



Molecular Docking and Toxicity from Temulawak Rhizome (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) against COX-2

Meilinda S. Praceka^{1,2*}, Ellen N. Yunita¹, Cleopatra D. Semesta¹, Refitha N. Putri¹,
Nazwa N. Mikdar¹, Elsa N. Sitinjak¹, Luthfi U. Setyawati¹, Muchtaridi Muchtaridi¹

¹Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Indonesia.

²Fakultas Farmasi, Universitas Halim Sanusi, Bandung, Indonesia

Submitted 21 December 2022; Revised 22 December 2022; Accepted 27 December 2022; Published 31 December 2022

*Corresponding author: meilinda19001@mail.unpad.ac.id

Abstract

Temulawak rhizome (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) is a rhizome that comes from the *Zingiberaceae* tribe. Temulawak rhizome is commonly used as a traditional medicine in Indonesia as an anti-inflammatory. The purpose of this study was to provide information on the potential of temulawak rhizome as a COX-2 inhibitor drug candidate and its toxicity to shrimp larvae (*Artemia salina Leach.*). The methods used are *Lipinski Rule of Five* prediction, PreADMET, molecular docking, pharmacophore screening, and BSLT toxicity test. The results obtained show that the lowest Gibbs energy is produced by *curcumin* (-9.65 kcal/mol), has a pharmacophore hit value, meets the *Lipinski rule of five*, predicts a good pharmacophore profile, but *curcumin* has mutagenic properties and is classified as toxic after being tested. with the BSLT method. So that it can be concluded that curcumin has the potential to become an anti-inflammatory drug, but further studies are needed and modifications to the molecular structure of the compound can be carried out so that the tested compound can produce better activity.

Keywords: Anti-inflammatory, *Lipinski Rule of Five*, Molecular Docking, Pharmacokinetic, Temulawak Rhizome, Toxicity Test.

Penambatan Molekul dan Toksisitas dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) terhadap COX-2

Abstrak

Rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) merupakan rimpang yang berasal dari suku *Zingiberaceae*. Rimpang temulawak umum digunakan sebagai pengobatan tradisional di Indonesia sebagai anti inflamasi. Tujuan penelitian ini, memberikan informasi potensi rimpang cabang temulawak sebagai kandidat obat inhibitor COX-2 dan toksisitasnya pada larva udang (*Artemia salina Leach.*). Metode yang digunakan yaitu prediksi *Lipinski Rule of Five*, PreADMET, molecular docking, skrining farmakofor dan uji toksisitas BSLT. Hasil yang didapatkan menunjukkan energi gibbs yang paling rendah dihasilkan oleh *curcumin* (-9,65 kkal/mol), memiliki nilai hit farmakofor, memenuhi aturan *lipinski rule of five*, prediksi profil farmakofor yang baik, namun curcumin memiliki sifat mutagenik dan tergolong toksik setelah diuji dengan metode BSLT. Sehingga dapat disimpulkan *curcumin* memiliki potensi untuk menjadi obat antiinflamasi namun diperlukan studi lebih lanjut dan dapat dilakukan modifikasi struktur molekul senyawa sehingga senyawa uji dapat menghasilkan aktivitas yang lebih baik.

Kata Kunci: Antiinflamasi, Farmakokinetik, *Lipinski Rule of Five*, Perambatan Molekul, Rimpang Temulawak, Uji Toksisitas.

1. Pendahuluan

Terdapat banyak bahan alam yang dimanfaatkan untuk pengobatan tradisional di Indonesia, salah satunya adalah tanaman dari suku Zingiberaceae yang keberadaannya melimpah. Tanaman dari suku ini terdiri dari 47 genus dan sekitar 1000 spesies, tersebar di Asia Selatan dan Asia Tenggara¹. Salah satu tanaman dari suku Zingiberaceae adalah temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang didalamnya terkandung senyawa kimia antara lain yaitu *curcumin*, *xanthorrhizol*, *borneol*, β -*elemene*, *turmerol*, *curzerenone*, *tricyclene*, *camphene*, *camphor*, dan *ar-Tumerone*².

Pemanfaatan temulawak bervariasi di tiap daerah di Indonesia. Secara tradisional, rimpang temulawak digunakan untuk menambah nafsu makan, mengobati sembelit, ambeien, jerawat, diare, demam, kejang, menguraikan batu empedu, pegal linu, rematik, radang sendi, sariawan, dan keputihan. Temulawak umumnya digunakan dalam kondisi segar, rebusan, maupun serbuk³.

