

EKSTRAK METANOL KULIT BUAH MATOA (*Pometia pinnata*) SEBAGAI KANDIDAT ANTIINFLAMASI UNTUK OSTEOARTRITIS: ANALISIS *MOLECULAR DOCKING* TERHADAP TLR-2 DAN TLR-4

Sayidati Nabilah¹, Denis Mery Mirza¹, Andri Tilaqza¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit degeneratif sendi kronis yang ditandai dengan kerusakan tulang rawan dan inflamasi, yang berprevalensi tinggi di Indonesia. Aktivasi *Toll-Like Receptor* (TLR)-2 dan TLR-4 diketahui memicu respons inflamasi pada jaringan sendi penderita OA. Tanaman matoa (*Pometia pinnata*) secara empiris digunakan untuk mengatasi inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi antiinflamasi dari senyawa aktif buah matoa pada TLR-2 dan TLR-4 secara *molecular docking*.

Metode: 35 senyawa dipilih dari 217 senyawa hasil *metabolite profiling* LC-HRMS. Senyawa terpilih ditambatkan terhadap protein TLR-2 (PDB ID: 3A7C) dan TLR-4 (PDB ID: 2Z65) menggunakan YASARA, kemudian divisualisasikan menggunakan BIOVIA Discovery Studio.

Hasil dan Pembahasan: 35 senyawa terpilih dipelajari penambatannya dengan TLR-2 dan TLR-4. *Navenone A* menunjukkan *binding energy* tertinggi terhadap TLR-2 (9.898 kcal/mol; Kd: 0.055 μ M), sedangkan *Navenone A* terhadap TLR-4 (9.812 kcal/mol; Kd: 64225.668 μ M). Kesamaan residu asam amino interaksi dengan *native ligand* pada TLR-2 adalah 66.6% (*sitostenone*), 33.3% (*navenone A*) dan 22.2% (*curcumene*). Sedangkan TLR-4, nilai kesamaan residu tertinggi dimiliki *sitostenone* (47.2%), *curcumene* (41.6%) dan *navenone A* (27.7%). Nilai rata-rata RMSD TLR-2 dan TLR-4 berturut-turut sebesar 10.707 Å dan 7.112 Å, menunjukkan prediksi interaksi yang tidak valid.

Simpulan: Senyawa hasil *metabolite profiling* dari ekstrak kulit buah matoa menunjukkan potensi sebagai kandidat antiinflamasi dengan kemampuan berinteraksi terhadap TLR-2 dan TLR-4. Meskipun nilai RMSD melebihi batas ideal, nilai *binding energy* tinggi dan kesamaan residu dengan ligan nativ mendukung potensi senyawa sebagai inhibitor jalur inflamasi, sehingga diperlukan validasi lebih lanjut melalui studi lanjutan.

Kata Kunci: Antiinflamasi, Matoa, TLR-2, TLR-4

*Korespondensi: Andri Tilaqza (andri.tilaqza@unisma.ac.id)

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang, Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

METHANOLIC EXTRACT OF MATOA (*Pometia pinnata*) PEELS AS ANTIINFLAMMATORY CANDIDATE OF OSTEOARTRITIS: MOLECULAR DOCKING ANALYSIS ON TLR-2 AND TLR-4

Sayidati Nabilah¹, Denis Mery Mirza¹, Andri Tilaqza¹

¹ Department of Pharmacy, Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Osteoarthritis (OA) is a chronic degenerative joint disease characterised by cartilage destruction and inflammation, with a high prevalence in Indonesia. Activation of *Toll-Like Receptor* (TLR)-2 and TLR-4 trigger an inflammatory response in joint tissues with OA. The matoa plant (*Pometia pinnata*) is empirically used to treat inflammation. This study evaluate the anti-inflammatory potential of matoa fruit peel active compounds on TLR-2 and TLR-4 by *molecular docking*.

Methods: 35 compounds were selected from 217 compounds from LC-HRMS *metabolite profiling* results. The compounds were docked to TLR-2 (PDB ID: 3A7C) and TLR-4 (PDB ID: 2Z65) proteins using YASARA, then visualised using BIOVIA Discovery Studio.

Results and Discussion: 35 selected compounds were studied for their binding with TLR-2 and TLR-4. *Navenone A* showed the highest binding energy to TLR-2 (9.898 kcal/mol; Kd: 0.055 μ M), while *Navenone A* to TLR-4 (9.812 kcal/mol; Kd: 64225.668 μ M). The amino acid residue similarity of the interaction with *native ligand* on TLR-2 was 66.6% (*sitostenone*), 33.3% (*navenone A*) and 22.2% (*curcumene*). While TLR-4, the highest residue similarity values belonged to *sitostenone* (47.2%), *curcumene* (41.6%) and *navenone A* (27.7%). The mean RMSD values of TLR-2 and TLR-4 were 10.707 Å and 7.112 Å respectively, indicating invalid interaction predictions.

Conclusion: *Metabolite profiling* of matoa fruit peel extracts showed potential as anti-inflammatory candidates with the ability to interact with TLR-2 and TLR-4. Although the RMSD value exceeds the ideal limit, the high binding energy value and residue similarity with the *native ligand* support the compound's potential as an inhibitor of the inflammatory pathway, so further validation through further studies is needed.

Keywords: Anti-inflammatory, Matoa, TLR-2, TLR-4

*Correspondence: Andri Tilaqza (andri.tilaqza@unisma.ac.id)

Faculty of Medicine, University of Islam Malang, Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit degeneratif pada sendi yang bersifat kronik serta merupakan penyebab paling umum dalam inflamasi dan penurunan fungsi sendi pada orang dewasa. Faktor penyebab yang mempengaruhi perkembangan OA seperti cedera sendi, obesitas, kecenderungan genetik, serta bentuk dan keselarasan sendi yang abnormal. Selain itu, usia merupakan faktor utama dalam perkembangan OA. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia tahun 2019, prevalensi OA di Indonesia sekitar 24,7% (25,9 juta jiwa). Sedangkan menurut Riset Kesehatan Dasar, terdapat 65% penderita OA yang berusia >61 tahun, 30% pada usia 40-60 tahun, dan 5% pada usia <40 tahun. Saat ini OA merupakan masalah kesehatan utama dikarenakan terdapat kerusakan pada sendi kartilago, penebalan tulang subkondral, pembentukan osteofit tepi sendi, inflamasi pada sendi^{1, 2, 3}.

