

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Inflamasi

1. Deskripsi inflamasi

Inflamasi atau peradangan merupakan suatu respons biologis kompleks yang terjadi akibat adanya cedera jaringan, infeksi, atau kerusakan sel. Proses ini berfungsi sebagai mekanisme pertahanan tubuh yang bertujuan untuk mengeliminasi agen penyebab, menghilangkan jaringan yang rusak, dan memulai proses penyembuhan (Van & Bertrand, 2023). Peradangan dipicu oleh cedera atau kerusakan pada sel-sel tubuh dan pada dasarnya merupakan langkah yang sehat dan produktif menuju pemulihan jaringan. Inflamasi secara fisiologis bersifat akut dan terbatas waktunya, sel imun diaktifkan, mediator inflamasi dilepaskan, patogen atau jaringan yang rusak diatasi, dan proses resolusi kemudian terjadi untuk mengembalikan homeostasis jaringan (Bender *et al.*, 2025).

Peradangan yang persisten atau tidak terkontrol dapat berubah menjadi kondisi patologis yang merugikan. Inflamasi kronis dapat memicu kerusakan jaringan lanjut, fibrosis, serta berkontribusi pada timbulnya berbagai penyakit degeneratif, autoimun, dan bahkan kanker (Maddipati, 2024). Kematian sel juga berperan penting dalam pengaturan respon inflamasi: kematian sel akibat nekrosis diketahui memicu inflamasi karena pelepasan komponen intraseluler yang bersifat imunogenik, sedangkan kematian sel terprogram melalui apoptosis cenderung membatasi respon inflamasi.

2. Mekanisme dasar terjadinya inflamasi

Proses inflamasi diawali oleh pengenalan stimulus berbahaya oleh sel-sel sensor seperti makrofag, sel dendritik, dan sel endotel. Stimulus ini dapat berupa infeksi mikroba, cedera mekanik, toksin, atau molekul endogen yang dilepaskan dari jaringan rusak, yang dikenal sebagai *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) (Choy *et al.*, 2020). Molekul-molekul tersebut dikenali oleh *pattern recognition receptors* (PRRs), terutama *Toll-Like Receptors* (TLRs), yang memicu aktivasi jalur pensinyalan intraseluler. Jalur utama salah satunya yang terlibat adalah NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*), faktor transkripsi yang mengatur banyak gen pro-inflamasi. NF- κ B berada dalam bentuk inaktif di sitoplasma pada kondisi

fisiologis karena terikat oleh inhibitor I κ B. Aktivasi TLR atau reseptor sitokin menyebabkan fosforilasi dan degradasi I κ B, sehingga subunit NF- κ B (p65/p50) dapat berpindah ke inti sel untuk menginduksi transkripsi gen inflamasi (Liu *et al.*, 2024).

Aktivasi NF- κ B menyebabkan peningkatan ekspresi berbagai mediator inflamasi seperti sitokin pro-inflamasi (TNF- α , IL-1 β), enzim efektor (COX-2, iNOS), serta molekul adhesi dan kemokin yang berperan dalam rekrutmen leukosit. TNF- α dan IL-1 β memperkuat respon inflamasi melalui amplifikasi sinyal dan aktivasi sel imun lainnya, sedangkan COX-2 berperan dalam sintesis *prostaglandin E₂* (PGE₂) yang memicu vasodilatasi, demam, dan sensitisasi nyeri. iNOS menghasilkan *nitric oxide* (NO) yang meningkatkan permeabilitas vaskular dan berperan dalam respon imun lokal. Aktivasi berlebihan jalur NF- κ B dan mediator-mediator ini sering dikaitkan dengan inflamasi kronis, penyakit autoimun, dan degenerasi jaringan (Tiwari *et al.*, 2014).

3. Mediator utama dan target molekuler pada inflamasi

Mediator molekuler berperan penting dalam mengatur arah dan intensitas respon inflamasi melalui aktivasi berbagai jalur biokimia dan degradasi jaringan. Mediator ini tidak hanya berfungsi sebagai pengatur komunikasi antar sel imun, tetapi juga menentukan produksi mediator lipid, stres nitrosatif, serta remodeling matriks ekstraseluler selama proses inflamasi. Mediator yang memiliki peran sentral di antaranya adalah iNOS, LOX, dan MMP-9. Ketiga protein ini terlibat dalam pembentukan *nitric oxide*, leukotrien proinflamasi, serta degradasi matriks ekstraseluler, yang secara kolektif membentuk jejaring molekuler saling terkait dan berkontribusi terhadap progresivitas inflamasi kronis apabila tidak terkontrol.

3.1 iNOS (*inducible Nitric oxide Synthase*). iNOS (*inducible Nitric oxide Synthase*) adalah *isoform enzim sintase oksida nitrat* yang diinduksi selama inflamasi pada berbagai jenis sel seperti makrofag, sel endotel, dan sel glial. Enzim ini menghasilkan *nitric oxide* (NO) dalam jumlah besar yang berperan sebagai mediator antimikroba sekaligus regulator respon imun. Produksi NO yang berlebihan juga dapat menyebabkan stres oksidatif, disfungsi endotel, dan kerusakan jaringan, sehingga berkontribusi terhadap progresi inflamasi kronis dan penyakit degeneratif, termasuk *multiple sclerosis* dan *rheumatoid arthritis* (Xue

et al., 2018). Inhibisi iNOS telah banyak diteliti sebagai strategi terapeutik potensial untuk mengurangi inflamasi berlebihan.

