

ANALYSIS OF MOLECULAR DOCKING OF MORINGA LEAF COMPOUNDS (*Moringa oleifera*) ON CYCLOOXYGENASE-2 (COX-2) ENZYME, INCLUDING ADME AND TOXICITY PREDICTION AS AN ANTI-INFLAMMATORY DRUG

Rezky Ardika Pamungkas¹, Tiara Ajeng Listyani², Tatiana Siska Wardani³

E-mail: rezkyardikapamungkas@gmail.com

ABSTRACT

*Chronic inflammation is a pathological condition that affects millions of people globally and is a major health problem in Indonesia. The prevalence of inflammatory diseases such as osteoarthritis in Central Java reaches 6.78%. The commonly used therapy is NSAID drugs such as celecoxib, but long-term use carries the risk of cardiovascular and gastrointestinal side effects, so a safer alternative is needed. Moringa leaves (*Moringa oleifera*) contain bioactive compounds, particularly flavonoids and phenols, which have the potential to be selective COX-2 inhibitors. This study aims to analyze the interaction of active compounds in moringa leaves with COX-2 protein in silico, predict ADME profiles, evaluate toxicity, and identify the most promising compounds as anti-inflammatory candidates. The study used a computer-based experimental design on 30 moringa leaf compounds, with celecoxib as a positive control and paracetamol as a negative control. The stages included structure preparation, molecular docking, and visualization analysis using ChemDraw, VegaZZ, PyRx, PyMOL, SwissADME, and Toxtree. The results showed that sinapic acid had the best affinity with a ΔG value of -6.7 kcal/mol and an RMSD of 1.168 Å, and formed important residue interactions similar to native ligands. This compound complies with Lipinski's Rule of Five, has a good ADME profile, and is classified as low toxicity (Class I). Thus, sinapic acid from moringa leaves has potential as a COX-2 inhibitor candidate and warrants further investigation through in vivo testing.*

Keywords: Anti-inflammatory, COX-2, Molecular Docking, Moringa Leaves

ANALISIS *DOCKING* MOLEKULER SENYAWA DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP ENZIM *CYCLOOXYGENASE-2* (COX-2) BESERTA PREDIKSI ADME DAN TOKSISITAS SEBAGAI OBAT ANTIINFLAMASI

Rezky Ardika Pamungkas¹, Tiara Ajeng Listyani², Tatiana Siska Wardani³

E-mail: rezkyardikapamungkas@gmail.com

ABSTRAK

Inflamasi kronis merupakan kondisi patologis yang memengaruhi jutaan orang secara global dan menjadi masalah kesehatan utama di Indonesia. Prevalensi penyakit inflamasi seperti osteoarthritis di Jawa Tengah mencapai 6,78%. Terapi yang umum digunakan adalah obat golongan NSAID seperti celecoxib, namun penggunaan jangka panjang berisiko menimbulkan efek samping kardiovaskular dan gastrointestinal, sehingga diperlukan alternatif yang lebih aman. Daun kelor (*Moringa oleifera*) mengandung senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan fenolat, yang berpotensi sebagai inhibitor selektif COX-2. Penelitian ini bertujuan menganalisis interaksi senyawa aktif daun kelor terhadap protein COX-2 secara *in silico*, memprediksi profil ADME, mengevaluasi toksisitas, serta mengidentifikasi senyawa paling potensial sebagai kandidat antiinflamasi. Penelitian menggunakan desain eksperimental berbasis komputer terhadap 30 senyawa daun kelor, dengan celecoxib sebagai kontrol positif dan parasetamol sebagai kontrol negatif. Tahapan meliputi preparasi struktur, *docking* molekuler, serta analisis visualisasi menggunakan ChemDraw, VegaZZ, PyRx, PyMOL, SwissADME, dan Toxtree. Hasil menunjukkan bahwa *sinapic acid* memiliki afinitas terbaik dengan nilai ΔG -6,7 kkal/mol dan RMSD 1,168 Å, serta membentuk interaksi residu penting yang serupa dengan ligan natif. Senyawa ini memenuhi *Lipinski's Rule of Five*, memiliki profil ADME yang baik, dan tergolong toksisitas rendah (*Class I*). Dengan demikian, *sinapic acid* dari daun kelor berpotensi sebagai kandidat inhibitor COX-2 dan layak diteliti lebih lanjut melalui uji *in vivo*.