Berdasarkan kaidah Lipinski dalam pengembangan dan penemuan suatu kandidat bahan obat yang digunakan secara oral, maka harus memenuhi lima syarat yang dikenal dengan "Rule of Five"⁴. Jika dua atau lebih persyaratan tersebut tidak dipenuhi maka terdapat kemungkinan yang besar bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas oral dan bioavailabilitas yang rendah⁵. Jika dua atau lebih persyaratan tersebut tidak dipenuhi maka terdapat kemungkinan yang besar bahwa senyawa tersebut memiliki aktivitas oral dan bioavailabilitas yang rendah⁶.

Analisis kandidat senyawa obat dilakukan berdasarkan sifat kemiripan dengan obat (*drug-likeness*) dan profil Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitasnya (ADMET). Prediksi ADMET dapat memberikan suatu informasi mengenai bioavailabilitas oral, permeasi sel, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas yang menjadi karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamik dari sebuah molekul obat. PreADMET memungkinkan kegagalan pada tahap pengembangan dapat diminimalisir⁷.

Pada umumnya obat yang tidak terikat ikatan protein plasma akan bebas menembus membran sel dan berinteraksi dengan target farmakologis maka dari itu hal ini akan menimbulkan target farmakologis. Obat yang tidak terikat pada protein plasma akan berpengaruh ke efek di tubuh karena semakin banyak fraksi bebas, semakin bahaya pada tubuh⁸. Selanjutnya, uji yang dapat diprediksi melalui prediksi ADMET adalah Penetrasi Sawar Darah Otak yang bertujuan untuk menghindari efek samping pada sistem saraf pusat. Senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik bila mempunyai nilai Log BB > 0,3, dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila log BB < -1⁹.

Metode *molecular docking* dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas senyawa bioaktif dalam tumbuhan obat. Metode ini lebih efisien dari segi waktu maupun biaya sebelum dilakukan penelitian secara *in vivo* dan *in vitro*¹⁰. Gugus farmakofor penting (gugus fungsi) yaitu bagian molekul obat yang dapat memberikan aksi farmakologi¹¹. Farmakofor merupakan fitur sterik dan elektronik yang dibutuhkan dalam untuk menjamin interaksi yang optimal antara ligan dengan Target Protein Yang Optimal dengan struktur target biologis yang spesifik untuk memicu atau menghambat respons biologisnya¹². Model farmakofor dapat dibangun menggunakan *software LigandScout*, *Discovery Studio*, *Molecular Operating Environment* (MOE)¹³. Metode *structure-based pharmacophore design* dibagi menjadi 2 sub kategori, yaitu berbasis kompleks ligan dan makromolekul serta berbasis makromolekul (tanpa ligan)^{14,15}.

Uji toksisitas adalah uji yang digunakan untuk mengamati aktivitas farmakologi suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat setelah pemberian dalam dosis tertentu. Prinsip uji toksisitas yaitu komponen bioaktif selalu bersifat toksik jika diberikan dengan dosis yang tinggi dan menjadi obat apabila dosisnya rendah¹⁶. Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan dalam uji toksisitas dengan tujuan untuk menentukan potensial suatu senyawa sebagai racun dengan mengetahui tingkat toksisitas

dari suatu ekstrak. Larva udang yang sangat sensitif akan mati apabila senyawa asing tersebut bersifat toksik¹⁷. Beberapa kelebihan dari metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) menggunakan larva udang (*Artemia salina* Leach) seperti pengerjaan yang cepat, mudah, tidak memerlukan peralatan khusus dan keahlian yang khusus, sederhana (tanpa teknik aseptik) dan murah karena waktu pengamatan hanya 24 jam, jumlah organisme banyak, menggunakan sampel uji dalam jumlah kecil, hasilnya representatif dan dapat dipercaya¹⁸.

2. Metode

2.1. Alat

Perangkat Keras: Laptop dengan CPU Intel(R) Celeron(R) N4000 CPU @ 1.10GHz, Windows 10 64-Bit Operating System. Perangkat lunak: Chem3D Pro 12.0, ChemDraw Ultra 12.0, laman SwissADME (<http://www.swissadme.ch/index.php#>), laman pre-ADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>), LigandScout.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu reseptor *cyclooxygenase-2* (COX-2) dan 10 senyawa uji yaitu *curcumin*, *xanthorrhizol*, *borneol*, β -*elemene*, *turmerol*, *curzerenone*, *tricyclene*, *camphene*, *camphor*, dan *ar-Turmerone*.