3.2 LOX (*Lipoxygenase*). *LOX (Lipoxygenase)* merupakan kelompok enzim oksigenase non-heme yang mengkatalisis oksidasi asam arakidonat menjadi *hidroperoksieikosatetraenoat* (HPETE) dan selanjutnya menghasilkan leukotrien serta mediator lipid proinflamasi lainnya. Produk jalur LOX berperan penting dalam rekrutmen sel inflamasi, peningkatan permeabilitas vaskular, dan pemeliharaan respon inflamasi, terutama pada penyakit inflamasi kronis seperti asma, artritis, dan penyakit kardiovaskular. Aktivasi berlebih jalur LOX dapat memperpanjang durasi inflamasi dan memperburuk kerusakan jaringan melalui peningkatan produksi leukotrien yang bersifat kemotaktik dan proinflamasi. Penghambatan aktivitas LOX dipandang sebagai salah satu strategi terapeutik yang menjanjikan dalam pengendalian inflamasi dan penyakit terkait mediator lipid (Lončarić *et al.*, 2021).

3.3 MMP-9 (metalloproteinase-9). MMP-9 (metalloproteinase-9) juga dikenal sebagai *gelatinase B*, merupakan enzim proteolitik bergantung seng yang berperan dalam degradasi komponen matriks ekstraseluler, terutama gelatin dan kolagen tipe IV. MMP-9 dalam kondisi inflamasi, diekspresikan oleh berbagai sel imun seperti neutrofil, makrofag, dan sel epitel, serta berkontribusi terhadap migrasi sel inflamasi dan remodeling jaringan. Peningkatan ekspresi dan aktivitas MMP-9 sering dikaitkan dengan kerusakan jaringan, gangguan integritas sawar biologis, serta progresi inflamasi kronis pada berbagai penyakit, termasuk infeksi, penyakit autoimun, dan gangguan inflamasi sistemik. Keterlibatan MMP-9 yang erat dalam keparahan dan progresi inflamasi, MMP-9 banyak digunakan sebagai penanda inflamasi sekaligus target potensial dalam pengembangan terapi antiinflamasi (Bruschi *et al.*, 2016).

Mediator-mediator tersebut, yaitu iNOS, LOX, dan MMP-9, berperan penting dalam berbagai tahapan respon inflamasi dan bekerja secara saling terkait dalam memperkuat proses peradangan melalui produksi mediator inflamasi, stres oksidatif, serta remodeling jaringan. Aktivasi berlebihan dari protein-protein ini dapat membentuk mekanisme umpan balik yang berkontribusi terhadap terjadinya inflamasi kronis dan kerusakan jaringan. iNOS, LOX, dan MMP-9 dipandang sebagai target potensial dalam pengembangan terapi antiinflamasi, termasuk melalui pendekatan *in silico* seperti *Molecular*

docking untuk mengidentifikasi senyawa yang mampu menghambat aktivitasnya secara spesifik.

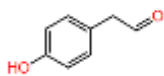
B. Tanaman Brotowali

1. Brotowali

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliidae
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Menispermaceae
Genus	: <i>Tinospora</i>
Spesies	: <i>Tinospora cordifolia</i> (Willd.) Hook.f. & Thomson

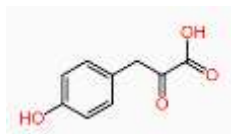
2. Kandungan senyawa kimia tanaman brotowali

Brotowali (*Tinospora cordifolia*) adalah tanaman obat populer yang digunakan dalam beberapa pengobatan tradisional untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Informasi yang saya peroleh dari *website* KnapSack, berikut adalah kandungan kimia brotowali yang berhasil diidentifikasi.