Kata kunci: Antiinflamasi, COX-2, Daun kelor, *Docking* molekuler.

PENDAHULUAN

Rata-rata prevalensi global penyakit inflamasi yang dimediasi sistem imun (IMID) sepanjang periode 1990–2018 tercatat sebesar 0,74%, dengan jumlah penderita mencapai lebih dari 230 juta orang pada tahun 2018. Di Amerika Serikat, angka prevalensi gabungan untuk seluruh jenis IMID lebih tinggi, yakni sekitar 1,16%. Jika ditinjau berdasarkan Indeks Sosiodemografis (SDI), negara dengan kategori SDI tinggi menunjukkan prevalensi sebesar 1,19%, sedangkan pada negara dengan SDI rendah angkanya lebih kecil, yaitu sekitar 0,40% (Gelabert-Mora *et al.*, 2024).

Obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS/NSAID) merupakan terapi paling umum untuk nyeri, demam, dan inflamasi di Indonesia, dengan prevalensi penggunaan 9% di Jawa Tengah (urutan kedua setelah Jawa Timur 15%). Prevalensi osteoarthritis sebagai indikasi utama mencapai 6,78% dari 67.977 responden Risesdas 2018, di mana celecoxib dan meloxicam paling sering diresepkan (RSUD Kajen Pekalongan, Jan–Okt 2024). Namun, penggunaan jangka panjang yang tidak rasional berisiko menyebabkan efek samping serius pada saluran cerna, ginjal, dan kardiovaskular (Soleha *et al.*, 2018).

Inflamasi adalah reaksi kompleks dari jaringan yang terkena infeksi atau cedera, yang melibatkan pengumpulan protein darah di luar pembuluh darah pada area yang terinfeksi atau rusak.

Meskipun peradangan berfungsi melindungi tubuh dengan mengendalikan infeksi dan membantu memperbaiki jaringan, tetapi dalam beberapa kasus juga bisa merusak jaringan dan menyebabkan penyakit. Inflamasi adalah salah satu penyebab utama munculnya berbagai penyakit, seperti kanker, penyakit jantung dan pembuluh darah, diabetes, obesitas, osteoporosis, penyakit autoimun seperti arthritis reumatoid, penyakit radang usus, asma, serta penyakit lain yang berkaitan dengan susunan saraf pusat seperti demensia Alzheimer (Artasya *and* Parapasan, 2020)

Moringa oleifera, yang dikenal sebagai pohon kelor, adalah tanaman tahunan serbaguna yang tumbuh di Asia Tenggara, Afrika, Cina Selatan, dan berbagai wilayah lain di dunia. Hampir setiap bagian dari daun kelor memiliki manfaat biologis dan nutrisi yang signifikan. Daunnya sangat berharga karena kaya akan fenol, glukosinolat, protein, lemak, dan mineral esensial. Daun ini diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis seperti antiinflamasi dan antioksidan. Selain itu, biji, bunga, dan getah pohon kelor mengandung nitril glikosida (niazirin dan niazirinin), flavonoid, dan tiokarbamat glikosida, yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antibakteri, antidiabetes, dan antihipertensi. Penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa berbagai komponen dari daun kelor memberikan banyak manfaat fisiologis dan farmakologis,

yang disebabkan oleh keberadaan beragam senyawa bioaktif di dalamnya (Husein *et al.*, 2024).

Docking molekuler adalah teknik komputasi yang memprediksi orientasi yang disukai dari satu molekul terhadap molekul lainnya ketika berikatan satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil. Tujuan utama dari *docking* molekuler adalah untuk mencapai kesesuaian yang dioptimalkan antara molekul kecil (ligan) dan target makromolekul (biasanya protein atau asam nukleat), dengan memprediksi afinitas ikatan dan situs interaksi. Proses ini melibatkan dua komponen utama: algoritma pencarian untuk menjelajahi ruang konformasi ligan dan target, serta fungsi penilaian untuk mengevaluasi dan memberi peringkat kemungkinan mode ikatan berdasarkan energi interaksi yang diprediksi (Goutam *et al.*, 2024).