Inflamasi yang terjadi pada sendi berhubungan dengan sistem imun bawaan menyebabkan aktivasi *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMP) yang dapat berinteraksi dengan *Particle Recognition Receptors* (PRR) seperti *Toll-Like Receptor* (TLR) yang ada pada permukaan sel imun dan *NOD-like receptors* (NLR) yang berada pada sitoplasma sel⁴. Terdapat 13 TLR yang telah diidentifikasi, diantaranya TLR-2 dan TLR-4. Dua jenis reseptor ini telah ditemukan dalam cairan sinovial yang bekerja dengan menginduksi respons katabolik pada kondrosit dan respons inflamasi pada sinoviosit yang dapat menyebabkan kerusakan sendi pada OA⁵.

Penghambat reaksi dari TLR-2 adalah PE-DTPA (*PE-Diethylenetriamine pentaacetate*) yang merupakan senyawa turunan dari fosfat dylethanolamine dan dapat mengikat kuat ke TLR-2⁶. Sedangkan pada TLR-4 dapat menggunakan eritoran yang merupakan antagonis lipid A sintesis yang menghalangi lipopolisakarida (LPS) untuk berikatan dengan reseptor MD2-TLR4 di permukaan sel⁷. Selain penggunaan senyawa sintesis sebagai inhibitor TLR, pendekatan berbasis tanaman herbal juga mulai banyak diteliti karena potensi kandungan senyawa bioaktifnya yang dapat berperan dalam modulasi sistem imun.

Tanaman herbal dapat menjadi pengobatan alternatif karena memiliki kandungan senyawa bioaktif beragam dan berpotensi interaksi beberapa senyawa. Salah satu tanaman yang secara empiris digunakan untuk mengatasi inflamasi adalah tanaman matoa (*Pometia pinnata*). Tanaman ini

berasal dari Papua Barat dan telah tersebar pada beberapa daerah di Indonesia dan secara keseluruhan bagian dari tanaman ini digunakan sebagai obat salah satunya kulit buah⁸.

Menurut penelitian sebelumnya, ekstrak etanol kulit buah matoa memiliki kandungan saponin, alkaloid dan flavonoid yang berpotensi sebagai antiinflamasi⁹. Flavonoid merupakan senyawa golongan *metabolit sekunder* yang diduga memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan bersifat polar dalam bentuk glikosida¹⁰. Pelarut metanol merupakan pelarut bersifat polar yang memiliki gugus hidroksil dan metil yang dapat menarik analit yang bersifat polar seperti flavonoid¹¹.

Studi *molecular docking* merupakan salah satu metode bioinformatika yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara reseptor dan ligan, termasuk senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak metanol kulit buah matoa¹². Metode ini memiliki beberapa keunggulan, seperti hasil prediksi yang mendekati akurat, efisiensi biaya, serta waktu penelitian yang relatif singkat¹³. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi aktivitas antiinflamasi senyawa aktif dalam ekstrak metanol kulit buah matoa terhadap reseptor TLR-2 dan TLR-4 melalui pendekatan *molecular docking*.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *one shot case study* yang dilakukan secara *in silico* menggunakan metode *molecular docking* dengan cara uji penambatan senyawa aktif dari ekstrak metanol kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) pada protein target TLR-2 (PDB ID: 3A7C) dan TLR-4 (PDB ID: 2Z56).

Bahan Penelitian

Bahan dalam penelitian ini menggunakan senyawa aktif ekstrak metanol kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) yang didapat dari hasil *metabolite profiling* menggunakan LC-HRMS sebagai ligan uji. Protein yang digunakan yakni TLR-2 (PDB ID: 3A7C) dan TLR-4 (PDB ID: 2Z65) yang masing-masing memiliki resolusi yang berbeda yaitu pada 2.40 Å (PDB ID: 3A7C) dan 2.70 Å (PDB ID: 2Z65).

Alat Penelitian

Alat yang digunakan yakni laptop dengan spesifikasi Core i3 dan 16 GB RAM, Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), serta terdapat perangkat lunak yang digunakan yakni YASARA *structure* dan BIOVIA Discovery studio.

Preparasi ligan uji

Senyawa hasil *metabolite profiling* dari analisa metode LC-HRMS terdapat 217 senyawa dan dipilih 35 senyawa pada **Tabel 1**. Pemilihan 35 senyawa ini menggunakan analisa *commonly used* senyawa serta analisa berdasarkan *taxonomy* senyawa pada situs website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kemudian diidentifikasi kode SMILES dan diunduh struktur 3D dengan format (.sdf).

Preparasi protein target

Protein target yang berasal dari TLR-2 (PDB ID: 3A7C) dan TLR-4 (PDB ID: 2Z65) diunduh dengan format file (.pdb) pada website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Kemudian dipreparasi menggunakan software YASARA *structure* untuk menghilangkan *water molecule* dan penambahan atom hidrogen. Lalu di *save* dalam format (_receptor.sce).

Preparasi ligan nativ

Ligan nativ PE-DTPA (PDB ID: 3A7C) dan ligan nativ Eritoran (PDB ID: 2Z65) diunduh dengan format file (.pdb) pada website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Kemudian dipreparasi menggunakan software YASARA *structure* untuk minimalisasi energi dan disimpan dengan format (_ligan.sdf). Penamaan file harus sesuai dengan file _receptor.sce untuk memastikan keterpaduan data.

Ligan native ini digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini untuk mengevaluasi interaksi antara senyawa ekstrak metanol kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) dengan protein TLR-2 dan TLR-4. Pada ligan *native* PE-DTPA (*Phosphatidylethanolamine-Diethylenetriaminepentaacetic acid*) terdapat dua bagian utama dari yang terdapat pada molekulnya yakni PE (*Phosphatidylethanolamine*) dan DTPA (*Diethylenetriaminepentaacetic acid*), senyawa ini merupakan turunan fosfolipid sintesis dengan struktur molekul DTPA yakni C14H23N3O10.

Sedangkan rumus molekul pada ligan *native* eritoran yakni C66H126N2O19P2.

Studi penambatan molekul

Penambatan molekul dilakukan menggunakan VINA yang terdapat pada *Play macro* YASARA *structure*. Residu katalitik pada TLR 2 dan TLR 4 digunakan untuk mengatur area penambatan. *Cube simulation cell* diatur dalam *Extend 5 Å* pada area residu lalu disimpan dalam format (_receptor.sce) di file YASARA *structure*. Selanjutnya, *play macro* yang digunakan adalah *dock_run* dengan pengaturan 25 runs dan metode VINA di YASARA *structure*. Hasil dalam penambatan ini berupa *binding energy* (kkal/mol), *dissociation constanta* (μM) dan residu asam amino.