2.3. Prosedur

2.3.1. Prediksi Sifat Fisikokimia

Struktur molekul senyawa uji digambarkan struktur 2 dimensinya menggunakan software *ChemDraw Ultra 12.0*. Senyawa uji lalu diprediksi sifat fisikokimianya secara online pada laman SwissADME dengan mengunggah file struktur 3 dimensi yang telah disimpan dalam format .mol sebelumnya. Setelah itu, dilakukan analisis hasil dan menentukan senyawa uji mana saja yang masuk ke dalam aturan *Lipinski rules of five*.

2.3.2. Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi sifat *drug-likeness* dilakukan setelah selesai menggambarkan struktur molekul senyawa uji maka akan muncul

beberapa data hasil analisis sifat *drug-likeness* dari senyawa yang digambar sebelumnya. Berkas informasi *drug-likeness* yang muncul disimpan dalam bentuk format pdf. Profil toksisitas senyawa dan profil toksisitas dari senyawa yang digambar sebelumnya. Berkas informasi toksisitas senyawa yang muncul disimpan dalam bentuk format pdf.

2.3.3. Penambatan Molekul

Enzim *cyclooxygenase-2* yang diambil dari PDB (*Protein Data Bank*) dengan PDB ID: 5KIR. Kemudian pisahkan reseptor dan ligan menggunakan software *BIOVIA Discovery Studio* dan disimpan masing masing dalam format (.pdb). Validasi dilakukan. Makromolekul dioptimalkan dengan software *AutoDockTools-1.5.6*. Struktur 3D makromolekul ditambahkan atom hidrogen kemudian diperbaiki muatannya dengan menambahkan muatan parsial *Gasteiger* dan diberi medan gaya.

2.3.4. Pharmacophore Modeling

Untuk menentukan farmakofor dari suatu kompleks ligand-protein. Preparasi database senyawa *active* dan *decoy* dengan cara buka web dude.docking.org, unduh senyawa *active* dan *decoy* dalam format sdf, kemudian buka software *Biovia Discovery Studio*, buka file "*active.sdf*". Preparasi database senyawa uji dengan cara unduh semua struktur senyawa uji dalam format sdf, masukkan semua senyawa uji ke dalam *LigandScout* dan minimisasi semua senyawa uji. kurva ROC dibuka pada file pmz dari senyawa aktif. Kemudian masukkan file *decoy.sdf* dan *active.sdf* dan tentukan nilai AUC tertinggi dari 10 model senyawa yang diskriminasi. Skrining senyawa dan pilih model dengan AUC tertinggi yang akan digunakan untuk screening. Setelah itu analisis data senyawa uji *pharmacophore fit score*.

2.3.5. Uji Toksisitas dengan Metode BSLB

Penyiapan air laut buatan dan medium penetasan: Air laut buatan dibuat dengan menggunakan 40 g garam laut yang dilarutkan dalam 1 liter air suling kemudian disaring. Medium penetasan disiapkan

dengan menambahkan ragi kering sebanyak 6 mg/L dalam air laut buatan, sebagai nutrisi atau suplemen larva.

Penyiapan ekstrak dan pembeding: dilakukan dengan 2 cara yaitu:

- Teknik *microwell 96 plate*

Larutan stok dibuat dengan mensuspensikan sampel dalam air laut buatan dengan penambahan DMSO sebagai kosolven (1%) sampai konsentrasi 2000 µg/mL. Larutan ini pada saat pengujian akan diencerkan dengan suspensi larva sehingga pada saat pengujian, konsentrasi ekstrak dalam sumur *microwell 96 plate* berada pada rentang 15,625-1000 µg/mL. Proses pengenceran dilakukan pada vial atau tabung *ependorf* terpisah.

- Teknik Vial

Sampel disuspensikan dalam air laut buatan dengan penambahan DMSO sebagai kosolven (1%) sampai konsentrasi 10.000 µg/mL (larutan stok). Larutan ini pada saat pengujian akan diencerkan dengan suspensi larva sehingga pada saat pengujian, konsentrasi ekstrak dalam vial berada pada rentang 15,625-1000 µg/mL. Proses pengenceran dilakukan pada vial terpisah

Pengujian BSLT pada vial: Vial disiapkan sebanyak 21 buah lalu diberi label pada vial sesuai dengan variasi konsentrasi yang telah dibuat untuk replikasi sebanyak tiga kali. Pada vial dimasukkan larva udang sebanyak 10 hingga 20, lalu ditambahkan 5 ml ekstrak temulawak ke dalam tiap vial dan juga larutan media ditambahkan hingga tanda batas 10 mL. Biarkan selama 24 jam dalam keadaan tutup vial terbuka dan terpapar cahaya terang. Hitung jumlah larva mati dan larva hidup setelah 24 jam.