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini memanfaatkan pendekatan desain penelitian eksperimental berbasis komputer secara *in silico* untuk menyelidiki interaksi antara 30 senyawa yang terkandung pada daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap enzim COX-2.

ALAT DAN BAHAN

ALAT

Pada penelitian ini digunakan alat perangkat keras (*Hardware*) dan perangkat lunak (*Software*). *Hardware* terdiri dari laptop HP 245 G7 dengan

spesifikasi *processor* AMD Ryzen 3 3300U (2,1 GHz, 4 CPUs) RAM 4.00 GB. Adapun *software* terdiri dari *Windows 11*, *PyRx Autodock Vina*, *VegaZZ*, *PyMOL*, *BIOVIA Discovery Studio*, *Chem Office 2D dan 3D*.

BAHAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3D protein *Cyclooxygenase-2* (COX-) yang diunduh dari *Protein Data Bank* (RCSB PDB) dengan kode identitas PDBID: 2AW1 (RCSB, 2025) yang disimpan dalam format .pdb. Struktur ini disiapkan dengan rangkaian penghilang molekul air, perbaikan struktur, penghapusan ligan asli, dan pencarian sisi aktif protein serta desain struktur tiga dimensi 30 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*).

PROSEDUR PENELITIAN

Pengunduhan Makromolekul

Makromolekul protein yang memiliki peran pada antiinflamasi di unduh melalui *Protein Data Bank* (RCSB PDB) dalam format .pdb

Pembuatan Struktur 3D Ligan Uji

Struktur 2D dari 30 senyawa ligan uji dibuat menggunakan *Chemdraw Ultra 15.0*, kemudian dikonversi ke model 3D dengan *Chem3D Ultra 15.0* dan disimpan dalam format PDB. Struktur 3D selanjutnya dioptimasi menggunakan *software VegaZZ* melalui perhitungan AMMP dengan metode minimisasi energi, sebelum akhirnya disimpan kembali dalam format .pdb untuk analisis *docking* molekuler.

Preparasi makromolekul

Struktur makromolekul dipisahkan dari ligan menggunakan Discovery Studio Visualizer dengan membuka file target, memilih dan menghapus air, ligan, serta rantai protein tidak esensial melalui menu Script → Selection → Edit → Delete, sebelum disimpan dalam format .pdb untuk docking.

Preparasi Ligan Uji

Optimasi ligan bertujuan mencapai energi molekul terendah untuk konformasi paling stabil, dengan struktur 3D dibuka di software VegaZZ, ditambahkan atom hidrogen, muatan parsial Gasteiger, serta forcefield AutoDock, diikuti minimisasi 3.000 langkah. Hasil optimal disimpan sebagai file .pdb untuk docking dan .mol untuk prediksi toksisitas

Validasi Metode

Jalan penelitian dalam validasi hasil *docking* molekular dilakukan dengan membandingkan pose ligan hasil *docking* terhadap ligan natif pada situs aktif protein menggunakan PyMOL. Visualisasi kompleks protein–ligan digunakan untuk menilai apakah posisi dan orientasi ligan hasil *docking* masih berada pada kantong pengikatan yang sama, membentuk interaksi utama yang serupa (misalnya ikatan hidrogen dan interaksi hidrofob), serta tidak terjadi tumpang tindih yang tidak wajar dengan residu asam amino penting. Selain itu, dilakukan perhitungan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara ligan native dan ligan hasil *docking*; metode

docking dianggap tervalidasi bila nilai RMSD berada di bawah ambang tertentu (umumnya $< 2 \text{ \AA}$), yang menunjukkan bahwa protokol *docking* mampu mereproduksi posisi ligan *native* secara memadai dan hasil prediksi interaksi dapat dipercaya untuk dianalisis lebih lanjut

Proses docking molekuler

Proses *docking molecular* menggunakan software PyRx dengan sistem AutoDock Vina menggunakan *gridbox*. Parameter yang digunakan pada proses *docking molecular* adalah *binding energy* dengan satuan kkal/mol dan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Semakin rendah nilai *binding energy*, maka semakin kuat ikatan antara senyawa ligan dan reseptor.