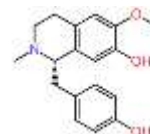


4-

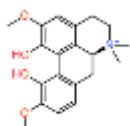
Hydroxyphenylacetaldehyde



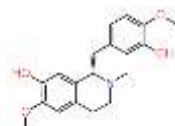
4-Hydroxyphenylpyruvate



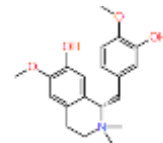
(+) -N-Methylcoclaurine



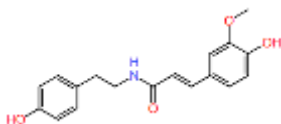
Magnoflorine



(+) -Reticuline



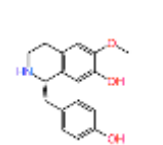
Tembatrine



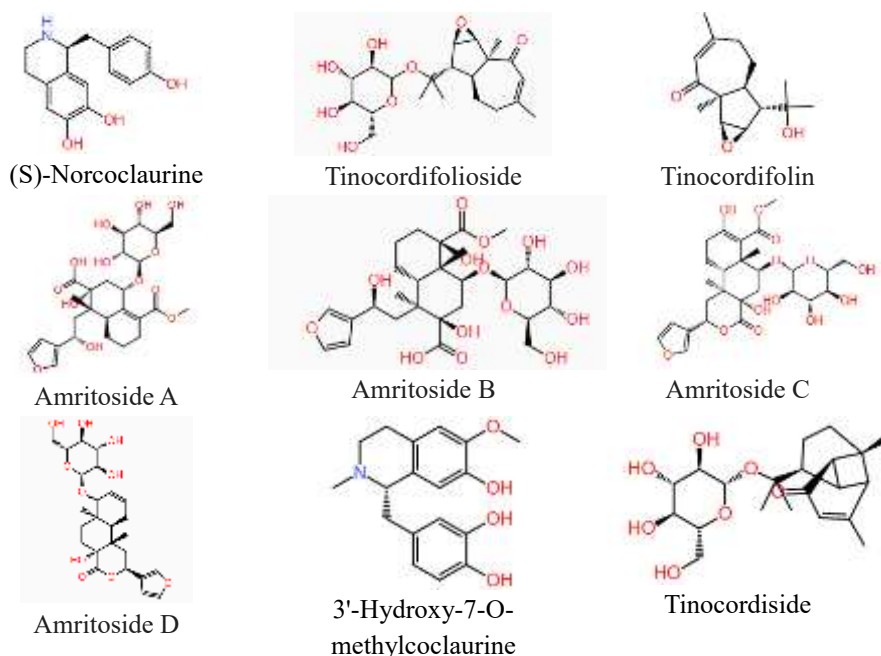
N-trans-Feruloyltyramine



(+) -Corytuberine



Coclaurine



Gambar 1. Kandungan kimia senyawa brotowali dari website KnapSack

3. Aktivitas antiinflamasi kandungan senyawa brotowali

Brotowali (*Tinospora cordifolia*) merupakan tanaman obat yang dikenal luas karena memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, hepatoprotektif, antidiabetes, serta antimikroba (Singh *et al.*, 2025). Sejumlah penelitian telah membuktikan bahwa brotowali memiliki aktivitas imunomodulator, hepatoprotektif, nefro protektif, dan antitumor melalui mekanisme biologis yang kompleks.

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa brotowali memiliki aktivitas antiinflamasi yang dimediasi melalui modulasi beberapa target molekuler kunci. *Inducible nitric oxide synthase* (iNOS) merupakan salah satu target penting, enzim yang bertanggung jawab terhadap produksi *nitric oxide* dalam jumlah berlebih selama respon inflamasi. Ekstrak brotowali dilaporkan mampu menurunkan ekspresi iNOS dan kadar *nitric oxide*, yang berkaitan dengan penekanan stres oksidatif dan penghambatan jalur inflamasi yang bergantung pada aktivasi NF- κ B. Penurunan aktivitas iNOS ini sering kali disertai dengan regulasi sitokin proinflamasi dan perbaikan keseimbangan redoks jaringan, menunjukkan peran brotowali dalam mengendalikan inflamasi yang dimediasi *nitric oxide* (Tiwari *et al.*, 2014).

Brotowali selain memodulasi jalur *nitric oxide*, tanaman ini juga diketahui mempengaruhi metabolisme mediator lipid inflamasi melalui penghambatan enzim *Lipoxygenase* (LOX). Jalur LOX berperan dalam konversi asam arakidonat menjadi leukotrien, yang berkontribusi terhadap rekrutmen sel inflamasi, peningkatan permeabilitas vaskular, dan pemanjangan respon inflamasi. Fraksi bioaktif brotowali dilaporkan mampu menekan aktivitas LOX serta menurunkan produksi mediator inflamasi turunan jalur ini, yang selanjutnya berdampak pada penurunan pelepasan sitokin proinflamasi. Modulasi jalur LOX oleh brotowali menunjukkan bahwa tanaman ini tidak hanya bekerja pada tingkat sitokin, tetapi juga pada jalur biosintesis mediator lipid inflamasi (Jacob *et al.*, 2018).

Aktivitas brotowali terhadap *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9) di sisi lain, perannya juga berkaitan dalam pengendalian degradasi matriks ekstraseluler dan remodeling jaringan selama inflamasi. Peningkatan ekspresi MMP-9 diketahui berkontribusi terhadap kerusakan jaringan, khususnya pada kondisi inflamasi kronis seperti penyakit sendi. Pemberian ekstrak brotowali dilaporkan menurunkan ekspresi dan aktivitas MMP-9, yang diikuti dengan penurunan infiltrasi sel inflamasi dan perbaikan struktur jaringan. Regulasi MMP-9 ini juga berkaitan dengan penurunan mediator inflamasi lain yang berperan dalam aktivasi MMP, menunjukkan adanya efek tidak langsung melalui modulasi jejaring sinyal inflamasi (Sannegowda *et al.*, 2015).

C. Computer Aided Drug Design (CADD)

Computer-aided drug design (CADD) merupakan pendekatan modern dalam penemuan obat antiinflamasi yang memanfaatkan teknologi komputasi untuk mengidentifikasi kandidat obat secara efisien. Proses ini dimulai dengan mengidentifikasi protein target esensial bagi imun tubuh, dilanjutkan dengan penyaringan beragam senyawa kimia untuk menemukan inhibitor potensial menggunakan perangkat lunak komputer yang menganalisis interaksi antara target dan molekul utama. Pemahaman hubungan kuantitatif antara struktur kimia dan aktivitas biologis memungkinkan CADD membantu menghindari alur penelitian yang tidak efektif, menawarkan alternatif yang lebih cepat dan hemat biaya dibandingkan metode tradisional dalam mencari terapi baru untuk antiinflamasi (Yu & MacKerell, 2017).