Pengujian BSLT dalam *Microplate*: Sebanyak 10-20 larva dimasukkan ke *microplate* menggunakan mikropipet berskala 100 mikrometer. Kemudian, ekstrak ditambahkan dengan variasi konsentrasi pada *microplate* menggunakan mikropipet. *Microplate* dibiarkan pada cahaya terang selama 24 jam. Hitung jumlah larva yang mati dengan bantuan mikroskop, ditambahkan metanol ke dalam *microplate* dan hitung jumlah larva yang terlihat pada mikroskop.

3. Hasil dan Pembahasan

memprediksi absorpsi atau permeasi suatu obat. Kelarutan dan permeabilitas dari suatu senyawa berperan penting dalam mempertimbangkan pengembangan obat lebih lanjut. Hal ini dilakukan untuk mencegah kegagalan dari suatu obat yang disebabkan oleh rendahnya absorpsi atau permeasi¹⁹. Aturan Lipinski dapat menentukan sifat fisikokimia ligan untuk menentukan karakter hidrofobik/hidrofilik pada senyawa untuk bisa masuk kedalam membran sel melalui difusi pasif²⁰. Ikatan hidrogen diukur dengan jumlah ikatan yang dapat diputar dan jumlah ikatan hidrogen total (jumlah donor dan akseptor) ditemukan sebagai prediktor penting dari bioavailabilitas oral yang baik dimana jumlah ikatan hidrogen cenderung meningkat dengan berat molekul untuk memprediksi bioavailabilitas oral²¹. Berdasarkan hasil analisis berdasarkan aturan *Lipinski Rule of Five*, diketahui bahwa 10 senyawa yang digunakan sebagai ligan pada temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yaitu *curcumin*, *xanthorrhizol*, *borneol*, *β-elemene*, *turmerol*, *curzerenone*, *tricyclene*, *camphene*, *camphore*, dan *ar-Turmerone* memenuhi standar Lipinski yang telah ditetapkan, sehingga senyawa tersebut dapat berdifusi pasif ke dalam sel serta memiliki absorpsi yang baik untuk dapat dikonsumsi secara oral.

Dengan dilakukannya pengujian PreADMET kemungkinan kegagalan pada tahap pengembangan dapat diminimalisir. Absorpsi merupakan proses transportasi senyawa obat yang tidak termetabolisme dari rute penggunaan menuju sistem sirkulasi tubuh¹⁸. Terdapat beberapa mekanisme absorpsi obat yaitu dengan difusi pasif, difusi aktif, serta dengan molekul *transporter* non spesifik seperti P-glikoprotein²². Nilai persentase HIA diklasifikasikan menjadi absorpsi senyawa buruk (0–20%), absorpsi senyawa sedang (20–70%), dan absorpsi senyawa baik (70–100%)²⁰. Setelah dilakukan pengujian senyawa aktif rimpang temulawak dapat disimpulkan seluruh senyawa aktif memiliki absorpsivitas baik.

Sel Caco-2 berasal dari sel kanker adenokarsinoma kolon manusia. Sel ini

Tabel 1. Hasil Penerapan 5 Hukum Lipinski

Senyawa	BM (<500 Da)	Log P (<5)	Donor H (<5)	Akseptor H (<10)
<i>Curcumin</i>	368,3785	3,3699	2	6
<i>Xanthorrhizol</i>	218,33	4,31	1	1
<i>Borneol</i>	154,249	2,1935	1	1
<i>β-elemene</i>	204,35	4,7472	0	0
<i>Turmerol</i>	220,3498	4,0062	1	1
<i>Curzerenone</i>	230,3014	3,7114	0	2
<i>Tricyclene</i>	136,2336	2,6885	0	0
<i>Camphene</i>	136,2336	2,9987	0	0
<i>Camphor</i>	152,2330	2,4017	0	1
<i>ar-Turmerone</i>	216,3179	4,0239	0	1

dapat dimanfaatkan untuk melakukan uji model *in vitro* untuk memprediksi absorpsi senyawa obat baru secara oral²³. Nilai permeabilitas sel Caco-2 dapat dikategorikan menjadi permeabilitas rendah (<4 nm/detik), permeabilitas sedang (4–70 nm /detik), dan permeabilitas tinggi (>70 nm/detik). Setelah dilakukan pengujian senyawa aktif rimpang temulawak didapatkan nilai permeabilitas dapat dilihat pada tabel 2. Dari data yang didapatkan, maka dapat disimpulkan seluruh senyawa aktif memiliki permeabilitas sedang.