Visualisasi

Visualisasi senyawa hasil menggunakan BIOVIA Discovery Studio untuk melihat kompleks ikatan ligan uji dan protein untuk menentukan jenis ikatan dari hasil penambatan yang lebih mendekati interaksi antara ligan nativ dan protein.

HASIL DAN ANALISA DATA

Penambatan molekul pada TLR-2 dan TLR-4 ini menggunakan software YASARA *structure* dengan menggunakan 2 ligan nativ dan 35 senyawa ligan uji terpilih yang terdapat pada **Tabel 1** dengan dilihat dari hasil penambatannya yakni berupa *binding energy* (kkal/mol), *dissociation constanta* (μM) dan residu asam amino¹⁴. Hasil penambatan molekul terdapat pada **Tabel 2** yang menunjukkan pada *binding energy* paling tinggi dan dipilih 3 senyawa terbaik dengan nilai ikatan paling tinggi yang dihasilkan. Senyawa TLR-2 (3A7C) mempunyai nilai *binding energy* paling tinggi dengan nilai *Navenone A* (9.898 kkal/mol; Kd: 0.055 μM), *Sitostenone* (7,84 kkal/mol; Kd: 1,731 μM) dan *Curcumene* (6,769 kkal/mol; Kd: 10,920 μM). Begitupula pada TLR-4 (2Z65) mempunyai ikatan paling tinggi dengan nilai senyawa *Navenone A* (9.812 kkal/mol; Kd: 64225.668 μM), *Curcumene* (7,811 kkal/mol; Kd: 1881313,125 μM) dan *Sitostenone* (7,463 kkal/mol; Kd: 3384920,5 μM). **Tabel. 2** menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai *binding energy*, maka semakin kuat interaksi ikatan senyawa dengan reseptor. Begitu pula sebaliknya, jika nilai *binding energy* semakin kecil, maka ikatan senyawa pada reseptor lemah. Sedangkan berdasarkan nilai *dissociation*

constant dimana semakin kecil hasil yang ditunjukkan menunjukkan ligan memiliki keterikatan semakin kuat dengan reseptor dan senyawa sulit terdisosiasi dari reseptor¹³.

Validasi penambatan molekul digunakan karena tahapan ini sangat penting untuk menentukan ukuran *gridbox* pada TLR-2 dan TLR-4. Validasi yang digunakan pada penelitian ini menggunakan parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD). RMSD merupakan suatu nilai yang menunjukkan hubungan penyesuaian antara ligan dengan protein selama proses penambatan¹⁵. Nilai RMSD yang dihasilkan pada penambatan ligan senyawa aktif dari ekstrak metanol kulit matoa dengan reseptor TLR-2 memiliki nilai RMSD 10.707 Å dan 7.112 Å hasil dari penambatan ligan dengan reseptor TLR-4. Syarat dari nilai RMSD < 2 Å yang berarti semakin rendah nilai yang dihasilkan, maka semakin mendekati posisi ligan yang diperkirakan lebih baik karena lebih dekat dengan konformasi asal¹⁶. Dengan demikian, hasil *docking* antara masing-masing reseptor dan ligan *native* dalam penelitian ini tidak memenuhi kriteria validitas secara struktural. Meskipun demikian, hasil *docking* terhadap ligan uji tetap dapat dimanfaatkan sebagai pendekatan awal dalam studi eksploratif.

Hasil residu asam amino pada TLR-2 dan TLR-4 memiliki jumlah dan berikatan pada asam amino yang berbeda. Pada TLR-2 dihasilkan 27 asam amino yang berinteraksi yakni Asp263 Phe266 Leu289 Gly291 Ile314 Leu317 Ile319 Phe322 Tyr323 Phe325 Tyr32 Leu328 Ile341 Val343 Ser346 Lys347 Val348 Phe349 Leu350 Val351 Pro 352 Phe355 Leu359 Leu362 Leu365 Leu367 Trp386. Sedangkan pada TLR-4 dihasilkan 36 asam amino yang terikat yakni Val24 Ile32 Ile44 Ile46 Val48 Ile52 Leu54 Leu61 Ile63 Tyr65 Leu71 Leu74 Phe76 Leu78 Ile80 Val82 Glu92 Ile94 Tyr102 Phe104 Val113 Thr115 Ile117 Phe119 Ser120 Phe121 Lys122 Gly123 Ile124 Tyr131 Cys133 Val135 Phe147 Leu149 Phe151 Ile153. Berdasarkan hasil ikatan residu asam amino antara ligan senyawa aktif dari ekstrak metanol kulit buah matoa dengan reseptor serta telah dihasilkan *%similarity* yang berbeda pada masing-masing ligan uji. Interaksi yang dihasilkan ligan uji dengan TLR-2 dihasilkan senyawa terbaik sebagai ligan yakni *sitostenone* (66.6%), *navenone A* (33.3%) dan *curcumene* (22.2%). Sedangkan TLR-4, nilai kesamaan residu tertinggi dimiliki *sitostenone* (47.2%), *curcumene* (41.6%) dan *navenone A* (27.7%).

Tabel 1. 35 Senyawa (ligan) terpilih dari 217 senyawa (ligan) berdasarkan hasil preparasi senyawa ekstrak metanol kulit buah matoa (*Pometia pinnata*)

CID	Senyawa terpilih (ligan)	CID	Senyawa terpilih (ligan)
849	Pipecolic acid	597	Cytosine
546304	Isovalerylglycine	21718552	9(Z),11(E),13(E)-Octadecatrienoic Acid methyl ester
439436	N-methylethanolamine phosphate	938	Nicotinic acid
94312	Dihydrouridine	5283011	9-Oxo-10(E),12(E)-octadecadienoic acid
7817	2,5-Diketopiperazine	6057	L-Tyrosine
6613	D-Pantothenic Acid	69421	Hexadecanamide
3016110	Zingerol	247	Betaine
92139	Curcumene	305	Choline
636822	Asarone	8181	Methyl palmitate
5018391	Sedanolid	16061072	13(S)-HOTrE
10944128	navenone A	5280934	α -Linolenic acid
5312508	Stearidonic acid	643460	Sorbic acid
8742	3,4,5-Trihydroxy-1-cyclohexenecarboxylic acid	72	Protocatechuic acid
10341	2[5H]-furanone	499	D-(+)-Pyroglutamic Acid
47346	Capsi-amide	500	4-Guanidinobutyric acid
5484202	Sitostenone	6106	Leucine
5280460	7-hydroxy-6-methoxy-2H-chromen-2-one	5699	Xanthurenic acid
963	Nicotinamide		

Tabel 2. Hasil penambatan TLR2 dan TLR 4 dengan 35 senyawa aktif dari ekstrak metanol kulit buah matoa (*Pometia pinnata*)

