni 2021



Widi Mushizar

## DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i> .....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....	ix
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar belakang.....	1
1.2. Rumusan masalah .....	2
1.3. Tujuan dan manfaat penelitian.....	2
1.3.1. Tujuan .....	2
1.3.2. Manfaat Penelitian .....	2
1.4. Hipotesis penelitian.....	2
1.5. Tempat dan waktu Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	3
2.1. <i>Navicula sp.</i> .....	3
2.2. Inflamasi .....	5
2.3. Aktivitas Antiinflamasi dari Karotenoid.....	7
2.4. <i>Molecular Docking</i> Senyawa.....	8
a) <i>Docking</i> .....	8
b) Optimasi Geometri.....	8
c) Autodock Vina.....	9
d) PDB ( <i>Protein Data Bank</i> ).....	9
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN .....	10
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN .....	11
4.1. Alat dan Bahan.....	11
a) Alat.....	11
b) Bahan.....	11
4.2. Preparasi Ligan Uji .....	11

4.3. Preparasi Target Uji .....	11
4.4. Penentuan Parameter Fisikokimia.....	11
4.5. Validasi Lokasi Penambatan Ligan .....	12
4.6. Simulasi Penambatan Ligan Uji.....	12
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	13
5.1. Ligan Uji .....	13
5.2 Parameter Sifat Fisikokimia.....	14
5.2.1 Bobot Molekul .....	14
5.2.2. <i>Calculated LogP (CLogP)</i> .....	14
5.2.3. Donor dan akseptor ikatan hidrogen .....	15
5.3. Enzim Target.....	15
5.4. Validasi lokasi penambatan molekul .....	16
5.5. Validasi Ligan Uji.....	18
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN .....	21
6.1. Kesimpulan .....	21
6.2 Saran .....	21
DAFTAR PUSTAKA .....	22
LAMPIRAN.....	24

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Struktur senyawa uji karotenoid.....	24
Lampiran 2. Interaksi senyawa uji – target uji COX-2 .....	26



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bentuk dari Microalga <i>Navicula sp.</i> .....	3
Gambar 2.2 struktur senyawa dari diadinosantin, diatosantin, violasantin, zeasantin, $\beta$ -karoten, fukosantin, dan astasantin.....	5
Gambar 2.3. Mekanisme terjadinya inflamasi .....	6
Gambar 5.1. Interaksi antara ligan alami dengan target hasil <i>redocking</i> pada COX-1 dengankode PDB 1EQG.....	17
Gambar 5.2. Interaksi antara ligan alami dengan target hasil <i>redocking</i> pada COX-2 dengan kode PDB 3LN1.....	18

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan karotenoid pada mikroalga secara umum .....	4
Tabel 5.1 Ligan uji senyawa karotenoid pada mikroalga <i>Naviculla sp</i> .....	13
Tabel 5.2 Analisis sifat fisikokimia ligan uji .....	14
Tabel 5.3 Identitas enzim target .....	15
Tabel 5.4 Hasil validasi <i>docking</i> ligan alami .....	16
Tabel 5.5 Data interaksi senyawa uji dengan enzim target .....	18
Tabel 5.6 Dua interaksi senyawa uji terbaik pada enzim COX-2 .....	19

## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Singkatan	Nama
2D	Dua dimensi
3D	Tiga dimensi
Å	Amstrong
μM	Mikromolar
ΔG	Energi bebas gibbs
Ala	Alanine
Arg	Arginine
COX	Cyclooxygenase
His	Histidine
Ile	Isoleusine
Leu	Leucine
Met	Methionine
Phe	Phenylalanine
RMSD	<i>Root mean square deviation</i>
Ser	Serine
Trp	Tryptophan
Tyr	Tyrosine
Val	Valine