Protein Plasma Binding (PPB) atau Ikatan Protein Plasma merupakan fraksi obat yang tersedia dalam keadaan bebas untuk didistribusikan ke berbagai jaringan dalam tubuh²⁴. Nilai dari % PBB diklasifikasikan menjadi 2, yaitu > 90% yang menunjukkan ikatan yang kuat dengan protein plasma dan < 90% yang menunjukkan ikatan yang lemah dengan protein plasma dalam artian mampu terdistribusi dengan baik. Berdasarkan teori, obat yang terikat dengan protein plasma

sifatnya inaktif, dan hanya obat dalam keadaan bebas dan tidak terikat lah yang bisa menghasilkan respons biologis karena dapat bekerja pada target, hingga akhirnya masuk ke dalam proses eliminasi²⁵. Dari prediksi yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa dari hasil prediksi, seluruh senyawa uji terikat sangat kuat dengan protein plasma, dan hanya *curcumin* lah yang dapat terdistribusi dengan baik.

Prediksi penetrasi *Blood-Brain Barrier* (BBB) atau penetrasi sawar darah otak yang merupakan *rasio* konsentrasi senyawa yang diukur di otak dengan konsentrasi senyawa yang diukur dalam darah pada keadaan tunak. *Rasio* tersebut menjadi parameter untuk mengukur kemampuan penetrasi suatu senyawa melintasi BBB²⁶. Klasifikasi tingkat penetrasi BBB dibagi menjadi 3, yaitu absorpsi tinggi ke Sistem Saraf Pusat (SSP) (> 2,0), absorpsi sedang ke SSP (2,0 ~ 0,1), dan absorpsi rendah ke SSP (<0,1)²⁷. Nilai penetrasi BBB pada senyawa dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil prediksi ADMET

Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas	
	HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
<i>Curcumin</i>	94,403	20,073	88,030	0,091	+	-
<i>Xanthorrhizol</i>	100	53,284	100	12,873	-	+
<i>Borneol</i>	100	24,234	100	3,805	-	-
<i>β-elemene</i>	100	23,491	100	13,435	-	-
<i>Turmerol</i>	100	53,198	100	10,231	-	+
<i>Curzerenone</i>	100	55,485	100	0,993	-	+
<i>Tricyclene</i>	100	22,304	100	3,441	-	-
<i>Camphene</i>	100	23,494	100	5,756	-	-
<i>Camphor</i>	100	26,815	100	0,867	-	-
<i>ar-Turmerone</i>	100	55,504	100	2,291	-	-

Tabel 3. Hasil Penambatan Molekuler

Senyawa	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ki (μ M)	Interaksi Residu Asam amino	
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Van der Waals
Vioxx/Rofecoxib (Obat Pembanding)	-10,73	13,57 nm	ILE A:517, PHE A:518, SER A:530, ALA A:527, ARG A:513	-
<i>Curcumin</i>	-9,65	84,64	ARG A:120, PHE A:518, GLN A:192, SER A:353	-
<i>Xanthorrhizol</i>	-8,26	878,70	GLN A: 192 LEU A: 352	-
<i>Borneol</i>	-6,03	37,97	VAL A: 523	-
<i>β-elemene</i>	-7,66	2,43	-	-
<i>Turmerol</i>	-7,92	1,58	VAL A:523	SER A:353
<i>Curzerenone</i>	-7,86	1,73	-	-
<i>Tricyclene</i>	-5,77	59,03	-	-
<i>Camphene</i>	-5,91	46,19	-	-
<i>Camphor</i>	-5,80	56,29	-	-
<i>ar-Turmerone</i>	-8,19	993,07 nM	-	-

