



In Silico Study of Flavonoid from *Caesalpinia sappan* L. against HMG-CoA reductase as Antihypercholesterolemia

Aditya Luhung¹, Kinar Shefelin¹, Nurqisthi I. Adiputri¹, Alifa N. Deliyana¹, Michelle N. Colin¹, Nur S. E. Claudiana¹, Rina F. Nuwarda^{*1}

¹Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat, Indonesia

Submitted 06 June 2024; Revised 18 October 2024; Accepted 21 November 2024; Published 02 January 2025

*Corresponding author: rina.nuwarda@unpad.ac.id

Abstract

Hypercholesterolemia is a severe condition characterized by elevated blood cholesterol levels exceeding 240 mg/dL, contributing to over 18.5 million deaths since 2019. Simvastatin, a widely used cholesterol-lowering therapy, inhibits the enzyme HMG-CoA reductase. However, despite its efficacy, statin-based drugs can cause adverse effects such as hepatotoxicity, malaise, rhabdomyolysis, and myopathy. Sappan wood (*Caesalpinia sappan* L.) is a potential alternative known for its antihypercholesterolemic properties, attributed to its main compounds: sappanone B, brazilin, and hematoxylin. This study aimed to evaluate the potential of flavonoids in sappan wood as HMG-CoA reductase inhibitors using molecular docking analysis. The results revealed that sappanone B exhibited the lowest binding energy (-7.71 kcal/mol) and an inhibition constant of 2.22 μ M, followed by brazilin (-7.34 kcal/mol, 4.17 μ M) and hematoxylin (-7.00 kcal/mol, 7.45 μ M). These findings suggest that sappanone B, brazilin, and hematoxylin possess significant potential as competitive HMG-CoA reductase inhibitors, providing a promising natural alternative for hypercholesterolemia treatment with potentially fewer side effects.

Keywords: Antihypercholesterolemia, *Caesalpinia sappan* L., HMG-CoA Reductase, Sappan Wood

Studi In Silico Flavonoid *Caesalpinia sappan* L. terhadap HMG-CoA reduktase sebagai Antihiperkolesterolemia

Abstrak

Hiperkolesterolemia adalah kondisi fatal yang ditandai dengan kadar kolesterol darah yang meningkat di atas 240 mg/dL, berkontribusi pada lebih dari 18,5 juta kematian sejak 2019. Pengobatan dengan simvastatin yang banyak digunakan untuk menurunkan kolesterol, bekerja dengan menghambat enzim HMG-CoA reduktase. Meskipun terbukti efektif, obat berbasis statin dapat menyebabkan efek samping seperti hepatotoksitas, malaise, rhabdomyolisis, dan miopati. Salah satu alternatif terapi berbasis bahan alami tersebut adalah menggunakan kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.), yang dikenal dengan sifat antihiperkolesterolemia karena kandungan utamanya, sappanone B, brazilin, dan hematoxylin. Studi ini bertujuan untuk memprediksi potensi aktivitas flavonoid dalam kayu secang sebagai penghambat HMG-CoA reduktase menggunakan metode penambatan molekuler. Hasilnya menunjukkan bahwa sappanone B memiliki energi pengikatan terendah yaitu sebesar -7,71 kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 2,22 μ M. Selanjutnya, brazilin menunjukkan energi pengikatan -7,34 kkal/mol dan konstanta inhibisi sebesar 4,17 μ M. Sedangkan, hematoxylin menunjukkan energi pengikatan -7,00 kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 7,45 μ M. Temuan ini menunjukkan bahwa sappanone B, hematoxylin, dan brazilin dari kayu secang berpotensi menjadi penghambat kompetitif di situs aktif HMG-CoA reduktase, menawarkan alternatif berbasis yang menjanjikan untuk pengobatan hiperkolesterolemia dengan efek samping yang minimal.

Kata Kunci: Antihiperkolesterolemia, *Caesalpinia sappan* L., HMG-CoA Reduktase, Kayu Secang

1. Pendahuluan

Kolesterol adalah komponen pembentuk lemak, termasuk zat trigliserida, fosfolipid, dan asam lemak bebas. Lemak memberikan kalori paling tinggi bagi tubuh.¹ Hiperkolesterolemia merupakan kondisi meningkatnya kadar lemak darah, ditandai dengan kadar kolesterol di atas 240 mg/dl. Normalnya, sebagian kolesterol akan digunakan untuk membentuk garam empedu dan hormon steroid. Proses ini dapat terganggu apabila jumlah kolesterol melebihi batas normal.²