CADD dapat berupa *structure based drug design* atau *ligand based drug design*. Metode *structure based drug design* meliputi

penambatan molekuler, simulasi dinamika molekuler, dan desain obat *de novo*, sementara metode *ligand based drug design* mencakup model hubungan kuantitatif-struktur-aktivitas, pencarian kemiripan, dan pemodelan farmakofor (Yu *et al.*, 2023).

1. **KNApSAcK**

Knowledge-based Network of Aligned plants and Species Activity and Knowledge database (KNApSAcK) merupakan basis data bioinformatika yang dirancang untuk menghimpun dan mengintegrasikan informasi mengenai metabolit sekunder dari tumbuhan, terutama yang digunakan dalam pengobatan tradisional seperti jamu di Indonesia. Keunggulan utama dari *KNApSAcK* adalah kemampuannya dalam menyediakan informasi struktur kimia dari senyawa-senyawa alami yang terkandung dalam tanaman obat. Struktur kimia ini ditampilkan dalam format standar, memungkinkan analisis lebih lanjut seperti prediksi aktivitas biologis, pemetaan interaksi molekuler, serta studi penambatan molekuler dalam penemuan obat berbasis komputer. *KNApSAcK* juga menghubungkan data struktur kimia dengan informasi etnofarmakologis, aktivitas fisiologis, serta penggunaan tradisional dan modern, menjadikannya sumber daya yang sangat penting dalam penelitian multidisipliner yang menggabungkan kimia, biologi, dan ilmu kesehatan. *KNApSAcK* tidak hanya mendukung identifikasi hubungan tanaman dan penyakit, tetapi juga membuka peluang eksplorasi potensi farmakologi dari senyawa bioaktif secara struktural (Nakamura *et al.*, 2013).

2. **Pubchem**

PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), yang didirikan pada tahun 2004 oleh *National Center for Biotechnology Information*, *National Library of Medicine*, dan *National Institutes of Health* (Y. Wang *et al.*, 2017), merupakan basis data publik yang menyimpan informasi mengenai zat kimia beserta aktivitas biologisnya. Data ini dihimpun dari penelitian di bidang kemogenomik, kimia medisinal, dan genomik fungsional. *PubChem* terdiri dari tiga basis data yang saling terhubung, yaitu *Substance*, *Compound*, dan *BioAssay*. Basis data *Substance* menyimpan informasi kimia yang diserahkan oleh berbagai kontributor. Basis data *Substance* menyediakan struktur kimia unik yang kemudian diekstraksi dan disimpan dalam basis data *Compound*. Sementara itu, basis data *BioAssay* memuat data aktivitas biologis dari

berbagai zat kimia yang telah diuji dalam eksperimen (Sayers *et al.*, 2022)

3. *Protein data bank*

Protein Data Bank (PDB), yang berdiri sejak tahun 1971, adalah basis data global untuk struktur tiga dimensi (3D) makromolekul biologis dan kompleksnya yang ditentukan melalui eksperimen. PDB sumber daya digital dengan akses terbuka pertama di bidang biologi, PDB kini dikelola oleh *Worldwide Protein Data Bank* (wwPDB) (<https://www.wwpdb.org/>), sebuah organisasi yang terdiri dari *RCSB Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), *Protein Data Bank Japan* (<https://pdj.org/>), *Protein Data Bank in Europe* (<https://www.ebi.ac.uk/pdbe/>), dan *Biological Magnetic Resonance Data Bank* (<https://bmrb.io/>). Keempat mitra wwPDB ini mengoperasikan sistem perangkat lunak global yang terintegrasi untuk memastikan standar data yang disepakati komunitas serta mendukung proses deposisi, bioakurasi, dan validasi sekitar 11.000 entri PDB baru setiap tahunnya (<https://deposit-2.wwpdb.org/>) (Burley *et al.*, 2017)

4. *SwissADME*

SwissADME (<http://www.SwissADME.ch/>), sebuah repositori yang berguna dalam penelitian *in silico*, menyediakan prediksi parameter sifat fisikokimia, lipofilitas, kelarutan, farmakokinetik (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi), *drug-likeness*, dan kimia medisinal menggunakan metode valid seperti BOILED-egg, iLOGP, dan bioavailability radar (Daina *et al.*, 2017). *Drug-likeness* sendiri merupakan penilaian kualitatif terhadap potensi suatu molekul menjadi obat oral yang terkait dengan bioavailabilitasnya. Penilaian ini dilakukan melalui analisis struktural atau fisikokimia senyawa yang dianggap cukup prospektif sebagai kandidat obat oral. Bagian dari *SwissADME* menyediakan akses ke lima filter berbasis aturan yang berbeda, yaitu Lipinski, Ghose, Veber, Egan, dan Muegge, yang masing-masing memiliki kriteria tertentu agar suatu molekul dapat dikategorikan sebagai obat. Tersedia pula skor bioavailabilitas yang memprediksi kemungkinan suatu senyawa memiliki bioavailabilitas obat oral minimal 10% pada tikus atau permeabilitas Caco-2 yang terukur (Daina *et al.*, 2017).