Ligan	TLR-2 (3A7C)				TLR-4 (2Z65)			
	<i>Binding energy</i> (kcal/mol)	<i>Dissociation constant</i> (μ M)	<i>Residu asam amino</i>	<i>%similarity</i> (%)	<i>Binding energy</i> (kcal/mol)	<i>Dissociation constant</i> (μ M)	<i>Residu asam amino</i>	<i>%similarity</i> (%)
Navenone A	9,898	0,055	ASP263	33,3	9,812	64225,668	ILE46	27,7
			PHE266				LEU61	
			ASN267				ILE63	
			LEU270				TYR65	
			TYR326				PRO67	
			LEU328				LEU71	
			THR330				LEU74	
			VAL331				PHE76	
			VAL343				CYS133	
			LEU350				VAL135	
			VAL351				ALA137	
			PRO35				LEU146	
			PHE355				PHE147	
							PHE151	
			ASP263				VAL24	
			PHE266				ILE32	
			LEU270				ILE46	
			LEU289				VAL48	
			VAL312				ILE52	
			ILE314				LEU54	
Sitostenone	7,86	1,731	LEU317	66,6	7,463	3384920,5	LEU61	47,2
			TYR326				ILE63	
			LEU328				ILE80	
			THR330				THR81	
			VAL331				VAL82	
			LEU334				PHE121	
			LEU335				ILE124	
			ILE341				TYR131	
			VAL343				LYS132	
			VAL348				CYS133	
			VAL351				VAL135	
			PRO352				PHE151	
			PHE355				ILE 153	
			LEU359					
			LEU362					
			LEU365					
			LEU367					
			TRP386					
			LEU261				ILE44	
			THR262				ILE46	
Curcumene	6,769	10,920	ASP263	22,2	7,811	1881313,125	LEU61	41,6
			PHE266				ILE63	
			ASN267				TYR65	
			PHE28				LEU71	
			CYS287				LEU74	
			LEU289				PHE76	
			ILE314				ILE94	
			LEU317				PHE104	
			TYR326				VAL113	
			VAL331				THR115	

							ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 LEU149 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 LEU61 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147	
Pipecolic acid	4,539	470,8352	ASP263 GLU264 PHE266 ASN267 LEU289 TYR326 THR330 VAL331	14,8	4,71	352796448	27,7	
Isovalerylglycine	5,141	170,45	ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 GLY291 ILE319 PHE322 TYR323 TYR326	29,6	4,791	307716256	30,5	
N-methylethanolamine phosphate	3,704	1927,223	THR262 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 PHE295 TYR326 THR330 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 LEU317 ILE319 PHE322 TYR326 THR330 VAL331 LEU334 ASP263 PHE266 ASN267	14,8	3,527	2598212864	5,5	
Dihydrouridine	5,434	103,950	LEU270 LEU289 LEU317 ILE319 PHE322 TYR326 THR330 VAL331 LEU334 ASP263 PHE266 ASN267	25,9	5,049	199082880	8,3	
2,5-Diketopiperazine	3,786	1678,128	LEU270 PHE295 TYR326 THR330	11	3,816	1595272576	25	
							ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104	

D-Pantothenic acid	5,596	79,081	VAL331	25,9	4,434	562127616	VAL113	30,5
			LEU334				THR115	
							ALA137	
							LEU146	
							PHE147	
			ASP263				ILE32	
			PHE266				ILE52	
			ASN267				LEU54	
			LEU270				ILE80	
			LEU289				VAL82	
			GLY291				PHE121	
			ASP294				ILE124	
			PHE322				TYR131	
			TYR323				LYS132	
			TYR326				CYS133	
Zingerol	5,842	52,210	THR330	29,6	6,25	26223416	PHE151	33,3
			VAL331				ILE153	
			LEU334					
			ASP263				ILE44	
			PHE266				LEU61	
			ASN267				ILE63	
			LEU270				TYR65	
			LEU289				PRO67	
			GLY291				LEU71	
			PHE295				LEU74	
			ILE319				PHE76	
			PHE322				PHE104	
			TYR323				VAL113	
			TYR326				THR115	
			THR330				ILE117	
Asarone	5,633	74,294	VAL331	37	0,4182	6,273	ALA137	36,1
			LEU334				LEU146	
							PHE147	
							LEU61	
							HIS62	
			LEU261				ILE63	
			THR262				TYR65	
			ASP263				PRO67	
			PHE266				LEU71	
			ASN267				LEU74	
			LEU270				PHE76	
			LEU289				ILE94	
			GLY291				TYR102	
			ILE314				PHE104	
			LEU317				VAL113	
Sedanolidide	6,198	28,628	ILE319	48	0,495	6,93	THR115	36
			PHE322				THR116	
			TYR323				ILE117	
			TYR326				ALA137	
							LEU146	
							PHE147	
			ILE314				ILE44	
			LEU328				LEU61	
			LEU335				ILE63	
			ILE341				TYR65	
			VAL343				LEU71	
			VAL348				LEU74	
			LEU350				PHE76	
			VAL351				ILE94	
			PRO352				PHE104	

Stearidonic acid	6,534	16,237	PHE355	33,3	0,3296	6,591	VAL113	33,3
			LEU359				THR115	
			LEU362				ILE117	
			LEU365				ALA137	
			LEU 367				LEU146	
			TRP386				PHE147	
			ASP263				ILE32	
			PHE266				ILE52	
			ASN267				LEU54	
			LEU270				ILE80	
			LEU289				THR81	
			GLY291				VAL82	
			LEU317				PHE121	
			ILE319				ILE124	
			PHE322				TYR131	
			TYR323				LYS132	
			TYR326				CYS133	
			THR330				VAL135	
			VAL331				PHE151	
			LEU334				ILE153	
3,4,5-Trihydroxy-1-cyclohexenecarboxylic acid	5,485	95,376	ASP263	14,8	0,4397	5,277	TYR65	30,5
			GLU264				PRO67	
			PHE266				LEU71	
			ASN267				LEU74	
			LEU270				PHE76	
			LEU289				PHE104	
			TYR326				VAL113	
			THR330				THR115	
			VAL331				ILE117	
			LEU334				ALA137	
							LEU146	
							PHE147	
			LEU261				ILE63	
			PHE266				TYR65	
			PHE284				PRO67	
2[5H]-furanone	3,732	1838,263	CYS287	14,8	0,6173	3,704	LEU71	16,6
			THR288				LEU74	
			LEU289				PHE76	
			ILE314				ALA137	
			LEU317				LEU146	
							PHE147	
							ILE32	
			ASP263				VAL48	
			PHE266				ILE52	
			ASN267				LEU54	
Capsi-amide	5,854	51,1636	LEU270	33,3	0,3304	6,278	LEU61	38,8
			LEU289				ILE80	
			GLY291				THR81	
			LEU317				VAL82	
			ILE319				PHE119	
			PHE322				PHE121	
			TYR323				ILE124	
			TYR326				TYR131	
			THR330				LYS132	
			VAL331				CYS133	
			LEU334				PHE151	
							ILE153	