Prevalensi hiperkolesterolemia di dunia terjadi sekitar 45% di dunia dan 35% di Indonesia. Hiperkolesterolemia merupakan masalah kesehatan dunia karena mengarah kepada peningkatan risiko penyakit kardiovaskular.³ Salah satu obat antihiperkolesterolemia bekerja dengan menghambat sintesis kolesterol pada tahap konversi HMG-CoA menjadi mevalonat. Telah tersedia obat golongan statin untuk menangani hiperkolesterolemia. Namun, penggunaannya dapat menimbulkan efek samping hepatotoksik, *rhabdomyolysis*, ataupun miopati. Maka dari itu, studi dilakukan untuk menemukan senyawa aktif pada tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan dengan efek samping yang lebih aman.^{1,4}

Telah terdapat beberapa penelitian sebelumnya tentang senyawa-senyawa fitokimia dalam berbagai tanaman seperti buah *Withania coagulans*, *Zea mays* L., khususnya jagung ungu, dan herbal *Angelica keskei* yang ditemukan berpotensi sebagai inhibitor HMG-CoA reductase secara *in silico*.^{5,6,7} Namun, berbagai tanaman tersebut masih jarang ditemukan di Indonesia.

Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) telah menjadi subjek penelitian yang menarik karena aktivitas farmakologinya yang beragam.⁸ Secang merupakan tanaman obat yang dapat ditemui di daerah Asia tropis dan digunakan sebagai obat tradisional dan pewarna kain sejak lama.⁹ Kayu secang mengandung berbagai senyawa flavonoid, antara lain brazilin, brazilein, sappanchalcone, dan protosappanin A

yang telah terbukti memiliki efek seperti antioksidan, antiinflamasi, antidiabetes, antiobesitas, dan sindrom nefrotik.^{10,11} Selain itu, studi terbaru menunjukkan bahwa senyawa dalam kayu secang secara *in silico* berpotensi dalam pengobatan depigmentasi dan SARS-CoV-2.^{12,13}

Berdasarkan penelitian Kurniawan dan Tukiran,⁸ senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kayu secang memiliki aktivitas sebagai agen antihiperkolesterolemia secara *in vivo* dengan pengamatan plak pada histopatologi aorta tikus. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa aorta tikus yang diberi ekstrak etil asetat kayu secang memiliki jumlah plak yang lebih sedikit dibandingkan tikus model diet tinggi lemak. Oleh karena itu, senyawa flavonoid dalam kayu secang berpotensi untuk dikembangkan menjadi obat antihiperkolesterolemia.

Perkembangan teknologi menghasilkan suatu metode untuk mempercepat studi kandidat senyawa obat. Studi *in silico* ialah studi komputasi untuk mengkaji interaksi senyawa kandidat dengan target reseptor dengan memanfaatkan database yang tersedia di internet.¹⁴ Hingga saat ini, belum terdapat penelitian mengenai uji *in silico* senyawa ekstrak kayu secang terhadap HMG-CoA reduktase sebagai agen antihiperkolesterolemia. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji interaksi dan afinitas 10 senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu secang, yaitu brazilin, brazilein, hematoxylin, 3'-O-metilbrazilin, butein, protosappanin A, sappanchalcone, lyoniresinol, sappanone A, dan sappanone B, terhadap reseptor HMG-CoA reductase, untuk mengetahui potensi senyawa-senyawa tersebut sebagai agen anti hiperkolesterolemia.

2. Metode

2.1. Alat

Studi ini dilakukan dengan laptop yang dilengkapi prosesor AMD Ryzen 7 5700U Radeon Graphics, 8 core(s), 16 logical processor(s), dan RAM 8 GB.

2.2. Software

LigandScout 4.4.5, ChemDraw

20.1.1 dan Chem3D 20.1.1 digunakan untuk membuat struktur ligan 2D dan 3D. AutoDock Tools 1.5.7 dan AutoDock 4.2.6 dipakai untuk penambatan molekul. BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* V21.1.0.20298 digunakan untuk memvisualisasikan struktur 3D dan interaksi antara reseptor dan ligan.

2.3. Prosedur

2.3.1. Preparasi Senyawa Uji dan Prediksi *Lipinski Rule of Five*

Senyawa-senyawa aktif dari kayu secang ditemukan dari pustaka-pustaka primer hasil jurnal penelitian. Setelah itu, senyawa-senyawa tersebut dicari melalui laman <https://pubchem.ncbi.nih.gov/>, kemudian disimpan bentuk sdf. (Tabel 1). Kemudian, Lipinski Rule of Five dilakukan dengan menyalin data sdf setiap senyawa ke dalam website <https://mccule.com/apps/property-calculator/>.