5. *Biovia Discovery Studio*

BIOVIA Discovery Studio merupakan sebuah alat yang digunakan untuk menghasilkan representasi grafis dari struktur molekul

dan hasil simulasi. Alat visualisasi ini membantu peneliti dalam memahami serta mengkomunikasikan hasil simulasi molekuler, studi penambatan molekuler dan analisis lainnya. *Biovia* menampilkan struktur molekul dalam tiga dimensi dan menyoroti interaksi antara protein dan ligan, termasuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang mempengaruhi stabilitas kompleks serta afinitas pengikatan. *Biovia* juga menawarkan fitur pemetaan potensi elektrostatik, rendering permukaan, dan visualisasi kompleks yang dapat disesuaikan melalui pengaturan warna dan label. Hasil visualisasi ini dapat disimpan atau diekspor untuk keperluan presentasi dan publikasi. Platform ini terintegrasi memiliki berbagai alat pemodelan dan simulasi molekul, *biovia* memiliki antarmuka yang intuitif dan mudah digunakan. Pengguna dapat menyesuaikan tampilan visualisasi dengan menambahkan anotasi serta membuat tampilan khusus, dan juga didukung oleh manajemen data yang efisien (Kemmish *et al.*, 2017).

6. *AutoDockTools*

AutoDock adalah perangkat lunak *Molecular docking* yang dikembangkan oleh *The Scripps Research Institute* (TSRI) di bawah kelompok penelitian *Molecular Graphics Laboratory* (MGL). Aplikasi ini pertama kali diperkenalkan pada awal tahun 1990-an dan menjadi salah satu program *docking* paling banyak digunakan dalam kimia komputasi dan penemuan obat berbasis komputasi. Tujuan utama *AutoDock* adalah memprediksi bagaimana sebuah ligan berikatan dengan protein target berdasarkan estimasi energi ikatan dan stabilitas kompleks yang terbentuk. *AutoDock* bekerja dengan menggabungkan algoritma pencarian konformasional dengan fungsi skor untuk menilai interaksi ligan–reseptor. Perangkat pendukungnya, *AutoDockTools* (ADT), memudahkan proses preparasi protein dan ligan, seperti penambahan hidrogen, penetapan muatan Kollman, pembuatan *torsion tree*, serta pembuatan *gridbox* sebagai ruang pencarian *docking*. Perkembangan teknologi menghadirkan *AutoDock Vina*, yang menawarkan kecepatan kalkulasi lebih tinggi dengan akurasi tetap kompetitif (Trott & Olson, 2010).

7. *Pymol*

PyMOL adalah perangkat lunak visualisasi molekul yang dikembangkan oleh Warren Lyford DeLano pada awal tahun 2000-an. Aplikasi ini banyak digunakan dalam biologi struktural untuk menampilkan, memodifikasi, dan menganalisis struktur biomolekul

seperti protein, DNA, dan ligan. *PyMOL* mampu menghasilkan visualisasi 3D berkualitas tinggi serta mendukung berbagai format file seperti PDB dan MOL2. *PyMOL* tidak hanya untuk menampilkan struktur, tetapi juga sering digunakan dalam studi *docking* untuk melihat interaksi ligan–protein, mengamati residu aktif, serta memvalidasi pose hasil penambatan. Kemudahan penggunaan, fleksibilitas perintah, dan kemampuan rendering yang baik menjadikan *PyMOL* salah satu alat visualisasi standar dalam penelitian kimia komputasi dan bioinformatika (Del *et al.*, 2023).

8. *PyRx*

PyRx merupakan perangkat lunak penyaringan virtual yang digunakan dalam penemuan obat berbasis komputasi. Aplikasi ini memungkinkan proses penyaringan perpustakaan senyawa terhadap target obat yang potensial. *PyRx* memfasilitasi para ahli kimia obat untuk melakukan penyaringan virtual dari berbagai jenis platform, serta mendukung pengguna dalam setiap tahapannya, mulai dari persiapan data, pengajuan pekerjaan, hingga analisis hasil (Dallakyan & Olson, 2015).

Proses penemuan obat tidak memiliki cara instan, *PyRx* menyediakan fitur penambatan molekuler wizard dengan antarmuka yang ramah pengguna, sehingga menjadikannya alat yang bermanfaat dalam CADD. *PyRx* dilengkapi dengan berbagai fungsi seperti lembar kerja kimia dan mesin visualisasi yang kuat, yang mendukung desain obat berbasis struktur (Dallakyan & Olson, 2015).

PyRx memanfaatkan berbagai perangkat lunak sumber terbuka yang telah mapan, di antaranya *AutoDock 4* dan *AutoDock Vina* sebagai perangkat lunak untuk proses penambatan molekuler, *AutoDockTools* untuk menghasilkan berkas input, Python sebagai bahasa pemrograman, wxPython untuk antarmuka pengguna lintas platform, alat visualisasi dari Kitware Inc., serta *Enthought Tool Suite* untuk membangun fitur aplikasi. *PyRx* juga menyertakan *Open Babel* yang berfungsi untuk mengimpor berkas SDF, menghilangkan garam, serta melakukan minimisasi energi. Dengan adanya fitur minimisasi energi dalam *Open Babel*, pengguna tidak memerlukan perangkat lunak tambahan untuk tahap ini (Dallakyan & Olson, 2015).