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Inflamasi atau peradangan adalah respon fisiologi dari jaringan pembuluh darah terhadap stimulus berbahaya seperti patogen, sel-sel tubuh yang rusak, atau iritan. Proses inflamasi memiliki gejala diantaranya adalah ruam atau kemerahan, sensasi terbakar, pembengkakan, nyeri, dan hilangnya fungsi rangsangan. Pengobatan inflamasi sejauh ini menggunakan obat golongan steroid dan nonsteroid yang menekan kadar sitokin pro-inflamasi, sintase nitrit oksida yang dapat diinduksi (iNOS), siklooksigenase-2 (COX-2), dan prostaglandin E2 (PGE2) (Kurnia *et al.*, 2019). Penggunaan antiinflamasi nonsteroid dalam jangka panjang dapat mengakibatkan tukak lambung, perdarahan, dan gangguan fungsi ginjal karena adanya penghambatan non-selektifnya pada COX-1 maupun COX-2 (Pendota *et al.*, 2014). Oleh karena itu diperlukan agen antiinflamasi baru dari sumber alam dengan efek samping yang lebih sedikit dan dapat digunakan dalam jangka waktu yang panjang.

Agen antiinflamasi baru dari sumber alami dengan efek samping yang lebih sedikit merupakan alternatif yang dapat dikembangkan untuk terapi jangka panjang. Salah satu sumber agen alternatif yang sedang diteliti adalah mikroalga. Mikroalga menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang memiliki potensi efek farmakologis diantaranya adalah antikanker, aktivitas antidiabetes, antioksidatif, dan antiinflamasi (Choo *et al.*, 2020). Salah satu mikroalga yang memiliki potensi sebagai agen antiinflamasi adalah *Navicula sp.* *Naviculla sp.* merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelas ordo *Bacillariophyceae* (Diatom). Mikroalga kelas diatom memiliki kandungan klorofil dan pigmen karotenoid (Ambati *et al.*, 2019).

Pigmen alami yang paling banyak disintesis oleh semua organisme fotosintetik dan jamur adalah karotenoid (Vílchez *et al.*, 2011). Karotenoid menerima banyak perhatian karena berpotensi digunakan sebagai obat untuk mencegah dan mengendalikan kondisi peradangan kronis. Hal tersebut terjadi karena efek penghambatan produksi nitrit oksida (NO), prostaglandin E2 (PGE2), dan sitokin proinflamasi, serta efek penghambatannya pada enzim seperti iNOS dan COX-2 (Sathasivam and Ki, 2018). Karotenoid juga merupakan sumber senyawa provitamin A, penambah sel darah merah, antioksidan, antibakteri, dan meningkatkan imunitas tubuh (Fretes *et al.*, 2012).

Untuk mengidentifikasi senyawa spesifik antiinflamasi yang potensial dari karotenoid pada *Navicula sp.* dilakukan uji dengan metode penambatan molekul menggunakan aplikasi

*Autodock*. Target protein yang digunakan adalah COX-1 dengan kode *PDB 1EQG* dan COX-2 dengan kode *PDB 3LNI* (Dinata *et al.*, 2014). Data yang diperoleh kemudian diolah dan dibandingkan untuk melihat senyawa karotenoid paling potensial untuk antiinflamasi. Pada penelitian ini akan dilakukan uji untuk menentukan senyawa karotenoid dari *Navicula sp.* yang memiliki aktivitas antiinflamasi paling baik.

## **1.2. Rumusan masalah**

- a. Senyawa karotenoid apa dari *Navicula sp.* yang memiliki aktivitas antiinflamasi tertinggi berdasarkan pengujian dengan metode penambatan molekul?
- b. Dimana tempat kerja spesifik dari senyawa karotenoid yang di uji? Apakah aktivitas terletak di COX-1, COX-2 atau keduanya?

## **1.3. Tujuan dan manfaat penelitian**

### **1.3.1. Tujuan**

Menentukan senyawa karotenoid dari *Naviculla sp.* yang memiliki aktivitas antiinflamasi tertinggi dengan metode penambatan molekul dan menentukan aktivitas kerja senyawa karotenoid yang di uji.