2.3.2. Prediksi ADME-Tox

Prediksi ADME-Tox dilakukan dengan menggunakan website PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/adme/>). Setelah masuk pada laman tersebut, dipilih bagian *ADMET Prediction*. Data sdf setiap senyawa uji disalin dan dioperasikan fungsi ADME dan Tox.

2.3.3. Penapisan Farmakofor

Hal pertama yang dilakukan adalah disiapkan database *active/decoy* dengan cara *active/decoy* reseptor HMG-CoA reduktase diunduh melalui laman *web* <https://dude.docking.org/> dengan ID 3CCW.

docking.org/targets dengan ID 3CCW.

Kemudian, dilakukan pembuatan 10 model farmakofor dan validasi terhadap farmakofor. Pada *screening perspective*, dimasukan *database active* dan *decoy* dengan menekan *load screening database*. Proses skrining dilakukan dengan diklik tombol *perform screening*. Plot kurva ROC (*receiver operating characteristic*) dilihat dengan menekan tombol *plot* dan disimpan semua gambar kurva ROC untuk kesepuluh model, lalu dipilih ROC yang terbaik. Model farmakofor tervalidasi apabila memiliki nilai AUC (*area under curve*) lebih dari 0,515

Penapisan farmakofor dikerjakan dengan cara senyawa uji dipilih pada fitur *screening perspective*. Setelah itu, dipindahkan model farmakofor terbaik ke *screening perspective* dan diklik *perform screening* pada *ligand-based perspective*. Senyawa yang *hit* akan muncul setelah proses selesai dengan skor kecocokannya pada farmakofor (*fitscore*).

2.3.4. Preparasi Ligan Alami dan Reseptor

Hal pertama yang dilakukan adalah mengunduh reseptor 1HW9 pada situs www.rcsb.org, lalu diinput pada *software* BIOVIA *Discovery Studio* untuk pemisahan ligan dan reseptor, serta disimpan dalam format .pdb. Reseptor HMG-CoA reduktase berbentuk tetramer yang tersusun oleh 4 subunit monomer. Rantai monomer A, B membentuk dimer yang identik dengan dimer rantai C, D. Studi ini dilakukan dengan menggunakan

Tabel 1. Hasil Prediksi Lipinski *Rule of Five*

No.	Nama Senyawa	Pubchem ID	Berat Molekul ($\leq 500\text{Da}$)	Log P	Ikatan Hidrogen		Keterangan
					Donor (≤ 5)	Akseptor (≤ 10)	
1.	Hematoxylin	442514	302,28	1,30	5	6	Memenuhi syarat
2.	Sappanone B	13888976	302,28	1,35	4	6	Memenuhi syarat
3.	Sappanchalcone	5319493	286,28	2,71	3	5	Memenuhi syarat
4.	Brazilein	6453902	254,26	1,19	3	5	Memenuhi syarat
5.	Brazilin	73384	286,28	1,61	4	5	Memenuhi syarat
6.	3'-O-metilbrazilin	13846641	300,30	1,92	3	5	Memenuhi syarat
7.	Lyoniresinol	317840	420,45	2,04	4	8	Memenuhi syarat
8.	Butein	5281222	272,25	2,41	4	5	Memenuhi syarat
9.	Sapponone A	9817274	284,26	2,46	3	5	Memenuhi syarat
10.	Protosappanin A	128001	272,26	1,97	3	5	Memenuhi syarat

bentuk dimer HMG-CoA reduktase yang merupakan bentuk natural HMG-CoA.¹⁶ Reseptor, ligan natif (simvastatin), dan ligan senyawa uji dipreparasi pada *software* AutoDock Tools dengan penambahan hidrogen dan muatan Kollman pada reseptor. Pada ligan natif dan senyawa uji, ditambahkan senyawa hidrogen, muatan Gasteiger, dan torsi. Hasil preparasi tersebut disimpan dalam format .pdbqt.

2.3.5. Validasi Penambatan Molekular

Tahapan ini dilakukan dengan membuka *file* ligan dan reseptor pada *software* AutoDock Tools dan AutoDock4.2.6, dibuat parameter *grid* dan parameter *docking*, lalu disimpan dengan format (.dpf). Nilai RMSD harus diperhatikan, yaitu nilai yang diterima adalah tidak lebih dari 2 Å.¹⁷

2.3.6. Penambatan Molekular

Visualisasi 2D dan 3D dilakukan dengan AutoDock Tools dan BIOVIA Discovery Studio Visualizer. Hasil visualisasi kemudian disimpan dalam format JPG.