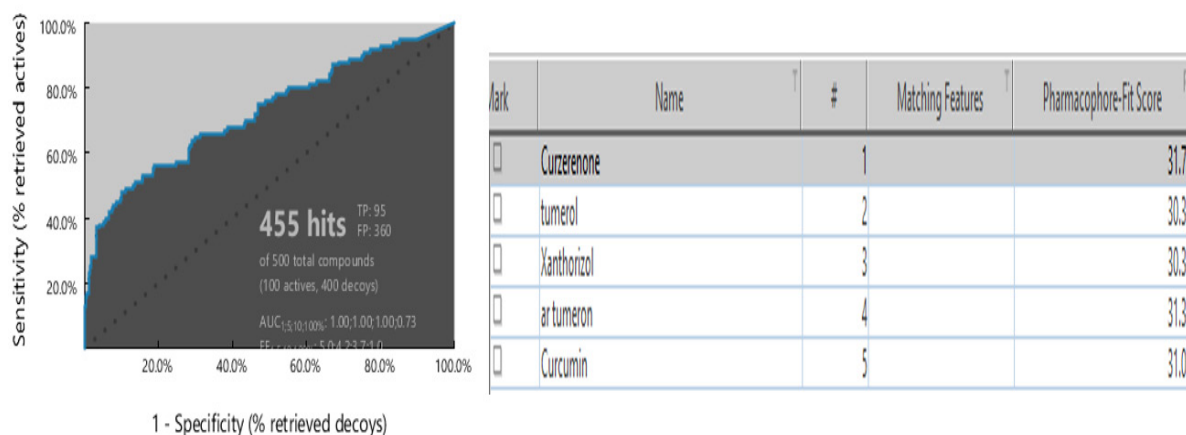
Berdasarkan klasifikasi yang telah disebutkan sebelumnya, maka dapat dikatakan bahwa *curcumin* memiliki kemampuan absorpsi ke SSP yang rendah, *curzerenone* dan *camphore* memiliki kemampuan absorpsi sedang ke SSP, sedangkan senyawa yang memiliki kemampuan absorpsi ke SSP yang tinggi yaitu *xanthorrhizol*, *borneol*, *β -elemene*, *turmerol*, *tricyclene*, dan *camphene*.

Prediksi toksisitas dari senyawa uji dilakukan dengan parameter yang digunakan untuk prediksi toksisitas ini yaitu *Ames test* dan *carcinogenicity*. *Ames test* digunakan untuk mendeteksi efek mutagenik dari senyawa uji. Uji mutagenik dilakukan untuk mengetahui kemungkinan adanya senyawa memiliki sifat mutagen, sedangkan uji karsinogenisitas dilakukan untuk melihat senyawa yang dapat memicu pertumbuhan kanker²⁸.

Beberapa senyawa uji dapat berikatan dengan asam amino (PHE A:518) yang sama dengan asam amino *lead compound* yaitu Vioxx, namun pada senyawa *Xanthorrhizol* tidak ada asam amino yang sama dengan *lead compound*, sedangkan pada *Curcumin* terdapat 5 asam amino yang sama dengan *lead compound*. Energi gibbs yang paling rendah dihasilkan oleh *Curcumin* (-9,65 kkal/mol) dan *Xanthorrhizol* (-8,26 kkal/mol) diantara senyawa senyawa lain dan yang nilainya paling mendekati *lead compound* (-10,73 kkal/mol).

Screening pharmacophore termasuk ke dalam kategori pemindaian berbasis ligan yang dilakukan menggunakan informasi struktur ligan²⁹. Model farmakofor yang baik harus memiliki nilai AUC-ROC yang lebih besar dari 0,5 serta nilai GH yang lebih dari 0,7³⁰. Pemodelan farmakofor pada *LigandScout* dapat dilakukan tanpa mengetahui data struktur kompleks protein-ligan atau kualitasnya buruk³¹. Senyawa aktif merupakan senyawa aktif yang diketahui memiliki aktivitas tertentu menurut literatur. Sementara, senyawa *decoy* adalah senyawa tidak aktif yang dipilih secara acak dari *database* sesuai kriteria tertentu seperti kemiripan dengan struktur obat, berat molekul, dan luas permukaan topologis³². Nilai AUC berkisar antara 0 hingga 1. Nilai AUC-ROC yang mendekati 1 menunjukkan bahwa model farmakofor semakin baik dan mampu membedakan antara senyawa aktif dengan *decoy* (senyawa yang tidak aktif/ pengecoh). Analisis data senyawa uji dengan diamati *pharmacophore fit score*. Didapatkan nilai AUC model 1 hingga 10 secara berurutan adalah 0,73; 0,72; 0,72; 0,72; 0,54; 0,72; 0,72; 0,72; 0,69; dan 0,69. Nilai AUC yang memenuhi syarat adalah diatas 0,70 sehingga dari seluruh permodelan tersebut model 1 dengan nilai 0,73.

LC₅₀ merupakan konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% populasi yang



Gambar 1. Kurva ROC dan hasil skrining farmakofor senyawa uji

terpapar³¹. Pada pengujian kali ini, variasi konsentrasi yang perlu dibuat dapat dilihat pada tabel 4. Masing-masing konsentrasi tersebut diujikan pada 10-20 larva udang secara triplo atau tiga kali replikasi. Larva udang dipilih karena memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap senyawa yang bervariasi. Selain itu, larva udang dapat menetas dalam waktu singkat sehingga hasil pengujian dapat diperoleh dengan cepat. Hasil dari uji toksisitas dengan Metode BSLT ini dapat dilihat pada Tabel 4.