### **1.3.2. Manfaat Penelitian**

Senyawa karotenid yang potensial dapat digunakan sebagai agen antiinflamasi alami dengan efek samping lebih sedikit jika dibandingkan dengan obat golongan *NSAID*

## **1.4. Hipotesis penelitian**

Senyawa karotenoid pada *Navicula sp.* memiliki aktivitas antiinflamasi.

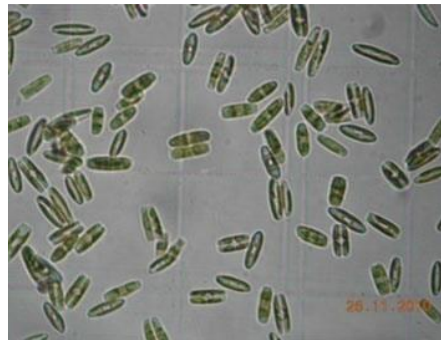
## **1.5. Tempat dan waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Januari – Mei 2021 di Laboratorium Kimia Komputasi Universitas Bhakti Kencana Bandung Jl. Soekarno Hatta No.754, Cipadung Kidul, Kec. Panyileukan, Kota Bandung, Jawa Barat 40614.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. *Navicula sp.*

*Navicula sp.* merupakan mikroalga yang termasuk dalam ordo *Naviculales*. Mikroalga ini berwarna coklat kekuningan, memiliki bentuk seperti perahu, dan memiliki dinding sel yang terdiri dari silika, bahan seperti kaca (Gambar 2.1). Dinding sel diatom yang rumit mengandung pori-pori dan celah yang memfasilitasi pertukaran gas dan nutrisi dari dan ke lingkungan (Nurachman *et al.*, 2012).



Gambar 2.1. Bentuk dari Microalga *Navicula sp.* (Nurachman *et al.*, 2012)

Klasifikasi *Navicula sp.* :

Kerajaan: *Kromista*

Divisi : *Bacillariophyta*

Kelas : *Bacillariophyceae* (Diatom)

Bangsa : *Pennales*

Suku : *Naviculaceae*

Marga : *Navicula*

Jenis : *Navicula salinicola*

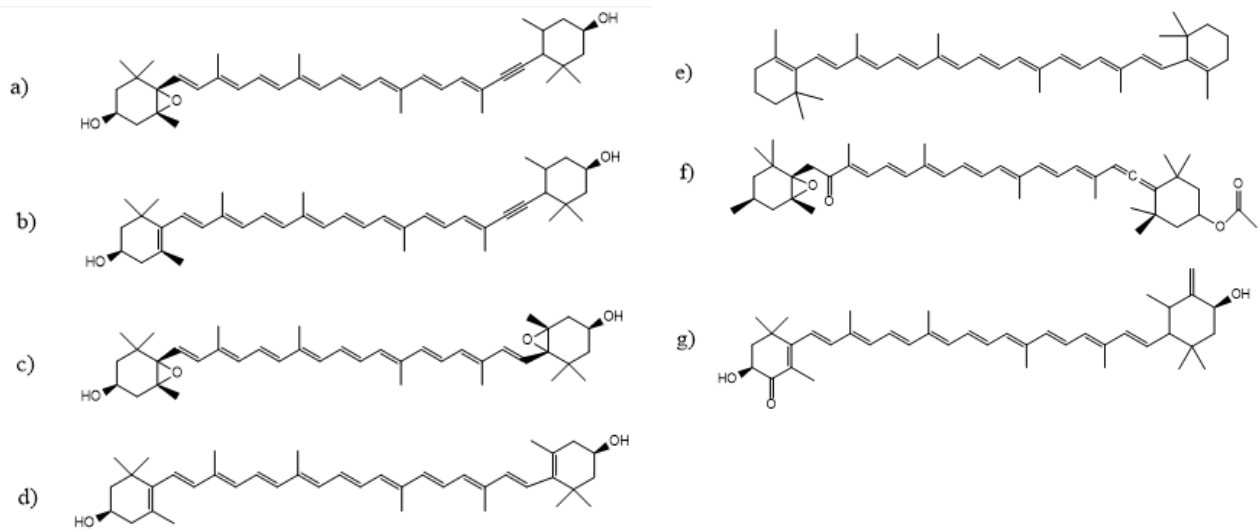
([http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species\\_id=33884](http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=33884))