Visualisasi Hasil

Hasil *docking molecular* divisualisasikan menggunakan BIOVIA *Discovery Studio Visualizer*. Visualisasi dilakukan secara 2D untuk mengetahui ikatan yang terjadi.

Prediksi Parameter ADME

Prediksi ADME dilakukan menggunakan SwissADME secara online <http://www.SwissADME.ch>, dengan mengimpor struktur 2D senyawa ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) ke sketcher molekuler, mengonversi ke format SMILES (satu molekul per baris dengan nama opsional), lalu menjalankan perhitungan via tombol "Run".

Prediksi Parameter Toksisitas

Prediksi toksisitas dalam penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan

software *Toxtree*. Hasil klasifikasi toksisitas ditampilkan pada area *Classification Area*, sementara rincian *decision tree* dapat dilihat melalui *Method* → *View decision tree*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil *Docking Molecular*

Analisis hasil *docking* dalam penelitian ini mencangkup nilai energi bebas berikatan (ΔG_{Bind}), nilai RMSD, ikatan hidrogen, dan interaksi ligan dengan residu asam amino. Nilai $\Delta G_{Binding}$ yang kecil menunjukkan kompleks yang terbuuk kurang stabil (Listyani *et al.*, 2019). Nilai ΔG_{Bind} yang terbentuk antara ligan uji dan protein target dipengaruhi oleh jumlah ikatan yang terbentuk. Makin banyak ikatan yang terbentuk, makin negatif nilai $\Delta G_{Binding}$, akan menunjukkan bahwa ikatan yang terbentuk makin kuat dan menciptakan ikatan yang lebih stabil (Pratama *et al.*, 2021).

Parameter yang menjadi fokus evaluasi adalah nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan Root Mean Square Deviation (RMSD) sebagai indikator kekuatan afinitas serta kestabilan kompleks antara ligan dan reseptor. Dari data tersebut, senyawa rutin menunjukkan nilai ΔG paling rendah, yaitu $-8,8$ kkal/mol, yang mengindikasikan interaksi paling kuat dibandingkan senyawa lainnya. Temuan ini sejalan dengan penelitian Suryasaputra *et al.* yang menyatakan bahwa golongan flavonoid seperti apigenin, quercetin, dan rutin memiliki

nilai ΔG negatif terhadap enzim Cyclooxygenase-2 (COX-2). Nilai ΔG yang bernilai negatif mencerminkan adanya kecenderungan pembentukan kompleks ligan–reseptor yang stabil, sehingga menunjukkan afinitas ikatan yang baik pada sisi aktif enzim. Semakin rendah (semakin negatif) nilai ΔG , maka semakin besar kemungkinan terbentuknya kompleks yang stabil, yang secara teoritis mendukung mekanisme penghambatan kompetitif pada situs aktif COX-2. Dalam penelitian tersebut, senyawa pembanding seperti Celecoxib juga digunakan sebagai kontrol positif untuk mengevaluasi efektivitas interaksi ligan terhadap COX-2. Beberapa flavonoid dilaporkan memiliki nilai ΔG yang mendekati kontrol positif, sehingga secara komputasional menunjukkan potensi aktivitas antiinflamasi yang cukup menjanjikan.

Interaksi Ligan Uji Dengan Reseptor

Dari hasil interaksi 30 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*), terdapat 20 senyawa yang memiliki interaksi residu asam amino yang sama dengan ligan natif dan kontrol positif dalam ikatan hidrogen yaitu *Isoquercetin*, *Astragalin*, *Isorhamnetin*, *Ferulic acid*, *Caffeic acid*, *Sinapic acid*, *Chlorogenic acid*, *Gallic acid*, *Salicylic acid*, *Vicenin-2*, *Rutin*, *Syringic acid*, *Cysteine*, *Kaempferide*, *Kaempferitrin*, *Methionine*, *Niaziminin*, *Niazin*, *Niazirin* dan *Sinalbin*.