9. Penambatan molekuler

Penambatan molekul merupakan metode berbasis komputasi yang digunakan untuk memahami serta memprediksi proses pengenalan

molekuler, khususnya interaksi antara ligan (senyawa obat) dengan reseptor target. Proses ini melibatkan pencarian posisi ligan yang menunjukkan kesesuaian secara geometris dan energi, sehingga mampu memprediksi afinitas ikatan antara ligan dan reseptor. Metode penambatan molekuler yang dilakukan secara akurat dapat memberikan keuntungan signifikan, seperti efisiensi waktu, penghematan energi, dan penurunan biaya yang lebih besar dibandingkan metode eksperimental konvensional. Teknik ini memungkinkan perkiraan aktivitas biologis senyawa tanpa perlu melakukan sintesis terlebih dahulu (Mohanty & Mohanty, 2023).

D. Molekuler Target Antiinflamasi

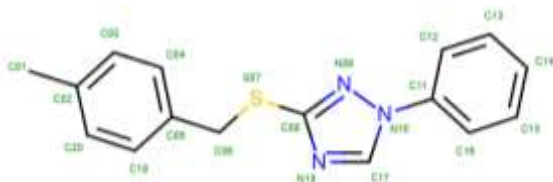
Dalam studi *Molecular docking*, pemilihan struktur tiga dimensi protein target yang valid sangat penting untuk menjamin akurasi interaksi ligan–reseptor. Struktur protein-protein target inflamasi diperoleh dari basis data *Protein Data Bank* (PDB) berdasarkan referensi jurnal internasional yang telah melakukan studi serupa. Pemilihan ini mempertimbangkan kesesuaian organisme, resolusi kristal, keberadaan ligan ko-kristal, serta relevansi biologis terhadap mekanisme inflamasi, dan juga sudah pernah digunakan oleh peneliti lain. Tiga target utama yang digunakan dan kode pdbnya meliputi iNOS (3HR4), LOX (7LAF), dan MMP-9.

1. LOX (*Lipoxygenase*)

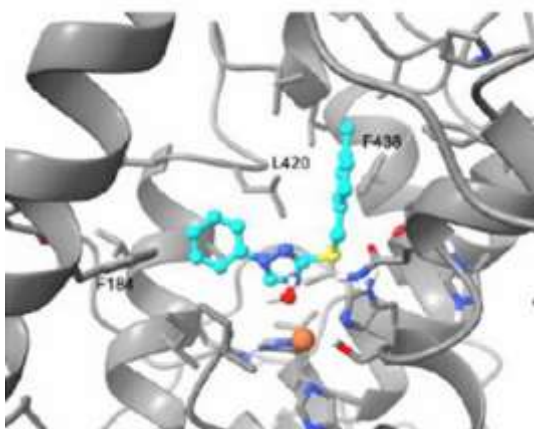
Human epithelial 15-*Lipoxygenase*-2 (h15-LOX-2) merupakan enzim *Lipoxygenase* yang berperan dalam oksigenasi asam lemak tak jenuh ganda, khususnya asam arakidonat, menjadi metabolit lipid bioaktif seperti 15-hydroperoxyeicosatetraenoic acid (15-HpETE). Enzim ini berperan dalam berbagai proses biologis dan patologis, termasuk inflamasi, aterosklerosis, cystic fibrosis, serta regulasi ferroptosis, sehingga h15-LOX-2 menjadi target penting dalam pengembangan inhibitor selektif (Tsai *et al.*, 2021).

Struktur kristal h15-LOX-2 diambil dari *Protein Data Bank* dengan kode PDB: 7LAF. Struktur ini diperoleh menggunakan metode *X-ray diffraction* dengan resolusi 2.44 Å dan berasal dari organisme *Homo sapiens* (manusia). Resolusi tersebut menunjukkan kualitas struktur yang baik sehingga memungkinkan analisis detail interaksi ligan–protein pada tingkat atomic (Tsai *et al.*, 2021).

Struktur 7LAF, h15-LOX-2 memiliki *U-shaped active site channel* yang bersifat hidrofobik dan berfungsi sebagai jalur pengikatan substrat maupun inhibitor menuju pusat katalitik. Berdasarkan visualisasi struktur (Gambar), ligan terikat di dalam situs aktif melalui interaksi dengan beberapa residu asam amino kunci, yaitu Phe184 (F184), Leu420 (L420), dan Phe438 (F438) (Tsai *et al.*, 2021).



Gambar 2. Ligan alami imidazole (Tsai *et al.*, 2021).



Gambar 3. Model interaksi LOX terikat dengan imidazole (Tsai *et al.*, 2021).

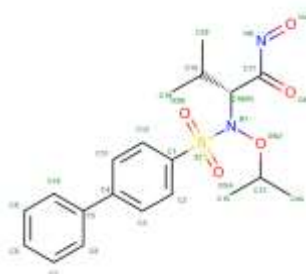
2. MMP-9 (*metalloproteinase-9*)

Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) merupakan salah satu anggota keluarga matrix metalloproteinase yang berperan penting dalam degradasi matriks ekstraseluler, khususnya komponen kolagen dan gelatin. Enzim ini terlibat dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, seperti remodeling jaringan, angiogenesis, inflamasi, serta progresi penyakit degeneratif dan kanker. MMP-9 menjadi target penting dalam penelitian farmakologi dan pengembangan inhibitor untuk pengendalian peradangan dan invasi sel (Nuti *et al.*, 2015).