Lebih dari 700 jenis karotenoid telah diidentifikasi di alam. Karotenoid tersebut biasanya disintesis oleh tumbuhan, beberapa mikroorganisme, dan mikroalga (Kuczynska, *et al.*, 2015). Tumbuhan memiliki peranan untuk memproduksi karotenoid yang penting untuk makhluk hidup. Karotenoid tersebut berkontribusi sebagai sumber vitamin A, penambah sel darah merah, antibakteri, antioksidan dan meningkatkan imunitas tubuh (Fretes *et al.*, 2012). Selain tumbuhan, mikroalga juga merupakan penghasil karotenoid yang melimpah di alam. Sepuluh kelas utama pada mikroalga yang menghasilkan senyawa karotenoid melimpah dapat dilihat pada table 2.1.

Tabel 2.1. Kandungan karotenoid pada mikroalga secara umum

<b>Nama Alga</b>	<b>Nama Ilmiah</b>	<b>Kandungan Karotenoid</b>
<i>Blue-green algae</i>	<i>Cyanophyceae/Myxophyceae</i>	B-karotene, c-phycoerythrin, c-phycoyanin, dan klorofil-a
<i>Green algae</i>	<i>Chlorophyceae</i>	klorofil-a , klorofil-b, a-karotene, B-karotene, g-karoten, lutein, siphonoxantin dan siponein
<i>Yellow-green algae</i>	<i>Xanthophyceae</i>	B-karoten, diatoxantin, diadinoxantin, heteroxantin, dan klorofil-a
<i>Golden brown algae</i>	<i>Chrysophyceae</i>	klorofil-a , klorofil-c1, klorofil-c2 dan fukoxantin
<i>Diatoms</i>	<i>Bacillariophyceae</i>	B-karoten , diatoxantin, diadinoxantin, fukoxantin, klorofil-a , dan klorofil-c,
<i>Cryptomonads</i>	<i>Cryptophyceae</i>	A-karoten , klorofil-a , klorofil-c , diatoxantin, <i>phycoerythrin</i> dan <i>phycocyanin</i>
<i>Dinoflagellates</i>	<i>Dinophyceae</i>	B-karoten, klorofil-a , klorofil-c2, peridinin dan neoperidinin
<i>Euglenoids</i>	<i>Euglenineae</i> <i>Euglenophyceae</i>	A-karoten, astaxantin, anteraxantin, b-karoten, diadinoxantin, klorofil-a , klorofil-b, dan neoxantin
<i>Brown algae</i>	<i>Phaeophyceae</i>	B-karoten, klorofil-a , klorofil-c1, dan klorofil-c2
<i>Red algae</i>	<i>Rhodophyceae</i>	A-karoten, b-karoten, klorofil-a , <i>r-phycocyanin</i> , <i>allo-phycocyanin</i> , dan <i>c-phycoerythrin</i>

*Navicula sp.* termasuk mikroalga kelas diatom yang mengandung dua jenis pigmen fotosintesis dan fotoproteksi, diantaranya yaitu klorofil dan karotenoid (Kuczynska, *et al.*, 2015). Karotenoid yang terkandung dalam mikroalga kelas diatom terkenal memiliki kandungan karotenoid diantaranya adalah astaxantin, b-karoten, diadinosantin, diatosantin, fukosantin, violasantin, dan zeasantin (Ambati *et al.*, 2019). Bentuk dari struktur senyawa karotenoid tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.2