Berdasarkan pola interaksi residu asam amino, sejumlah senyawa uji menunjukkan kesesuaian ikatan

conventional hydrogen bond dengan *valdecoxib* sebagai ligan natif dan kontrol positif yaitu *celecoxib* yaitu Threonine (THR). THR (Threonine) pada COX-2 berperan sebagai residu kunci yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan ligan (senyawa uji atau obat). Interaksi ini membantu menstabilkan kompleks ligan-COX-2, sehingga meningkatkan afinitas pengikatan dan potensi aktivitas antiinflamasi senyawa tersebut. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Arya *et al.*, 2022 menunjukkan bahwa residu Threonine (Thr-212) membentuk ikatan hidrogen kunci dengan ligan antiinflamasi, menstabilkan kompleks ligan-COX-2 dan meningkatkan afinitas pengikatan. Interaksi ini mendukung potensi inhibisi COX-2 untuk aktivitas antiinflamasi, serupa dengan peran THR dalam struktur COX-2. Sehingga, dapat dianggap sebagai kandidat yang paling menjanjikan karena tidak hanya memiliki afinitas yang baik, tetapi juga meniru model pengikatan kontrol positif secara lebih detail.

Hasil Parameter ADME

Lipinski's Rule of Five (RO5) adalah sekumpulan parameter fisikokimia yang digunakan untuk mengevaluasi *drug-likeness* dan potensi *oral bioavailability* suatu molekul kecil dalam proses *drug discovery*. Prinsip ini dirumuskan berdasarkan observasi bahwa senyawa yang mudah diserap secara oral cenderung memiliki berat molekul ≤ 500 Da, jumlah hydrogen bond donors ≤ 5 ,

jumlah hydrogen bond acceptors ≤ 10 , dan nilai log octanol-air ($\log P$) ≤ 5 , di mana semua angka tersebut merupakan kelipatan lima. Kriteria ini membantu memprediksi kemampuan suatu senyawa dalam menembus membran sel dan menunjang absorpsi serta distribusi dalam tubuh setelah pemberian oral. Meskipun RO5 merupakan aturan praktis yang luas diterapkan dalam penelitian farmasi, banyak peneliti menekankan bahwa pelanggaran terhadap satu atau dua kriteria tidak serta-merta meniadakan potensi terapeutik senyawa tersebut, terutama untuk senyawa kompleks atau *natural product* (Young, 2023)

Pada penelitian ini, uji farmakokinetika atau prediksi ADME dilakukan untuk menilai kemungkinan suatu senyawa uji dapat berpotensi sebagai obat oral atau mirip dengan obat oral. Parameter yang digunakan dalam uji ini yaitu berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (LogP), penerimaan ikatan hidrogen (*H-Bond acceptor*), dan donor ikatan hidrogen (*H-Bond donors*) sesuai *Lipinski Rules*. Prediksi ADME dinilai dengan memastikan bahwa jumlah parameter yang dilanggar tidak lebih dari satu (Naufa *et al.*, 2022).

30 senyawa yang terkandung dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) menunjukkan bahwa beberapa di antaranya memiliki berat molekul yang tidak memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five*. Berdasarkan aturan tersebut, berat molekul senyawa sebaiknya tidak

melebihi 500 g/mol. Senyawa dengan berat molekul di atas batas tersebut umumnya memiliki kemampuan difusi yang lebih rendah untuk menembus membran sel. Berat molekul merupakan salah satu parameter penting yang memengaruhi distribusi senyawa dalam tubuh. Molekul dengan ukuran lebih besar cenderung mengalami hambatan dalam menembus membran biologis sehingga proses absorpsinya berlangsung lebih lambat. Dari tiga puluh senyawa daun kelor yang dianalisis, senyawa yang memiliki berat molekul di atas 500 g/mol adalah Vicenin-2, Rutin, Kaempferitrin, Sinalbin, dan Procyanidin. Selain itu, hasil pada tabel menunjukkan bahwa seluruh senyawa uji memiliki nilai log P yang masih berada dalam rentang yang dipersyaratkan oleh *Lipinski's Rule of Five*. Nilai log P berkaitan dengan tingkat hidrofobisitas atau lipofilisitas suatu senyawa. Hal ini sejalan dengan temuan Naufa et al. (2022) yang menyatakan bahwa nilai log P yang melebihi 5 dapat menyebabkan senyawa bertahan lebih lama pada lapisan lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh, sehingga menurunkan selektivitas interaksi dengan target serta berpotensi meningkatkan toksisitas.