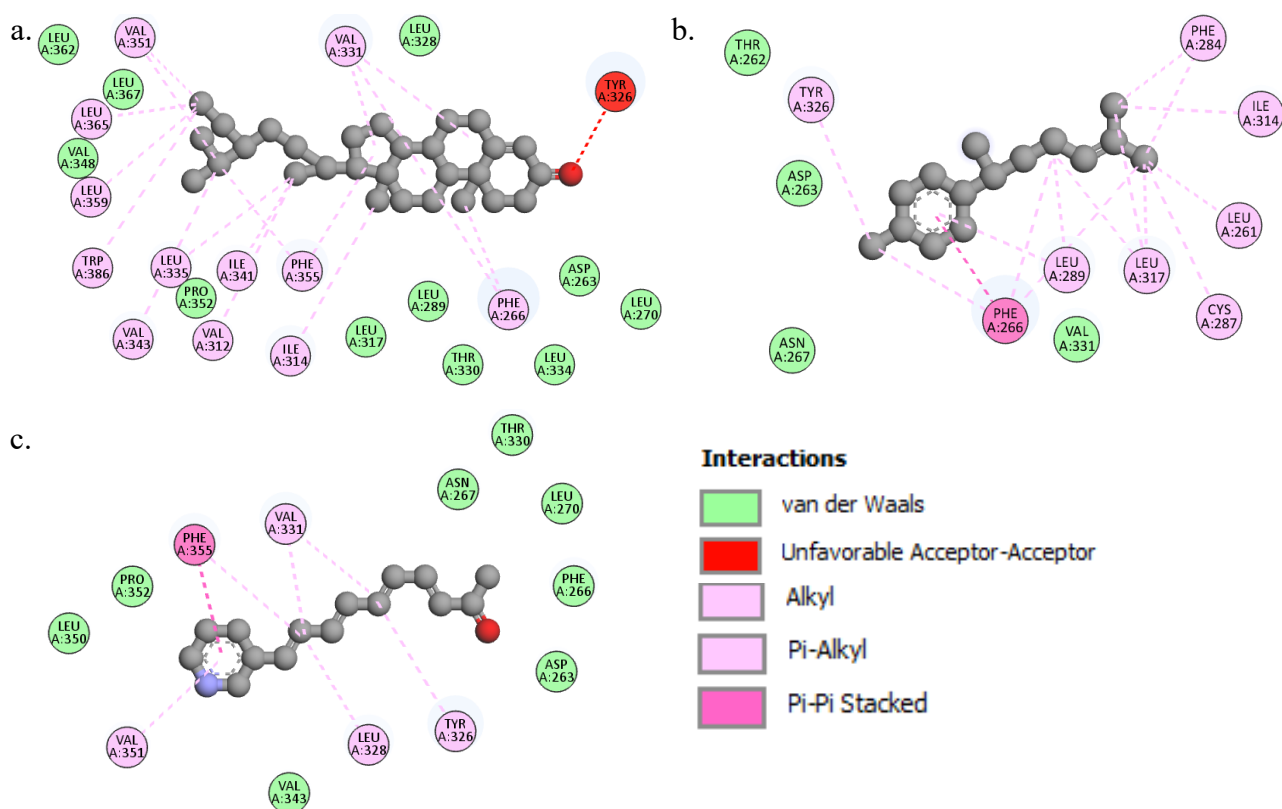
7-hydroxy-6-methoxy-2H-chromen-2-one	6,089	34,411	ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 PHE295 LEU317 TYR326 THR330 VAL331 LEU334	18,5	0,4541	6,358	LEU61 HIS62 ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 ILE94 PHE104 VAL113 THR115 THR116 ILE117 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ILE63 TYR65 PRO67	30,5
Nicotinamide	4,798	304,102	THR262 ASP263 PHE266 LEU289 GLY291 PHE322 TYR323 TYR326	25,9	0,5273	4,746	LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147	27,7
Cytosine	4,088	1007,990	ASP263 GLU264 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 PHE295 ASP301 TYR326 THR330 LEU334 LEU261 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 PHE284 CYS287 THR288 LEU289 GLY291 ILE314 LEU317 PHE322 TYR323 TYR326 LEU328 THR330 VAL331 LEU334	14,8	0,4997	3,998	ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 ALA137 LEU146 PHE147	13,8
9(Z),11(E),13(E)-Octadecatrienoic Acid methyl ester	6,664	13,038	THR262 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 PHE284 CYS287 THR288 LEU289 GLY291 ILE314 LEU317 PHE322 TYR323 TYR326 LEU328 THR330 VAL331 LEU334	37	0,3069	6,444	ILE32 VAL48 ILE52 LEU54 LEU61 LEU78 PHE119 PHE121 ILE124 TYR131 CYS133 VAL135 PHE151 ILE153	38,8
Nicotinic acid	4,739	335,944	THR262 ASP263 PHE266 ASN267	14,8	0,5109	4,598	ILE63 TYR65 PRO67 LEU71	27,7

			LEU289 TYR326 VAL331				LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147	
			LEU261 ASP263 PHE266 PHE284 CYS287 LEU289 GLY291 ASP294 ILE314 LEU317 ILE319 PHE322 TYR323 TYR326 LEU328 THR 330 VAL331				ILE32 ILE46 VAL48 ILE52 LEU54 LEU61 ILE80 PHE119 PHE121 ILE124 TYR131 CYS133 PHE151 ILE153	
9-Oxo- 10(E),12(E)- octadecadienoi c acid	6,459	18,428	40,7	0,2956	6,207	38,8		
			ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 ILE314 LEU317 TYR326 THR330 VAL331 LEU334				ILE44 LEU61 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 ILE94 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 PHE147	
L-Tyrosine	5,771	58,857	22,2	0,4426	5,754	36		
			ASP263 GLU264 PHE266 ASN267 LEU270 LEU289 GLY291 PHE295 ILE319 PHE322 TYR323 TYR326 LEU328 THR330 VAL331 LEU334 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270				ILE32 ILE52 LEU54 ILE80 VAL82 PHE121 ILE124 TYR131 CYS133 VAL135 PHE151 ILE153	
Hexadecanami de	5,782	57,774	33,3	0,323	5,814	33,3		
			ASP263 PHE266 ASN267 LEU270				ILE63 TYR65 LEU71 LEU74	
Betaine	3,212	4421,532	11	0,3817	3,054	25		