Gambar 2.2 struktur senyawa dari (a)diadinosantin, (b)diatosantin, (c)violasantin, (d)zeasantin, (e) $\beta$ -karoten, (f)fukosantin, dan (g)astasantin

Ada dua kelompok utama pada karotenoid diantaranya adalah karoten dan xantofil. Beberapa karoten yang sudah dikenal adalah  $\beta$ -karoten dan likopen. Kedua karotenoid ini adalah karotenoid hidrokarbon, dan tidak memiliki substituen (atau bahkan oksigen) dalam strukturnya. Xantofil atau oksikarotenoid, yang termasuk kelompok kedua, adalah molekul yang mengandung oksigen. Lutein dan zeasantin adalah dua xantofil dengan gugus  $-OH$  dalam strukturnya sedangkan astasantin memiliki gugus  $-OH$  dan  $=O$  dalam strukturnya. Beberapa karotenoid lain seperti violasantin dan diadinosantin mengandung gugus epoksi, dan lain-lain seperti diantosantin dan fukosantin memiliki gugus asetil dalam strukturnya. Berbagai jenis karotenoid yang disebutkan di atas diproduksi secara alami oleh mikroalga (Sathasivam and Ki, 2018).

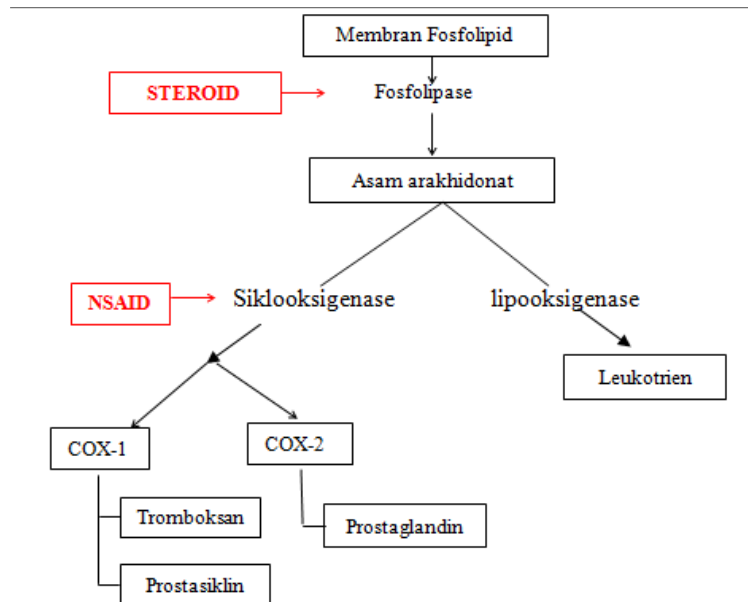
Banyak sekali ulasan tentang manfaat karotenoid bagi kesehatan manusia, dan penggunaan dalam industri kesehatan dan kecantikan. Karotenoid juga memiliki manfaat untuk mencegah dan mengobati penyakit kronis seperti kanker, diabetes, inflamasi, obesitas, anti oksidan (Sathasivam and Ki, 2018).

## 2.2. Inflamasi

Inflamasi merupakan respon pertama dari sistem imun terhadap infeksi atau iritasi. Beberapa reaksi inflamasi dapat menimbulkan efek samping terhadap sel atau jaringan inang. Misalnya adalah peradangan kronis dapat menyebabkan banyak kondisi seperti radang sendi, hepatitis, gastritis, penyakit periodontal, kolitis, aterosklerosis, pneumonia, dan peradangan saraf (Pangestuti and Kim, 2011). Berdasarkan durasi terjadinya penyakit, inflamasi terbagi menjadi dua yaitu:



- a. Inflamasi akut, merupakan gejala peradangan dengan durasi yang relatif singkat, peradangan akut akan ditandai dengan keluarnya eksudasi cairan.
- b. Inflamasi kronik ditandai khas dengan influks limfosit dan makrofag disertai dengan proliferasi pembuluh darah dan pembentukan jaringan parut, durasi terjadinya peradangan kronik dapat terjadi hingga beberapa hari bahkan beberapa minggu (Akmalia, Hajrah and Rijai, 2016).