Parameter *Lipinski Rules* yaitu jumlah ikatan hidrogen asektor <10 sedangkan jumlah ikatan hidrogen donor <5 dari 30 senyawa hidrogen asektor terdapat 8 senyawa yang lebih dari 10 dan untuk ikatan hidrogen donor terdapat 9

senyawa yang lebih dari 5. Kelarutan dalam air berdasarkan tabel dapat diketahui bahwa dari 30 senyawa uji memiliki kelarutan yang berbeda-beda yang memiliki sedikit kelarutan hingga mempunyai kelarutan yang tinggi. Dari hal ini, maka dapat diprediksi bahwa 30 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*) yang telah diuji memenuhi parameter *Lipinski Rules* sehingga kemungkinan secara klinis dapat diberikan secara oral karena absorpsi dan permeabilitas yang baik dan diketahui memiliki potensi sebagai kandidat sebagai obat oral.

Parameter lain yang diprediksi pada situs ADME adalah *GI absorption, BBB permeant, P-gp substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, CYP3A4 inhibitor dan bioavailability score* (Listyani et al., 2022). Berdasarkan parameter-parameter tersebut, diperoleh hasil sebagai berikut:

Hasil prediksi parameter ADME, menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang terkandung dalam daun kelor (*Moringa oleifera*) memiliki kemampuan absorpsi yang baik di saluran pencernaan. Namun demikian, terdapat 10 senyawa yang diprediksi memiliki kemampuan absorpsi gastrointestinal yang rendah, yaitu *isoquercetin, astragalin, isorhamnetin, chlorogenic acid, vicenin-2, rutin, kaempferitrin, D-mannose, sinalbin, dan procyanidin*. Dari 10 senyawa tersebut, sebagian besar termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid

merupakan metabolit sekunder tumbuhan yang diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk aktivitas antiinflamasi melalui mekanisme penghambatan enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2). Namun, keterbatasan utama flavonoid sebagai kandidat terapi adalah rendahnya *bioavailabilitas in vivo*, yang berkaitan erat dengan karakteristik strukturalnya, seperti ukuran molekul yang relatif besar, polaritas tinggi, serta kecenderungan mengalami metabolisme cepat. Hal ini sejalan dengan penelitian Hu *et al.*, 2025 yang menyatakan bahwa flavonoid sering menunjukkan *bioavailabilitas* rendah meskipun memiliki aktivitas biologis yang luas.

Parameter farmakokinetik yang dapat diprediksi secara *in silico* dengan tingkat akurasi tertentu salah satunya adalah kemampuan penetrasi *Blood-Brain Barrier* (BBB). Penetrasi BBB yang tinggi diperlukan bagi sebagian besar obat yang ditujukan untuk bekerja pada sistem saraf pusat. Secara umum, molekul obat harus melewati sawar darah otak melalui mekanisme difusi pasif transseluler dan/atau transport aktif. Namun demikian, untuk obat non-sistem saraf pusat, kemampuan menembus BBB justru perlu dibatasi guna mengurangi risiko efek farmakologis yang tidak diinginkan serta potensi terjadinya neurotoksisitas (Huang *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil prediksi terhadap 30 senyawa uji daun kelor (*Moringa oleifera*), sebanyak 27

senyawa diperkirakan tidak mampu menembus BBB, yaitu Isoquercetin, Astragalin, Isorhamnetin, Apigenin, Luteolin, Genistein, Epicatechin, Ferulic acid, Caffeic acid, Ellagic acid, Sinapic acid, Chlorogenic acid, Gallic acid, Salicylic acid, Vicenin-2, Rutin, Syringic acid, Cysteine, Kaempferide, Kaempferitrin, Kaempferol, D-mannose, Niaziminin, Niazin, Niazirin, Sinalbin, dan Procyanidin. Sementara itu, tiga senyawa lainnya, yaitu Daidzein, Methionine, dan Vanilin, diprediksi memiliki kemampuan untuk menembus BBB. Hasil ini sejalan dengan penelitian Cornelissen *et al.*, (2023), yang menyatakan bahwa kemampuan penetrasi BBB umumnya dipengaruhi oleh ukuran molekul yang lebih kecil, tingkat lipofilisitas yang lebih tinggi, serta polaritas yang lebih rendah. Senyawa dengan karakteristik fisikokimia tersebut masih berada dalam rentang yang mendukung penetrasi BBB sehingga diperkirakan mampu mencapai jaringan otak.