3. Hasil

3.1. Prediksi Lipinski Rule of Five

Prediksi Lipinski Rule of Five dilakukan untuk mengukur kemampuan permeabilitas senyawa berdifusi pasif dan menjadi acuan dalam rute pemberian obat oral. Hasil analisis tertera pada Tabel 1.

Senyawa dikatakan memenuhi prediksi Lipinski Rule of Five apabila tidak melanggar

lebih dari 1 persyaratan.¹⁸ Berdasarkan hasil yang tertera pada Tabel 1 kesepuluh senyawa memenuhi syarat, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat diberikan dengan rute oral.

3.2. Prediksi ADME-Tox

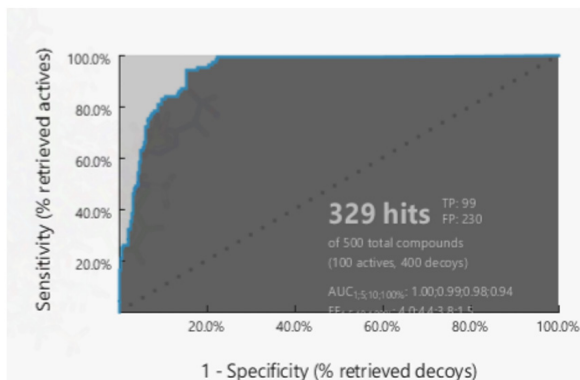
Prediksi ADME-Tox dilakukan untuk menganalisis sifat farmakokinetika dari kandidat senyawa obat, meliputi absorpsi, distribusi, dan toksisitas (mutagen dan karsinogen).¹⁹ Ketiga kriteria tersebut memengaruhi tingkat kinetika paparan obat ke jaringan dan pengikatan untuk sampai di reseptor untuk menimbulkan efek yang diinginkan.¹⁹ Berdasarkan data, senyawa terbaik hasil prediksi ADME-Tox adalah hematoxylin, sappanone B, dan brazilin (Tabel 2).

3.3. Validasi dan Penapisan Farmakofor

Hasil validasi model farmakofor menunjukkan model farmakofor memiliki nilai AUC 0,94 sehingga model tersebut dapat digunakan pada penapisan farmakofor senyawa uji, seperti yang tercantum pada Gambar 1. Model farmakofor dengan nilai AUC (*area under curve*) lebih dari 0,90 menunjukkan keakuratan yang sangat baik. Nilai AUC < 0,80, meskipun secara statistik signifikan, menunjukkan keakuratan yang buruk atau kegunaan uji klinis yang sangat terbatas.¹⁵ Hasil *fitscore* setelah dilakukan penapisan farmakofor pada senyawa uji seperti yang tertera pada Tabel 3.

Tabel 2. Hasil Prediksi ADME-Tox

No.	Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksitas		
		HIA	CaCO ₂	PPB	Log BBB	Mutagen	Karsinogen	
		(%)	(nm/sec)	(%)			Mouse	Rat
1.	Hematoxylin	69,07	9,00	92,07	0,35	non mutagen	-	-
2.	Sappanone B	79,09	20,24	79,35	0,24	non mutagen	-	-
3.	Sappanchalcone	88,52	18,51	94,39	0,34	mutagen	-	+
4.	Brazilein	88,26	0,52	65,73	0,07	mutagen	-	-
5.	Brazilin	81,61	0,50	93,30	0,66	non mutagen	-	-
6.	3'-O-metil brazilin	88,76	2,39	86,27	0,38	non mutagen	-	-
7.	Lyoniresinol	83,87	21,17	76,09	0,07	mutagen	-	-
8.	Butein	80,60	18,10	99,72	0,43	mutagen	-	+
9.	Sapponone A	88,05	20,72	92,51	0,49	mutagen	-	-
10.	Protosappanin A	87,31	20,70	82,57	0,58	mutagen	-	-



Gambar 1. Plot ROC Model Farmakofofor

Tabel 3. Hasil Fitscore Penapisan Farmakofofor

Senyawa	fitscore
Simvastatin	46,34
Brazilin	38,97
Hematoxylin	38,77
Protosappanin A	38,47
Lyoniresinol	38,41
Sappanone B	38,35
Sappanchalcone	37,67
Butein	37,37
Sappanone A	37,31
Brazilein	36,90

3.4. Validasi Penambatan Molekular

Validasi menunjukkan hasil RMSD dari bentuk dimer HMG-CoA reduktase, subunit rantai C dan D, memiliki nilai 1,005 Å. Hasil ini menunjukkan metode penambatan molekular telah memenuhi kriteria validasi.