Gambar 2.3. Mekanisme terjadinya inflamasi

Inflamasi terjadi karena mediator utama inflamasi yaitu enzim *cyclooxygenase* (COX) atau prostaglandin endoperoksid sintase (PGHS) terstimulasi sehingga dapat menyebabkan nyeri, dan peningkatan suhu tubuh (hiperpireksia). Prostaglandin terbentuk dari prekursornya yaitu asam arakidonat. Asam arakidonat dibelah dari membran sel fosfolipid oleh fosfolipase A<sub>2</sub>. *Cyclooxygenase* (COX) merubah asam arakidonat menjadi endoperoksida PGG<sub>2</sub> dan PGH<sub>2</sub> yang tidak stabil. Setelah itu PGG<sub>2</sub> dan PGH<sub>2</sub> dimetabolisme menjadi prostaglandin primer PGD<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub> $\alpha$ , TXA<sub>2</sub> (tromboxane A<sub>2</sub>) dan PGI<sub>2</sub> (prostasiklin). Prostaglandin (PG) adalah mediator lipid yang dibuat oleh sebagian besar sel di tubuh kecuali oleh sel darah merah dan dilepaskan pada hampir semua jenis rangsangan kimiawi atau mekanis (Dilber *et al.*, 2008). Berikut adalah tanda dan gejala terjadinya inflamasi:

- a. Ruam atau kemerahan, merupakan tahap pertama dari gejala inflamasi dengan berkumpul darah pada daerah cedera jaringan akibat pelepasan mediator kimia tubuh (prostaglandin dan histamin).

- b. Pembengkakan, merupakan tahap kedua dari peradangan, ditandai dengan plasma masuk ke dalam jaringan intestinal pada tempat cedera. Kinin mendilatasi arteriol, meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga daerah yang terkena memiliki volume yang lebih besar.
- c. Peningkatan suhu tubuh, dapat disebabkan oleh virus, bakteri, atau pirogen (substansi non-biologi) yang dapat menimbulkan demam.
- d. Nyeri, disebabkan pembengkakan pada pelepasan mediator-mediator kimia.
- e. Hilangnya fungsi, disebabkan oleh penumpukan cairan pada daerah cedera dan rasa nyeri yang hebat. Keduanya menyebabkan mobilitas rangsangan pada daerah yang terkena menjadi berkurang. (Akmalia, Hajrah dan Rijai, 2016)

Antiinflamasi adalah obat atau senyawa obat baik itu sintetis maupun bahan alam yang digunakan untuk mengurangi atau mengobati reaksi peradangan akibat patogen, sel-sel tubuh yang rusak, atau peradangan. Obat antiinflamasi terbagi menjadi dua golongan diantaranya adalah antiinflamasi steroid (AIS) dan antiinflamasi non-steroid (AINS). Golongan obat antiinflamasi yang paling banyak digunakan di pasaran adalah antiinflamasi non-steroid (AINS) (Pramitaningastuti, 2017). Obat antiinflamasi non-steroid (AINS) adalah inhibitor COX dan mencegah sintesis prostaglandin, sehingga menghasilkan efek analgesik, antipiretik dan anti-inflamasi. Namun, AINS memiliki sejumlah efek samping, karena penghambatannya terhadap isoform COX yang tidak selektif. Efek samping utama AINS adalah efek gastrotoksik (misalnya, kerusakan mukosa lambung, perdarahan lambung dan tukak gastroduodenal) (Dilber *et al.*, 2008).