			TYR326 THR330 VAL331 LEU334				PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ALA137 LEU146 PHE147 LEU61 ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 ILE94 TYR102 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147	
Choline	2,923	7201,328	ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 TYR326 THR330 VAL331 LEU334	11	0,4281	2,997		22,2
Methyl palmitate	5,881	48,884	LEU261 ASP263 PHE266 PHE284 CYS287 THR288 LEU289 ILE314 LEU317 ILE319 PHE322 TYR323 TYR326	33,3	0,3258	6,19		36
13(S)-HOTrE	6,747	11,334	LEU261 THR262 ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 PHE284 CYS287 LEU289 GLY291 ASP294 ILE314 LEU317 PHE322 TYR323 TYR326 THR330 VAL331 LEU334 LEU261 ASP263 PHE266 PHE284 CYS287 THR288 LEU289	33,3	0,3013	6,328	ILE32 VAL48 ILE52 LEU54 LEU61 ILE80 THR81 PHE119 PHE121 ILE124 TYR131 LYS132 CYS133 PHE151 ILE153	36
α -Linolenic acid	6,526	16,458	LEU261 ASP263 PHE266 PHE284 CYS287 THR288 LEU289	37	0,3227	6,454	ILE32 VAL48 ILE52 LEU54 LEU61 ILE80 PHE119	36

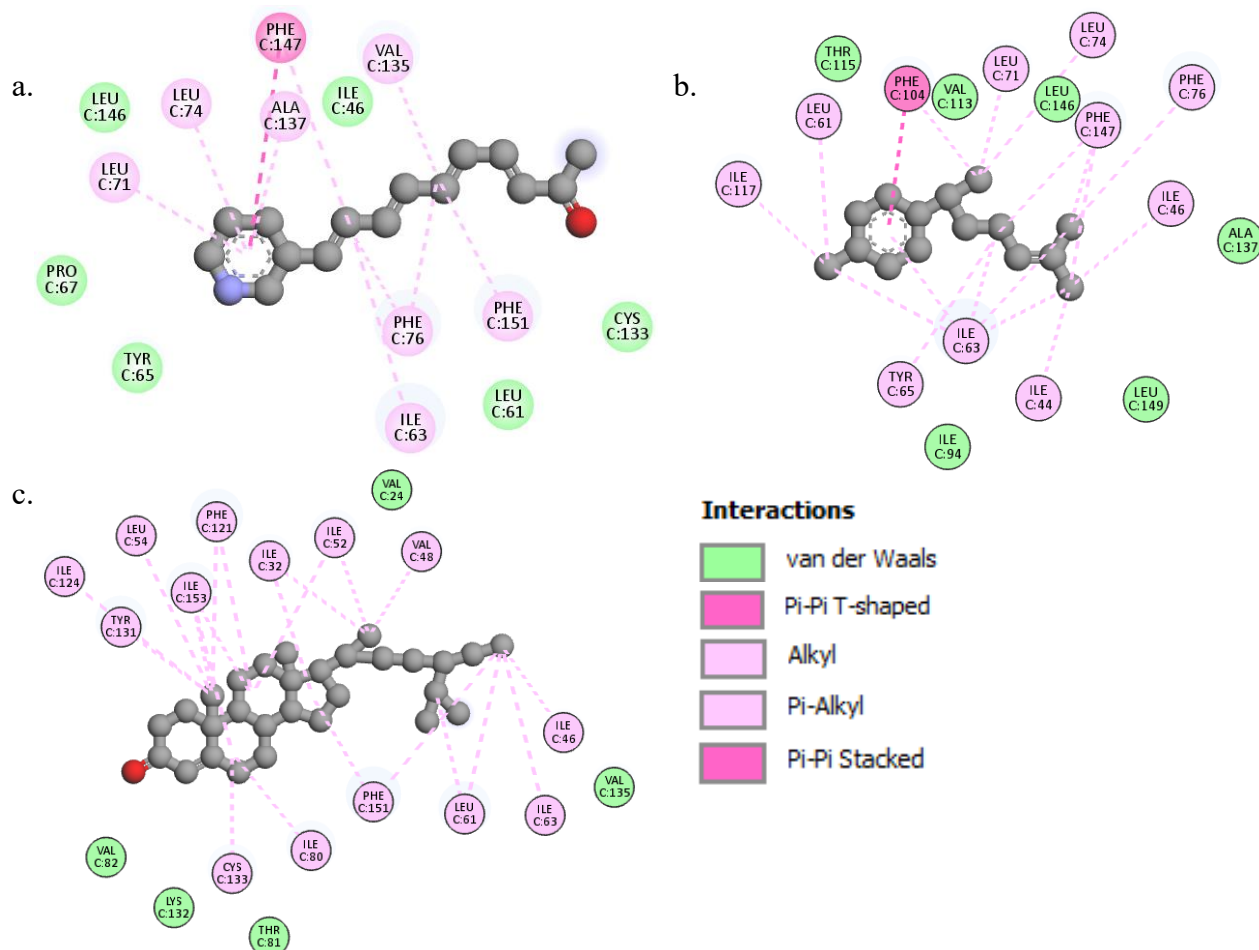
			GLY291 ILE314 LEU317 ILE319 PHE322 TYR323 TYR326				PHE121 ILE124 TYR131 CYS133 PHE151 ILE153	
							LEU61 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 ILE63 TYR65 PRO67 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 LEU61 ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147 LEU61 ILE63 TYR65 LEU71 LEU74 PHE76 PHE104 VAL113 THR115 ILE117 ALA137 LEU146 PHE147	
Sorbic acid	4,835	285,691	ASP263 GLU264 PHE266 ASN267 LEU289 LEU317 TYR326 THR330	18,5	0,6	4,8		30,5
Protocatechuic acid	5,072	191,502	ASP263 PHE266 ASN267 LEU289 TYR326 THR330 VAL331	14,8	0,4619	5,081		27,7
D-(+)-Pyroglutamic Acid	4,455	542,552	ASP263 PHE266 ASN267 LEU270 TYR326 THR330 VAL331 LEU334	11	0,494	4,446		27,7
4-Guanidinobutyric acid	4,593	429,819	ASP263 PHE266 ASN267 LEU289 GLY291 ASP294 PHE322 TYR323 TYR326 THR330 VAL331	25,9	0,4115	4,115		30,5