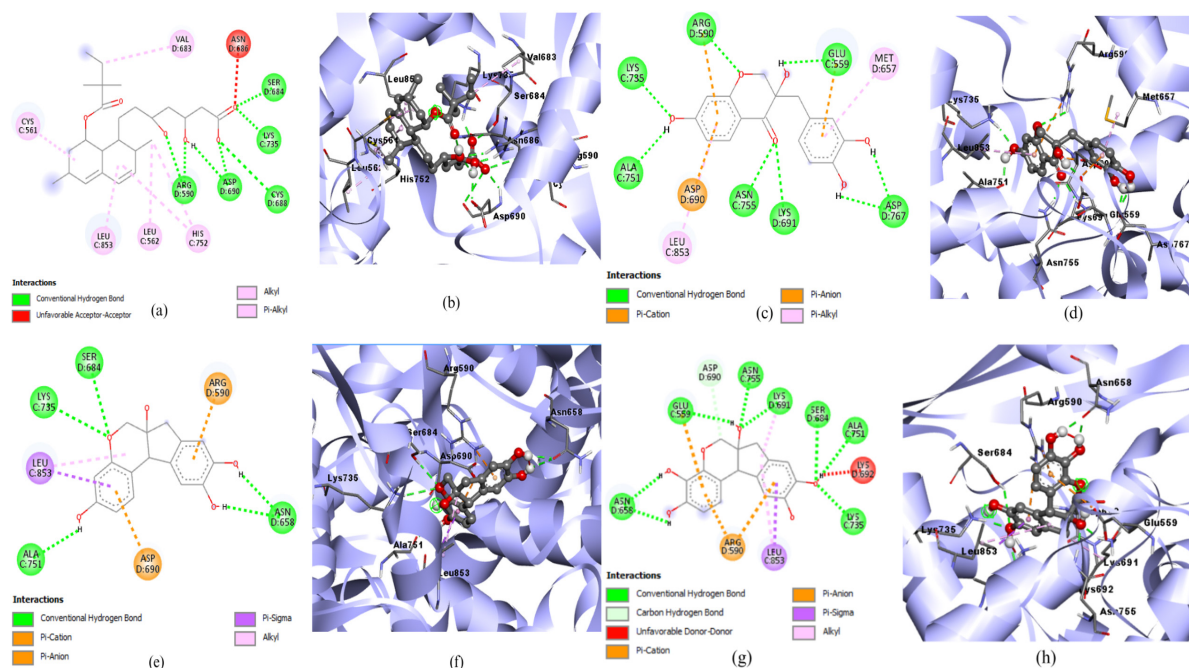
3.5. Penambatan Molekular

Hasil penambatan molekular tertera pada Tabel 4. Energi ikatan dan konstanta inhibisi simvastatin dan senyawa uji diperoleh melalui analisis dengan Autodock.

Tabel 4. Hasil Luaran Simulasi Penambatan Molekular

No.	Senyawa	Binding Energy (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan Residu Asam Amino		
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Van Der Waals	Lain - Lain
1.	Simvastatin	-9,86	0,06	Arg590 Asp690 Cys688 Lys735 Ser684	-	Pi-Alkyl (Val683, Cys561, Leu853, Leu562, His752)
2.	Sappanone B	-7,71	2,22	Arg590 lys735 Ala751 Asn755 Lys691 Asp767 Glu559	-	Pi-Anion (Asp690) Pi-Alkyl (Met657, Leu853)
3.	Brazilin	-7,34	4,17	Lys735 Ala751 Asn658 Ser684	-	Pi-Sigma (Leu853) Pi-Anion (Asp690) Pi-Cation (Arg590)
4.	Hematoxylin	-7,00	7,45	Asp690 Glu559 Asn658 Lys735 Ala751 Ser684 Lys691 Asn755	-	Pi-Cation (Arg590) Pi-Sigma (Leu853)