### **2.3. Aktivitas Antiinflamasi dari Karotenoid**

Karotenoid pada mikroalga *Navicula sp.* memiliki aktivitas farmakologis sebagai antiinflamasi (Choo *et al.*, 2020). Salah satu senyawa karotenoid yang diduga memiliki aktivitas antiinflamasi tersebut adalah astasantin. Astasantin termasuk jenis karotenoid yang menarik banyak perhatian karena potensinya sebagai agen antiinflamasi. *Studi in vitro* dan *in vivo* telah dilakukan pada hewan uji tikus untuk menyelidiki efek astasantin pada reaksi inflamasi yang diinduksi lipopolisakarida (LPS). Efek antiinflamasi dari astasantin dibandingkan dengan obat antiinflamasi secara umum yaitu prednisolon. Efek antiinflamasi dari astaxanthin (pada konsentrasi 100 mg/kg) lebih baik dari prednisolon dengan konsentrasi 10 mg/kg (Ohgami *et al.*, 2003). Tikus yang diberi LPS yang diobati dengan astasantin menunjukkan ketergantungan dosis efek antiinflamasi. Astasantin telah terbukti berfungsi dengan menekan produksi NO, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , dan interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), serta dengan memblokir aktivitas enzim NOS di sel RAW 264,7. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya yaitu

menunjukkan bahwa astaxanthin menghambat produksi NO, serta ekspresi iNOS dan COX-2 dalam Sel mikroglial BV2 yang distimulasi LPS (Sathasivam and Ki, 2018).

## **2.4. Molecular Docking Senyawa**

### **a) Docking**

Komputasi *docking* digunakan untuk memprediksi mode ikatan dua atau lebih molekul. Komputasi *docking* bergantung pada dua metode: pertama, medan gaya untuk memperkirakan energi bebas dari pengikatan kompleks, diperkirakan berdasarkan konformasi ikatan tertentu, dan kedua, metode pencarian untuk menjelajahi ruang konformasi yang tersedia untuk ligan dan target (Cosconati dkk., 2010). Program komputasi docking memiliki dua komponen penting yaitu algoritma pencarian dan fungsi skoring energi (Leach, 2001). Penelusuran algoritma dimulai dari penelusuran konformasi gaya kasar atau algoritma berbasis stokastik lebih efektif dan efisien. Secara umum, pemilihan sampel dari berbagai kemungkinan posisi akan mengarah ke kemungkinan yang lebih tinggi untuk menemukan tempat pengikatan yang benar. Banyak posisi yang dihasilkan dari pencarian ini, maka diperlukan suatu sistem untuk mengelompokkan sampel sesuai dengan kemungkinan ikatan : energetik, afinitas atau beberapa matriks lainnya. Fungsi penilaian evaluasi struktur ini akurat dalam menentukan energi pose serta efisien untuk menentukan peringkat struktur yang paling baik dalam waktu yang singkat (Jain, 2006). Hasil uji docking dapat disimulasikan menggunakan software *Discovery Studio Visualizer* dan amati interaksi ikatan ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor (Kroemer, 2007). Parameter analisis *docking* diantaranya adalah:

- a. Interaksi ikatan, pada fungsi penilaian berbasis medan gaya klasik menilai energi ikatan dengan menghitung jumlah interaksi yang tidak terikat: elektrostatik dan van der Waals. Dalam fungsi penilaian empiris energi ikat terurai menjadi beberapa komponen energy seperti: ikatan hidrogen, interaksi ionik, efek hidrofobik dan entropi.
- b. Energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) dalam satuan kkal/mol yang menyatakan kekuatan interaksi antara molekul ligan dengan targetnya, makin rendah nilai  $\Delta G$  mendeskripsikan bahwa makin baik afinitas yang terjadi antara ligan dengan reseptor.
- c. Nilai konstanta inhibisi ( $K_i$ ) yang menyatakan afinitas ligan dengan reseptor. Semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan bahwa semakin baik suatu ligan dalam menginhibisi suatu protein.