Leucine	4,631	403,117	THR262	14,8	0,5099	4,589	ILE63	30,5
			ASP263				TYR65	
			GLU264				PRO67	
			PHE266				LEU71	
			ASN267				LEU74	
			LEU270				PHE76	
			LEU289				ILE94	
			PHE295				PHE104	
			TYR326				VAL113	
			THR330				THR115	
			VAL331				ILE117	
			LEU334				ALA137	
							LEU146	
							PHE147	
							ILE32	
Xanthurenic acid	3,786	1678,128	ASP263	29,6	0,3918	5,877	ILE52	30,55 5
			PHE266				LEU54	
			ASN267				ILE80	
			LEU289				THR81	
			GLY291				VAL82	
			ASP294				PHE121	
			ILE319				ILE124	
			PHE322				TYR131	
			TYR323				LYS132	
			TYR326				CYS133	
							PHE151	
							ILE153	



Gambar 1: Hasil visualisasi 3D senyawa ligan uji dengan TLR-2 (3A7C)

Keterangan: (a) Sitostenone. (b) Curcumene (c) Nevanone A



Gambar 2: Hasil visualisasi 3D senyawa ligan uji dengan TLR-4 (2Z65)

Keterangan: (a) Nevanone A. (b) Curcumene (c) Sitostenone

PEMBAHASAN

Penambatan molekuler pada penelitian ini dilakukan dengan melihat interaksi senyawa *metabolite profiling* yang dihasilkan pada ekstrak kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) (Tabel 2) dengan TLR-2 dan TLR-4. Pada tahap awal dilakukan penambatan pada ligan nativ PE-DTPA (TLR-2) dan eritoran (TLR-4) sebagai kontrol pembandingan. *Software* yang digunakan yakni YASARA *structure* dimana pada *software* tersebut menghasilkan beberapa parameter yakni nilai *binding energy* (kcal/mol), konstanta disosiasi (Kd, μ M), serta interaksi dengan residu asam amino dimana analisa *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dilakukan pada tahap awal sebelum penambatan molekuler ligan terpilih dengan TLR-2 atau TLR-4 dan validasi metode penambatan molekuler dengan menggunakan *Gridbox*. Nilai RMSD menunjukkan tingkat akurasi metode penambatan molekuler. Nilai RMSD harus kurang dari 2.00 Å. *Gridbox* digunakan untuk melihat aktivitas ligan uji terhadap protein target yang sama karena nilai RMSD yang lebih rendah

menunjukkan posisi atom pada ligan yang lebih baik karena mendekati konformasi asal¹⁷. Semakin tinggi *binding energy*, maka suatu senyawa mempunyai interaksi yang kuat dengan protein target, sebaliknya apabila suatu senyawa mempunyai energi ikatan yang menunjukkan nilai rendah, maka senyawa tersebut tidak mengikat dengan baik pada protein target¹³.

Hasil penambatan molekuler ligan dengan protein target, dengan nilai *binding energy* yang tinggi, menunjukkan potensi interaksi yang kuat antara ligan dan protein target. Interaksi ini jika pada uji *in vivo* benar terjadi, akan berperan penting dalam mekanisme penghambatan respon inflamasi, yang terjadi pada patofisiologi OA dimana TLR-2 dan TLR-4 merupakan *pattern recognition receptor* (PRRs) yang mengaktivasi jalur sinyal inflamasi melalui aktivasi NF- κ B dan produksi sitokin proinflamasi. Senyawa terpilih dari ekstrak kulit buah matoa dengan *binding energy* tinggi terhadap TLR-2 dan TLR-4 berpotensi bertindak sebagai antagonis yang dapat menghambat aktivasi jalur inflamasi tersebut.

Namun, validasi penambatan menggunakan parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD) menunjukkan nilai yang melebihi ambang batas ideal (<2 Å), yaitu 10,707 Å untuk TLR-2 dan 7,112 Å untuk TLR-4. Nilai RMSD yang tinggi ini menunjukkan deviasi signifikan dari posisi ligan terhadap protein target (TLR-2 dan TLR-4), sehingga hasil interaksi yang ditunjukkan memerlukan validasi lebih lanjut dan tidak dapat langsung dijadikan acuan utama untuk pembuktian aktivitas biologis secara *in silico*. Meskipun demikian, senyawa-senyawa dengan *binding energy* tinggi terhadap reseptor tetap memiliki potensi sebagai kandidat antiinflamasi yang menjanjikan, namun perlu didukung dengan analisis lanjutan seperti simulasi dinamika molekul atau uji biologis secara *in vitro* dan *in vivo*^{13, 15, 16}.

Visualisasi interaksi residu asam amino antara ligan dan protein target dilakukan menggunakan BIOVIA Discovery Studio. Interaksi yang teridentifikasi tidak hanya terbatas pada ikatan hidrogen, tetapi juga mencakup interaksi non-kovalen seperti gaya van der Waals dan interaksi elektrostatik, yang dapat meningkatkan kestabilan dan *binding energy* kompleks ligan-protein target¹⁹. **Tabel 2** menunjukkan bahwa kesamaan residu asam amino (%similarity) antara ikatan ligan uji dengan ligan nativ pada TLR-2 tertinggi ditemukan pada *Sitostenone* (66,6%), diikuti oleh *Navenone A* (33,3%) dan *Curcumene* (22,2%). Sementara pada TLR-4, *Sitostenone* juga menunjukkan kesamaan residu tertinggi (47,2%), diikuti oleh *Curcumene* (41,6%) dan *Navenone A* (27,7%). Semakin tinggi persentase kesamaan residu asam amino (≥ 40 –50%), maka semakin besar kemungkinan bahwa ligan uji dapat meniru cara kerja ligan nativ dalam berinteraksi dengan reseptor²⁰. Hal ini dapat mendukung potensi senyawa sebagai inhibitor jalur inflamasi melalui TLR-2 dan TLR-4.

SIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa senyawa hasil metabolite profiling dari ekstrak kulit buah matoa (*Pometia pinnata*) memiliki potensi sebagai kandidat antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan TLR-2 dan TLR-4. Hasil penambatan molekuler menggunakan YASARA Structure mengindikasikan bahwa senyawa seperti *Sitostenone*, *Curcumene*, dan *Navenone A* memiliki nilai *binding energy* tinggi

dan kesamaan residu asam amino dengan ligan nativ, terutama *Sitostenone* dengan %similarity tertinggi pada kedua reseptor. Meskipun nilai RMSD melebihi batas ideal (<2 Å), yang mengindikasikan validitas penambatan masih perlu dianalisis lebih lanjut, interaksi residu dan nilai *binding energy* tetap mendukung potensi senyawa tersebut sebagai penghambat jalur inflamasi. Diperlukan validasi lanjutan melalui simulasi dinamika molekul serta uji *in vitro* dan *in vivo* untuk memastikan aktivitas biologis senyawa-senyawa tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada IOM dan FK UNISMA atas fasilitas dan dukungan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini. Penulis juga berterima kasih kepada dosen pembimbing (Apt. Andri Tilazqa, M. Farm dan Denis Mery Mirza) atas bimbingan dan arahnya yang sangat berarti dalam penyusunan artikel ini.