No.	Senyawa	Binding Energy (kcal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan Residu Asam Amino		
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Van Der Waals	Lain - Lain
5.	Butein	-6,90	8,81	Ser565 Asn755 Lys691 Asp690 Arg590	-	Pi-Anion (Glu559) Pi-Sulfur (Cys561) Pi-Alkyl (Ala856, Leu853)
6.	Brazilein	-6,76	11,11	Lys692 Ser684 lys735 Arg590 Ser661 Asn658 Lys691 Asn755	-	Pi-Anion (Asp690) Pi-Alkyl (Leu853)
7.	Lyoniresinol	-6,73	11,64	Arg590 Asp690 Asn755 Lys691 Ser565 Glu559 Leu853 Gly560	-	Pi-Alkyl (Leu857, Cys561, Ala856, Met657)
8.	3'-O-metilbrazilin	-6,66	13,21	Ala751 Lys735 Ser684 Asn658	-	Pi-Anion (Asp690) Pi-Cation (Arg590)
9.	Sappanchalcone	-6,61	14,26	Lys735 Arg590 Lys691 Asp690	-	Pi-Pi Stacked (His752) Pi - Alkyl (Met657, Leu853)
10.	Sapponone A	-6,37	21,46	Asp690 Lys692 Ser661 Glu665	-	Pi - Sigma (Val683) Pi - Alkyl (Leu853) Pi - Cation (Arg590)
11.	Protosappanin A	-6,10	33,87	Ala751 Ser684 Arg590 Ser661 Asn658	-	Pi - Alkyl (Lys691, Met657) Pi - Anion (Asp690)



Gambar 2. Visualisasi Penambatan Molekular: a) Diagram 2D simvastatin pada situs aktif HMG-CoA reduktase; b) Gambar 3D simvastatin pada situs aktif HMG-CoA reduktase; c) Diagram 2D sappanone B pada situs aktif HMG-CoA reduktase; d) Gambar 3D sappanone B pada situs aktif HMG-CoA reduktase; e) Diagram 2D brazilin pada situs aktif HMG-CoA reduktase; f) Gambar 3D brazilin pada situs aktif HMG-CoA reduktase; g) Diagram 2D Hematoxylin; h) Gambar 3D hematoxylin pada situs aktif HMG-CoA reduktase

Nilai konstanta inhibisi dihitung dengan menggunakan persamaan $\Delta G = RT \ln K_i$ (ΔG = Energi bebas Gibbs (kkal/mol)), $R = 1,986 \times 10^{-3}$ kkal/mol.K, $T = 298,15$ K). Konstanta inhibisi berbanding lurus dengan energi ikatan.

3.6. Hasil Visualisasi Penambatan Molekular

Simvastatin dan senyawa uji berinteraksi dengan residu asam amino reseptor yang kemudian membentuk interaksi asam amino. BIOVIA *Discovery Studio Visualizer* digunakan untuk memvisualisasi ikatan pada residu asam amino reseptor. Hasil visualisasi simvastatin dan senyawa uji tertera pada Tabel 4. diagram 2D dan gambar 3D masing-masing senyawa pada HMG-CoA reduktase tercantum pada Gambar 2.

4. Pembahasan

HMG-CoA reduktase inhibitor telah umum digunakan dalam menangani hiperkolesterolemia, tetapi efek samping seperti mialgia hingga rhabdomyolysis membatasi durasi konsumsi.⁴ Senyawa

fitokimia yang ideal sebagai senyawa obat mengikuti aturan *Lipinski Rule of Five*. Persyaratan *Lipinski Rule of Five* adalah senyawa memiliki berat molekul ≤ 500 Da, memiliki ≤ 5 donor ikatan hidrogen, memiliki ≤ 10 akseptor ikatan hidrogen dan nilai koefisien partisi ($\log P$) ≤ 5.20 . Kesepuluh senyawa memenuhi syarat, dengan tidak melanggar lebih dari 1 aturan, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat diberikan dengan rute oral.

Profil farmakokinetika, seperti absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi, termasuk toksisitas obat, merupakan data poten dalam menentukan karakteristik senyawa dalam tubuh. Parameter absorpsi menunjukkan *human intestinal absorption* (HIA). Parameter prediksi HIA terabsorpsi baik pada 70-100%.²¹ Parameter distribusi dilihat dari persentase *plasma protein binding* (PPB) dan $\log$ blood brain barrier (BBB). Parameter PPB menunjukkan persentase obat dalam aliran darah dan protein plasma, nilai PPB yang baik adalah lebih dari 90%,²¹ Adapun parameter BBB menunjukkan senyawa mampu menembus

BBB jika memiliki $\log BBB > 0,3$ dan tidak dapat didistribusikan dengan baik jika memiliki $\log BBB < -1.21$. Pada analisis parameter toksisitas, diprediksi bagaimana potensi senyawa dalam menyebabkan mutasi (mutagen) dan kanker (karsinogen).²¹ Senyawa dengan profil farmakokinetika ideal hematoxylin, sappanone B, brazilin, dan 3'-O-metil brazilin.