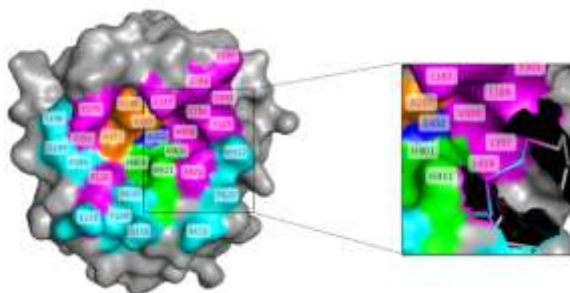
Struktur kristal MMP-9 diperoleh dari *Protein Data Bank* dengan metode *X-ray diffraction* dan resolusi tinggi sebesar 1.30 Å, yang menunjukkan kualitas struktur atomik yang sangat baik. Struktur ini berasal dari organisme *Homo sapiens* (manusia), sehingga sangat relevan

digunakan sebagai model representatif untuk studi mekanisme molekuler dan pengembangan inhibitor berbasis struktur (Nuti *et al.*, 2015).

Struktur kristal MMP-9 memiliki situs aktif khas metalloenzim yang berfungsi sebagai pusat katalitik. Berdasarkan hasil visualisasi struktur, ligan atau inhibitor terikat di sekitar situs aktif melalui interaksi dengan beberapa residu asam amino kunci, yaitu Leu187 (L187), Leu188 (L188), Ala189 (A189), Tyr393 (Y393), Leu397 (L397), Val398 (V398), His401 (H401), Glu402 (E402), dan His411 (H411). Residu L187, L188, A189, L397, dan V398 berperan dominan dalam membentuk lingkungan hidrofobik yang menstabilkan ligan di dalam kantong aktif, sedangkan Y393 berkontribusi melalui interaksi aromatik dan kemungkinan ikatan hydrogen (Nuti *et al.*, 2015).



Gambar 4. Ligan alami (2~{R})-3-methyl-~{N}-oxidanylidene-2-[(4-phenylphenyl)sulfonyl-propan-2-yloxy-amino]butanamide (Nuti *et al.*, 2015).



Gambar 5. Interaksi MMP-9 dengan ligan alami (Nuti *et al.*, 2015).

3. *Inducible Nitric oxide Synthase (iNOS)*

Inducible Nitric oxide Synthase (iNOS) merupakan salah satu isoform enzim *nitric oxide synthase* yang berperan penting dalam respons imun dan inflamasi. Enzim ini mengkatalisis konversi L-arginin menjadi *nitric oxide* (NO), molekul sinyal yang berfungsi dalam mekanisme pertahanan tubuh. Berbeda dengan eNOS dan nNOS yang bersifat konstitutif, iNOS diekspresikan secara terinduksi oleh rangsangan imun seperti sitokin proinflamasi, sehingga menghasilkan

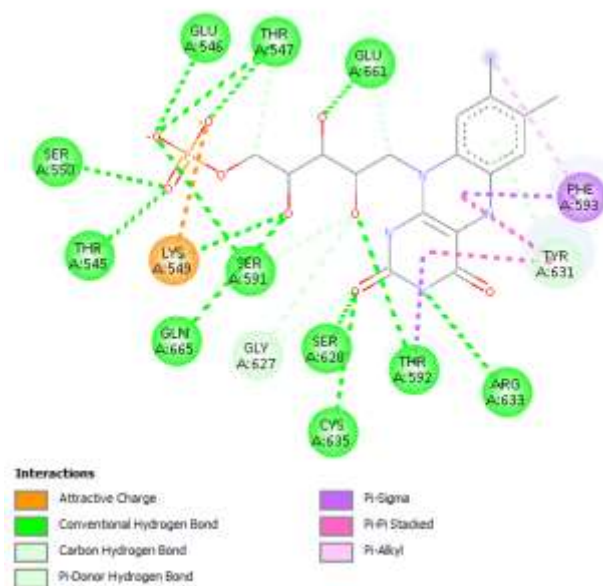
NO dalam jumlah besar dan menjadikannya target penting dalam penelitian pengendalian inflamasi (Xia *et al.*, 2009).

Struktur kristal iNOS manusia telah berhasil ditentukan menggunakan metode *X-ray diffraction* dengan resolusi 2.50 Å dan berasal dari organisme *Homo sapiens* (manusia). Resolusi ini menunjukkan kualitas struktur yang memadai untuk analisis interaksi ligan–protein serta identifikasi residu penting pada situs aktif enzim (Xia *et al.*, 2009).

Struktur kristal iNOS memiliki situs aktif yang terorganisasi dengan baik dan berperan dalam pengikatan substrat maupun inhibitor. Analisis visualisasi struktur menggunakan *Biovia Discovery Studio*, ligan berinteraksi dengan beberapa residu asam amino kunci, yaitu Thr545, Glu546, Thr547, Ser550, Thr592, Ser628, Arg633, Cys635, Glu661, dan Gln665 (Xia *et al.*, 2009).



Gambar 6. Ligan alami lavin mononucleotide (Xia *et al.*, 2009).



Gambar 7. Model interaksi iNOS terikat dengan ligan alami (Xia *et al.*, 2009).