REFERENSI

1. Wahyuni, A.; Safei, I.; Hidayati, P. H.; Buraena, S.; dan Mokhtar, S.; 2024. *Karakteristik Osteoarthritis Genu Pada Lansia Yang Mendapatkan Rehabilitasi Medik di RSUD Hajjah Andi Depu, Fmj*, **4**(1): 62–72
2. Putri, R. A. A. S. H.; Ilmiawan, M. I.; dan Darmawan; 2022. *Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Osteoarthritis Lutut Pada Petani di Desa Bhakti Mulya Kecamatan Bengkayang, Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, **18**(1): 1-15
3. Loeser, R. F.; 2017. *The Role Of Aging in The Development of Osteoarthritis*, *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 128: 44–54
4. Orlowsky, E. W.; dan Kraus V. B.; 2015. *The Role of Innate Immunity in Osteoarthritis: When Our First Line of Defense Goes On the Offensive*, *The Journal of Rheumatology*, **42**(3): 363–371
5. Berenbaum, F.; 2013. *Osteoarthritis as an Inflammatory Disease (Osteoarthritis is Not Osteoarthrosis!)*, *Osteoarthritis And Cartilage*, **21**(1): 16–21
6. Kang, J. Y.; Nan, X.; Jin, M. S.; Youn, S. J.; Ryu, Y. H.; Mah, S.; Han, S. H.; Lee, H.; Paik, S. G.; dan Lee, J. O.; 2009. *Recognition of Lipopeptide Patterns by Toll-Like Receptor 2 Toll-Like Receptor 6 Heterodimer*, *Immunity*, **31**(6): 873–884,
7. Opal, S. M.; Laterre, P. F.; Francois, B.; LaRosa, S. P.; Angus, D. C.; Mira, J. P.; Wittebole, X.; Dugernier, T.; Perrotin, D.; Tidswell, M.; Jauregui, L.; Krell, K.; Pachel, J.; Takahashi, T.; Peckelsen, C.; Cordasco, E.; Chang, C. S.; Oeyen,

- S.; Aikawa, N.; Maruyama, T.; Schein, R.; Kalil, A. C.; Van Nuffelen, M.; Lynn, M.; Rossignol, D. P.; Gogate, J.; Roberts, M. B.; Wheeler, J. L.; dan Vincent, J. L.; 2013. *Effect of Eritoran, an Antagonist of MD2-TLR4, on Mortality in Patients With Severe Sepsis*, *JAMA*, **309**(11): 1154–1162
8. Hajar, S.; Rahmah, W.; Putri, E. M.; Ressandy, S. S.; dan Hamzah, H.; 2021. *Potensi Ekstrak Buah Matoa (Pometia pinnata) sebagai Sumber Antioksidan: Literatur Review*, *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP)*, **7**(1): 59–66.
 9. Amalia, P. H., Mirza, D. M., dan Tilaqza, A.; 2024. *Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Kulit Buah Matoa (Pometia pinnata)*. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*. **11**(1): 1-7
 10. Angreani, D.; Sangi, M. S.; dan Fatimah, F.; 2020. *Aktivitas Anti-Inflamasi Ekstrak Etanol Tepung Pelepah Aren (Arenga pinnata)*, *Chem. Prog.*, **13**(2): 123–127.
 11. Alfauzi, R. A.; Hartati, L.; Suhendra, D.; Rahayu, T. P.; dan Hidayah, N.; 2022. *Ekstraksi Senyawa Bioaktif Kulit Jengkol (Archidendron jiringa) dengan Konsentrasi Pelarut Metanol Berbeda sebagai Pakan Tambahan Ternak Ruminansia*, *Jurnal Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan (JINTP)*, **20**(3): 95–103.
 12. Perdana, A. T.; dan Permana, A. A.; 2021. *Molecular Docking Senyawa Potensial Anticovid-19 Secara In Silico, JIKA (Jurnal Informatika)*, **2**(2): 159–166.
 13. Gholam, G. M.; 2022. *Molecular Docking of the Bioactive Compound Ocimum sanctum as an Inhibitor of Sap 1 Candida albicans*, *Sasambo Journal of Pharmacy (SJP)*, **3**(1): 18–24.
 14. Srivastava, S.; Shree, P.; Pandey, H.; dan Tripathi, Y. B.; 2021. *Incretin Hormones Receptor Signaling Plays the Key Role in Antidiabetic Potential of PTY-2 Against STZ-Induced Pancreatitis*, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **97**: 330–338.
 15. Sari, B. L.; Suhendar, U.; dan Hamdani, R.; 2023. *Penambatan dan Simulasi Dinamika Molekular Senyawa Bioaktif Tanaman Bawang Dayak (Eleutherine Sp.) sebagai Inhibitor Kapsid Virus Hepatitis B*, *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, **8**(2): 103–110.
 16. Manalu, R. T.; 2021. *Molecular Docking Senyawa Aktif Buah dan Daun Jambu Biji (Psidium guajava L.) terhadap Main Protease pada SARS-CoV-2*, *FORTE Jurnal*, **1**(2): 09–16.
 17. Kalontong, P. K.; Safithri, M.; dan Tarman, K.; 2022. *Penambatan Molekul Senyawa Aktif Spirulina platensis sebagai Inhibitor TMPRSS2 untuk Mencegah Infeksi SARS-CoV-2*, *JPHPI*, **25**(2): 253–267.
 18. Hashim, A. F.; Odhar, H. A.; dan Ahjel, S. W.; 2022. *Molecular Docking and Dynamics Simulation Analysis of Nucleoprotein from the Crimea-Congo Hemorrhagic Fever Virus Strain Baghdad-12 with FDA Approved Drugs*, *Bioinformation*, **18**(5): 442–449.
 19. Syahputra, G.; Ambarsari, L.; dan Sumaryada, T.; 2014. *Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase*, *Jurnal Biofisika*, **10**(1): 55–67.
 20. Broccatelli, F. dan Brown, N.; 2014. *Best of Both Worlds: On the Complementarity of Ligand-Based and Structure-Based Virtual Screening*. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **54**, 1634–1641