Pharmacophore modelling memprediksi kompatibilitas senyawa dengan target berdasarkan sekumpulan grup dalam struktur senyawa tersebut.⁷ Sembilan senyawa memiliki *fitscore*, dengan nilai tertinggi 38,97 hingga nilai terendah 36,90 seperti yang ditunjukkan pada Tabel 4. Nilai tertinggi dihasilkan oleh brazilin, tetapi nilai tersebut tidak lebih besar dari *fitscore* simvastatin sebesar 46,34.

Penambatan molekuler mendeterminasi kemungkinan interaksi antara senyawa dan target enzim sehingga ditemukan afinitas relatif antara senyawa dan enzim target.²² Interaksi (polar, pembentukan ikatan hidrogen, dan jembatan garam) antara HMG-CoA reduktase dengan substrat, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA, terjadi pada bagian cis-loop enzim. Residu asam amino Ser684, Asp690, Lys691, dan Lys692 berinteraksi secara polar. Lys691, Glu559, dan Asp767 berinteraksi dengan membentuk rangkaian ikatan hidrogen. Pembentukan jembatan garam terjadi pada residu asam amino Lys735. Selain itu, Itsvan juga menyatakan bahwa sisi hidrofobik molekul dapat membentuk ikatan Van der Waals dengan residu asam amino Leu562, Val683, Leu853, Ala856, dan Leu857, baik dari statin maupun senyawa kandidat.¹⁶ Tahapan ini memerlukan validasi terlebih dahulu. Titik kritis pada validasi penambatan molekuler adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Nilai RMSD sebesar 1,005 Å (<2 Å) menunjukkan kemiripan antara ligan *redocking* dan ligan aslinya sehingga metode penambatan molekuler dapat digunakan pada senyawa standar dan senyawa uji.¹⁷

Dalam mekanismenya, simvastatin ($\Delta G = -9,86$ kkal/mol; $K_i = 0,06$ μM) berkompetisi dengan substrat pada sisi yang sama, yaitu

dengan membentuk ikatan hidrogen pada Ser684, Asp690, dan Lys735; membentuk ikatan pi-alkyl pada Leu562, Val683, dan Leu853. Senyawa uji terbaik pertama, sappanone B ($\Delta G = -7,71$ kkal/mol; $K_i = 2,22$ μM), pada residu asam amino yang sama dengan simvastatin, membentuk ikatan pi-anion pada Asp690 dan pi-alkyl pada Leu853. Selain itu, sappanone B juga membentuk ikatan hidrogen dengan Glu559, Lys691, dan Lys735. Brazilin ($\Delta G = -7,34$ kkal/mol; $K_i = 4,17$ μM) membentuk lebih sedikit ikatan hidrogen dibandingkan sappanone B, diantaranya Ser684 dan Lys735. Selain itu, terdapat ikatan pi-anion pada Asp690, pi-cation pada Arg590 (interaksi pada statin tipe 2).¹⁶ dan pi-sigma pada Leu853. Hematoxylin ($\Delta G = -7,00$ kkal/mol; $K_i = 7,45$ μM), seperti simvastatin dan brazilin, memiliki ikatan hidrogen pada Ser684, Asp690, dan Lys735. Terdapat ikatan pi-sigma pada Leu853, dan berbeda dari simvastatin, hematoxylin membentuk ikatan pi-cation pada Arg590. Walaupun energi ikatan hematoxylin tidak sebaik brazilin, hematoxylin memiliki lebih banyak ikatan pada residu asam amino sisi aktif enzim daripada brazilin. Berdasarkan hal tersebut dapat dideterminasi bahwa senyawa sappanone B, brazilin, dan hematoxylin akan berinteraksi pada sisi aktif HMG-CoA reduktase.

5. Kesimpulan

Berdasarkan studi dan analisis *in silico* yang telah dilakukan melalui uji prediksi Lipinski *Rule of Five*, ADME-Tox, penapisan farmakofor, dan penambatan molekuler terhadap 10 senyawa flavonoid kayu secang, diketahui bahwa secara molekuler, senyawa sappanone B, brazilin, dan hematoxylin berpotensi dan dapat dimodifikasi untuk menjadi kandidat obat antihiperkolesterolemia dengan mekanisme inhibitor kompetitif, berdasarkan interaksinya dengan residu asam amino, pada HMG-CoA reduktase dengan nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi yang paling mendekati senyawa standar simvastatin. Studi lebih lanjut dapat dilakukan dengan menganalisis interaksi senyawa sappanone B, brazilin, dan hematoxylin terhadap reseptor

HMG-CoA reduktase dengan simulasi dinamika molekuler. Uji *in vitro* juga perlu dilakukan untuk mengetahui aktivitas inhibisi (IC_{50}) senyawa-senyawa tersebut terhadap HMG-CoA reduktase

Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Prof. apt. Muchtaridi, Ph.D dan Laboratorium Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran yang telah memfasilitasi perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

1. Anies PD. Kolesterol dan Penyakit Jantung Koroner. Yogyakarta: Ar-ruzz Media; 2015.
2. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*, 63(25 Pt B), 2889–934.
3. Nudhar L, Oswari L. Mean Differences of Total Cholesterol Levels Among Vegetarians and Nonvegetarians at Maha Vihara Maitreya Duta Palembang. *Folia Medica Indonesiana*. 2020; 56(3): 197-202.
4. MachF, BaigentC, CatapanoAL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. ESC/ EAS Guidelines For The Management Of Dyslipidaemias: Lipid Modification To Reduce Cardiovascular Risk. The Task Force For The Management Of Dyslipidaemias Of The European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*. 2020; 41: 111-88
5. Lateef T, Naeem S, Qureshi SA. In-silico Studies of HMG-Co A Reductase Inhibitors Present in Fruits of *Withania coagulans* Dunal (Solanaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2020; 19(2): 305-12.
6. Alexsandra H, July L, Carmen S, Antonio SW, Cesar G, Victor VT. In-silico Analysis of the Polyphenolic Metabolites of *Zea mays* L. "Purple Corn" on HMG-CoA Reductase. *Pharmacognosy Journal*. 2022; 14(3): 549-58.
7. Aulifa DL, Amirah SR, Rahayu D, Megantara S, and Muchtaridi M. Pharmacophore Modeling and Binding Affinity of Secondary Metabolites from *Angelica keiskei* to HMG Co-A Reductase. *Molecules*. 2024;29(13): 2983.
8. Kurniawan and Tukiran DA. Aktivitas Antihiperkolesterolemia Dari Secang (*Caesalpinia sappan* L.). *UNESA Journal of Chemistry*. 2021;10(2): 158-67.
9. Dapson R and Bain C. Brazilwood, sappanwood, brazilin and the red dye brazilein: from textile dyeing and folk medicine to biological staining and musical instruments. *Biotechnic & Histochemistry*. 2015;90(6): 401-23
10. Vij T, Anil PP, Shams R, Dash KK, Kalsi R, Pandey VK, et al. A Comprehensive Review on Bioactive Compounds Found in *Caesalpinia sappan*. *Molecules*. 2023; 28(17): 6247.
11. Tulin EK, Loreto MT, Tulin EE. Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity and Fractionation of Bioactive Compounds from bark Extracts of *Sibucão* (*Caesalpinia sappan* L.) In the Philippines. *Pharmacognosy Journal*. 2017;9(3): 356-60.
12. Laksmiani NPL and Nugraha IPW. Depigmentation Activity of Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Extract Through Tyrosinase, Tyrosinase Related Protein-1 and Dopachrome Tautomerase Inhibition. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2019;12(2).
13. Krihariyani D, Haryanto E, and Sasongkowati R. In Silico Analysis of Antiviral Activity and Pharmacokinetic Prediction of Brazilein Sappan Wood (*Caesalpinia sappan* L.) Against SARS-CoV-2 Spike Glycoproteins. *Indonesian Journal of Medical Laboratory Science and Technology*. 2021;3(1): 26–37.

14. Zhang X, Wu F, Yang N, Zhan X, Mai S, Liao J, et al. In silico Methods for Identification of Potential Therapeutic Targets. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*. 2022;14: 285-310.
15. Çorbacıoğlu SK and Aksel G. Receiver operating characteristic curve analysis in diagnostic accuracy studies: A guide to interpreting the area under the curve value. *Turkish Journal of Emergency Medicine*. 2023;23(4): 195-8.
16. Istvan ES and Deisenhofer J. Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase. *Science*. 2001;292(5519): 1160-4.
17. Morris GM, Ruth H, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, Olson AJ. 2009. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem*. 2009;30(16): 2785–2791.
18. Young R. Today's drug discovery and the shadow of the rule of 5. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2023;18(9): 965-972.
19. Lucas A, Sproston J, Barton P, and Riley R. Estimating Human ADME Properties, Pharmacokinetic Parameters and Likely Clinical Dose in Drug Discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019;14(12): 1313-1327.
20. Lipinski CA. Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-Of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*. 2004;1(4): 337-41.
21. Taft, CA. dan da Silva, CHTDP. *New Development in Medicinal Chemistry*. United Kingdom: Bentham Science Publishers; 2014.
22. Slater O and Kontoyianni M. The compromise of virtual screening and its impact on drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2019;14(7): 619-637.