### **b) Optimasi Geometri**

Optimasi geometri atau optimasi energi merupakan suatu langkah untuk mendapatkan struktur dengan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi

terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil. Energi terendah untuk seluruh struktur dikenal sebagai global minimum energi (Leach, 2001). Pada optimasi geometri, tidak hanya mendapatkan energi terendah saja tetapi juga didapatkan struktur geometri yang baru pada energi terendah itu. Energi terendah dan struktur geometri yang didapatkan dapat digunakan sebagai perbandingan pada eksperimen (Cramer, 2004).

### c) **Autodock Vina**

*AutoDock Vina* adalah program baru untuk penambatan senyawa dan *Virtual Screening*. *AutoDock Vina* mempunyai Kecepatan sekitar dua kali lipat dibandingkan dengan software molecular docking sebelumnya yang dikembangkan (*AutoDock 4*) dan secara signifikan meningkatkan akurasi prediksi modus pengikatan. *AutoDock Vina* otomatis menghitung peta grid dan mengelompokkan hasil secara transparan kepada pengguna (Trott, 2009). *Vina Wizard* merupakan perangkat lunak yang tepat dan dapat diandalkan yang tersedia untuk penemuan obat, penambatan molekul dan virtual skrining. *Vina Wizard* secara otomatis akan menghitung grid dan mengelompokkan hasil. *Vina Wizard* menggunakan jenis file PDBQT untuk kompatibilitas yang maksimum.

### d) **PDB (Protein Data Bank)**

*Protein data bank* (PDB: <http://www.pdb.org>) adalah kumpulan arsip tunggal tentang sata struktur makromolekular biologi dari seluruh dunia. PDB didirikan oleh *Brookhaven National Laboratories* (BNL) pada tahun 1971. Lalu penemuan struktur molekul protein yang terdapat pada berkas PDB diperoleh dengan menggunakan data eksperimen. Data eksperimen ini berasal dari kristalogi sinar-X atau spektrokopi *nuclear magnetic resonance* (NMR). Dan dilakukan program komputer untuk membuat model molekul yang paling sesuai dengan data eksperimen. (Bermen. 2000).

RSCB protein data bank (RCSB PDB, <http://www.rcsb.org>) adalah web yang mengembangkan analisis, alat visualisasi, penjelasan, sumber daya dengan arsip PDB. Data PDB dimuat dengan RCSB PDB *database* dengan memuat informasi komputasi untuk memberikan gambaran struktural biologi di situs RCSB PDB (Rose. 2014).

### BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Metode penelitian ini dilakukan secara kualitatif yang meliputi persiapan ligan dan target uji, optimasi geometri, validasi dan simulasi penambatan senyawa uji dengan target enzim lalu interpretasi hasil. Penelitian ini dimulai dengan persiapan ligan dan reseptor. Persiapan ligan dilakukan dengan membuat struktur 2D dan 3D dari tujuh ligan senyawa karotenoid *Navicula sp.* menggunakan program *Chem Office*. Target uji yang digunakan adalah enzim siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) yang diperoleh dari PDB (Protein Data Bank) dengan kode *IEQG* dan *3LN1*.

Validasi docking dilakukan dengan cara mendocking kembali ligan alami pada protein target. Optimasi geometri dilakukan terhadap struktur senyawa karotenoid dari *Navicula sp.* dengan menggunakan *software Gaussian09*.

Hasil validasi *docking* dilakukan dengan melihat parameter nilai *RMSD*. Metode penelitian dinyatakan valid jika nilai  $RMSD \leq 2\text{\AA}$ . Selanjutnya dilakukan penambatan senyawa masing-masing senyawa uji dari karotenoid *Navicula sp.* menggunakan *Autodocktools 4.2.3* dengan metode docking yang valid untuk mengetahui nilai energi bebas (*Gibbs Energy/ $\Delta G$* ), konstanta inhibisi (*Ki*) dan interaksinya dengan target.