E. Landasan Teori

Inflamasi merupakan respons fisiologis penting yang berfungsi melindungi tubuh dari infeksi, cedera jaringan, atau stres seluler. Inflamasi yang berlangsung kronis atau tidak terkontrol dapat memicu berbagai penyakit degeneratif seperti aterosklerosis, diabetes tipe 2, kanker, dan gangguan autoimun. Lebih dari 60% kematian global dikaitkan dengan penyakit yang berhubungan dengan inflamasi kronis (Bender *et al.*, 2025). Prevalensi penyakit inflamasi seperti *inflammatory bowel disease* (IBD) juga menunjukkan peningkatan signifikan di berbagai wilayah dunia, dengan angka kejadian global mencapai sekitar 229 kasus per 100.000 penduduk (Heydari *et al.*, 2025). Fakta tersebut menegaskan bahwa pengendalian inflamasi menjadi aspek krusial dalam upaya pencegahan dan terapi berbagai penyakit kronis.

Obat antiinflamasi sintetis, termasuk NSAID dan kortikosteroid, telah lama digunakan dan terbukti efektif dalam meredakan gejala inflamasi, namun penggunaannya jangka panjang sering menimbulkan efek samping serius seperti tukak lambung, gangguan ginjal, hepatotoksitas, serta supresi imun (Webster & Vucic, 2020). Sebagian besar obat tersebut bekerja secara non-selektif dan hanya menargetkan satu jalur inflamasi, sehingga efektivitasnya terhadap proses inflamasi kompleks masih terbatas. Kondisi ini mendorong pengembangan agen

antiinflamasi berbasis bahan alam yang dinilai lebih aman, terjangkau, dan memiliki mekanisme kerja multijalur.

Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan senyawa alami atau fitokimia yang memiliki berbagai aktivitas farmakologis, seperti flavonoid, alkaloid, dan terpenoid, yang diketahui dapat meningkatkan proliferasi sel imun, menstimulasi produksi sitokin, dan mengaktifkan makrofag (Aher & Wahi, 2012).

Brotowali (*Tinospora cordifolia*), tanaman dari famili Menispermaceae, merupakan salah satu sumber fitokimia yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional Asia untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan seperti demam, gangguan hati, inflamasi, hingga melemahnya sistem imun (Bala *et al.*, 2015). Dalam pengobatan Ayurveda, brotowali dikenal sebagai *Rasayana*, yaitu ramuan peningkat daya tahan tubuh (Singh *et al.*, 2025). Kemajuan penelitian modern membuktikan bahwa brotowali memiliki berbagai aktivitas biologis, di antaranya antioksidan, antiinflamasi, hepatoprotektif, antimikroba, dan imunomodulator (Yates *et al.*, 2022).

Aktivitas antiinflamasi brotowali dilaporkan berkaitan dengan kemampuannya menekan ekspresi *inducible Nitric oxide Synthase* (iNOS), enzim yang bertanggung jawab terhadap produksi *nitric oxide* dalam jumlah besar selama respon inflamasi. Penurunan aktivitas iNOS oleh ekstrak brotowali berkontribusi terhadap pengurangan stres nitrosatif dan kerusakan jaringan (Tiwari *et al.*, 2014). Brotowali juga diketahui memodulasi jalur *Lipoxygenase* (LOX), yang berperan dalam metabolisme asam arakidonat menjadi leukotrien proinflamasi. Penghambatan jalur LOX berimplikasi pada penurunan rekrutmen sel imun, permeabilitas vaskular, dan pemanjangan respon inflamasi (Jacob *et al.*, 2018). Di sisi lain, brotowali juga dilaporkan menurunkan ekspresi dan aktivitas *Matrix Metalloproteinase-9* (MMP-9), enzim yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler dan remodeling jaringan pada kondisi inflamasi kronis. Regulasi terhadap MMP-9 berkontribusi dalam membatasi kerusakan jaringan dan progresivitas inflamasi (Sannegowda *et al.*, 2015).

Ketiga mediator tersebut, yaitu iNOS, LOX, dan MMP-9, terlibat dalam jejaring sinyal inflamasi yang saling berkaitan, mulai dari produksi mediator reaktif, pembentukan mediator lipid proinflamasi, hingga degradasi jaringan. Protein-protein ini dianggap relevan untuk dijadikan target dalam analisis *Molecular docking*, karena mewakili

tahapan penting dalam proses inflamasi. Studi penambatan molekuler memungkinkan prediksi interaksi ligan–protein secara efisien, di mana energi ikatan yang lebih rendah menunjukkan potensi afinitas dan aktivitas biologis yang lebih tinggi (Arcon *et al.*, 2021). Analisis *in silico* terhadap senyawa aktif brotowali diharapkan dapat memberikan pemahaman yang lebih mendalam mengenai potensi terapeutiknya sebagai agen antiinflamasi alami yang aman dan efektif.

F. Hipotesis

1. Senyawa-senyawa dari tanaman brotowali memiliki interaksi baik terhadap molekul target kerja antiinflamasi iNOS, MMP-9 dan LOX sebagai antiinflamasi.
2. Senyawa-senyawa yang terdapat pada tanaman brotowali diprediksi memiliki kemiripan ikatan asam amino dengan ligan asli dari molekul target kerja antiinflamasi iNOS, MMP-9 dan LOX sebagai antiinflamasi.