Selanjutnya, kurva dibuat dengan menghubungkan antara log konsentrasi

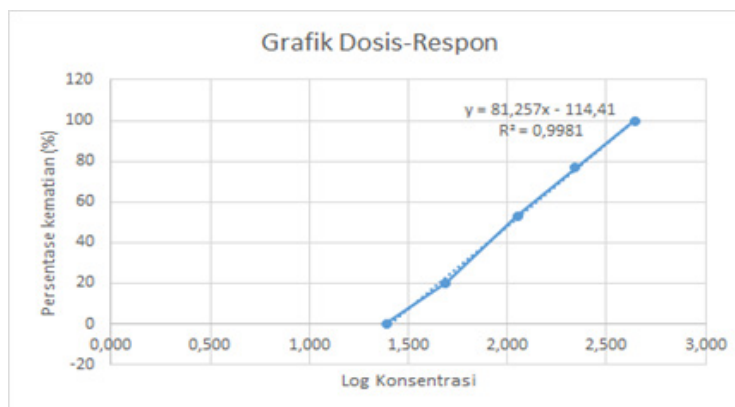
sebagai sumbu x dengan % kematian sebagai sumbu y (Gambar 2). Menurut Meyer (1982), terdapat 3 tingkat toksisitas suatu ekstrak yaitu sangat toksik ($LC_{50} < 30$ ppm), toksik (LC_{50} 31-1000 ppm), dan tidak toksik ($LC_{50} > 1000$ ppm). Pada pengujian kali ini, didapatkan konsentrasi LC_{50} sebesar 105,439 ppm sehingga tingkat toksisitasnya tergolong toksik.

4. Kesimpulan

Senyawa uji yang terkandung dalam tanaman temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) memenuhi Hukum 5 Lipinski sehingga

Tabel 4. Hasil Uji Toksisitas

Konsentrasi (ppm)	Log Konsentrasi	Pengulangan	Jumlah Kematian	Total Populasi	% Kematian	% Rata-rata Kematian
1.759,32	3.245	1	10	10	100	100%
		2	10		100	
		3	10		100	
876,66	2.943	1	10	10	100	100%
		2	10		100	
		3	10		100	
439,83	2,643	1	10	10	100	100%
		2	10		100	
		3	10		100	
219,915	2,342	1	10	10	100	76,7%
		2	6		60	
		3	7		70	
112,175	2,050	1	4	10	40	53%
		2	8		80	
		3	4		40	
48,87	1,690	1	2	10	20	20%
		2	3		30	
		3	1		10	
24,435	1,388	1	0	10	0	0%
		2	0		0	
		3	0		0	



Gambar 2. Kurva hasil uji toksisitas

diprediksi dapat diberikan secara oral serta seluruh senyawa uji bersifat mutagenik kecuali *curcumin*. Pada uji karsinogenik, senyawa yang menunjukkan hasil positif karsinogen yaitu *xanthorrhizol*, *turmerol*, dan *curcurezone*. Hasil penambatan molekuler menunjukkan energi *gibbs* yang paling rendah dihasilkan oleh *Curcumin* (-9,65 kkal/mol) diantara senyawa senyawa yang lain dan yang nilainya paling mendekati *lead compound* (-10,73 kkal/mol). *Curcumin* memiliki potensi untuk menjadi obat antiinflamasi namun diperlukan studi lebih lanjut dan dapat dilakukan modifikasi struktur molekul senyawa sehingga senyawa uji dapat menghasilkan aktivitas yang lebih baik. Uji toksisitas terhadap rimpang temulawak menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) dan didapatkan hasil bahwa ekstrak dari temulawak tergolong toksik dengan nilai LC_{50} sebesar 105,439 ppm.

Daftar Pustaka

1. Ezzat SM, Ezzat MI, Okba MM, Menze ET, Abdel-Naim AB. The hidden mechanism beyond ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) potent in vivo and in vitro anti-inflammatory activity. *Journal of ethnopharmacology*. 2018;25(214):113-23.
2. Syamsudin RA, Perdana F, Mutiaz FS, Galuh V, Rina AP, Cahyani ND, Aprilia S, Yanti R, Khendri F. Temulawak plant (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) as traditional medicine. *Farmako Bahari*. 2019;10:51-65.
3. Lipinski, C. A., 2004. Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1(4), 337–341.
4. Dashti, Y., Grkovic, T., & Quinn, R. J. 2013. Predicting natural product value, an exploration of anti-TB drug space. *Natural product reports*, 31(8), 990-998.
5. Nursamsiar, Toding, A.T., and Awaluddin, A., 2016. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 13(1), 92–100.
6. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2001, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 46 (1–3), 3–26.
7. Syahputra, G., Ambarsari, L., Sumaryada, T., 2011, Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase, *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55-67.
8. Syahputra G. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. 2014 Mar 1;10(1).
9. Nursamsiar, Toding, A.T., and Awaluddin, A., 2016. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 13(1), 92–100.

10. Nusantara & Fadlan. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*. 2020; Vol. 5(2):114-126
11. Hardjono, Suko. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoi-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2016; Vol. 14(2): 246-255
12. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., 2004, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 46 (1–3),3–26.
13. Lipinski, C. A., 2004. Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 1(4), 337–341.
14. Dashti, Y., Grkovic, T., & Quinn, R. J. 2013. Predicting natural product value, an exploration of anti-TB drug space. *Natural product reports*, 31(8), 990-998.
15. Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W., & Kopple, K. D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*. 45(12): 2615–2623
16. Alagga AA, Gupta V. Drug Absorption [diunduh 2 Maret 2022]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557405/>
17. Pires C.L, Praça C, Martins P.A.T Batista de Carvalho A.L.M, Ferreira L, Marques M.P.M, Moreno M.J. Re-Use of Caco-2 Monolayers in Permeability Assays—Validation Regarding Cell Monolayer Integrity. *Pharmaceutics*. 2021; 13 (1563): 1–2.
18. Shargel L, Yu ABC. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics 7th Edition. New York : McGraw Hill; 2016.
19. Harvey, R. A. & Champe, P.C. *Farmakologi Ulasan Bergambar*, Edisi 4. Kedokteran EGC. Jakarta; 2013.
20. Husain, N.P., Kairupan, C.F., Durry, M.F. Gambaran Histopatologi Payudara Mencit (Mus Musculus) Yang Diinduksi Dengan Senyawa Karsinogenik Benzo(A)Pyrene Dan Diberikan Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda Citrifolia L). *Jurnal e-Biomedik*. 2015; 3(1): 524.
21. Nusantara & Fadlan. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*. 2020; Vol. 5(2):114-126
22. Hardjono, Suko. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoi-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2016; Vol. 14(2): 246-255
23. Currie, G M. Pharmacology, Part 2: Introduction to Pharmacokinetics. *J Nucl Med Technol*. 2018; 46(3):221-230.
24. Nisa, F. K., Kasmui Kasmui, and Harjito Harjito. "Uji Aktivitas Antioksidan Pada Modifikasi Senyawa Khrisin Dengan Gugus Alkoksi Menggunakan Metode Recife Model 1 (RM1)." *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences* 38, no. 2 (2015): 160-168.
25. Hamzah, N., Najib, A., Thahir, N. and Misqawati, I., 2014. Studi farmakofor reseptor COX-2 sebagai anti inflamasi. *Jurnal farmasi UIN Alauddin Makassar*, 2(3), pp.99-107.
26. Soekardjo, S. 2008. *Kimia Medisinal* 1. Surabaya: Airlangga University Press.
27. Yang, P., Liu H. C., Chen Y. D., Yuan H. L., Sun S. L., Gao Y. P., Yang P., Zhang L., Lu T., and Lu S. 2011. Combined Pharmacophore Modeling, Docking, and 3DQSAR Studies of PLK1 Inhibitors, *Int. J. Mol. Sci.*, 12, 8713-8739.
28. Kaserer, T., Beck, K. R., Akram, M., Odermatt, A., and Schuster, D. (2015). Pharmacophore models and

- pharmacophore-based virtual screening: concepts and applications exemplified on hydroxysteroid dehydrogenases.
29. Makiyah, A., dan Sumirat T. 2017. Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD50 Ekstrak Etanol Umbi Iles-iles (*Amorphophallus variabilis* Bl.) pada Tikus Putih Strain Wistar. MKB. Vol. 49(3): 145- 155.
 30. Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, L.B., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E. and McLaughlin, J.L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica*. Vol. 45:31-34.
 31. Gad, S.C. 2014. *Encyclopedia of Toxicology* 3rd Edition. US: Academic Press
 32. Riki, R., Kurniatin, P. A., Ambarsari, L., & Darusman, L. K. 2016. Characterization and Toxicity of Temulawak Curcuminoid Nanoparticles. *Current Biochemistry*, 3(1), 43-53