P-glycoprotein (*P-gp*) adalah protein transporter membran yang tergolong dalam keluarga *ATP-Binding Cassette* (ABC) dan diekspresikan oleh gen ABCB1. Protein ini berperan sebagai pompa efluks yang memanfaatkan energi dari hidrolisis ATP untuk mengeluarkan berbagai senyawa asing maupun obat dari dalam sel. Fungsi tersebut menjadi bagian penting dari sistem pertahanan biologis tubuh serta turut memengaruhi parameter

farmakokinetik, termasuk proses absorpsi, distribusi, dan eliminasi obat (Zhao et al., 2024). Berdasarkan hasil analisis terhadap 30 senyawa dalam daun kelor (*Moringa oleifera*), terdapat 13 senyawa yang diprediksi mampu menembus sawar darah otak (BBB permeability: Yes), yaitu *epicatechin*, *chlorogenic acid*, *vicenin-2*, *rutin*, *cysteine*, *kaempferide*, *kaempferitrin*, *kaempferol*, *methionine*, *D-mannose*, *niaziminin*, dan *niazin*. Dari sudut pandang farmakokinetik, status sebagai substrat P-gp dapat menjadi kurang menguntungkan karena senyawa berpotensi dipompa kembali keluar dari sel epitel usus, sehingga menurunkan konsentrasi obat dalam sirkulasi sistemik. Meskipun demikian, dalam kajian docking molekuler, karakteristik sebagai substrat P-gp tidak berpengaruh secara langsung terhadap nilai afinitas ligan terhadap reseptor. Faktor ini lebih berkaitan dengan aspek ketersediaan hayati dan performa obat secara in vivo. Dalam penelitian ini, sebagian besar senyawa uji menunjukkan hasil "No" pada parameter CYP1A2 inhibitor, kecuali empat senyawa yaitu *apigenin*, *luteolin*, *genistein*, dan *ellagic acid*. Hasil "No" pada sebagian besar senyawa menunjukkan risiko interaksi farmakokinetik yang relatif rendah dengan obat lain yang dimetabolisme oleh CYP1A2. Hal ini sejalan dengan penelitian Falconi et al., 2022 senyawa yang tidak menghambat CYP1A2 umumnya berpotensi memiliki profil

farmakokinetik yang lebih stabil, sehingga dapat meminimalkan perubahan kadar obat lain secara sistemik. Sebaliknya, pada penelitian yang dilakukan oleh Guo et al., 2021 identifikasi yang menunjukkan hasil "Yes" terhadap parameter CYP1A2 dalam uji ADME tetap menjadi aspek penting, karena interaksi dengan enzim ini dapat memengaruhi laju metabolisme obat dan meningkatkan risiko *drug-drug interactions* (DDIs). Oleh karena itu, evaluasi awal terhadap inhibisi CYP1A2 diperlukan untuk memperkirakan potensi interaksi metabolik, menilai keamanan terapeutik, serta mendukung perancangan strategi penyesuaian dosis pada tahap penelitian dan pengembangan obat.

Dari 30 senyawa daun kelor terdapat 4 senyawa yaitu *Apigenin*, *Luteolin*, *Genistein* dan *Ellagic acid* menunjukkan "Yes" dan 27 menunjukkan "No" pada CYP2C19 inhibitor, penelitian ini sejalan dengan penelitian Arimori et al., 2023 mengindikasikan bahwa senyawa uji tidak berpotensi menimbulkan interaksi farmakokinetik melalui jalur ini. Senyawa yang tidak menghambat CYP2C19 cenderung memiliki profil metabolik yang konsisten dan aman, terutama ketika digunakan bersama obat lain.

Seluruh senyawa menunjukkan "No" pada CYP2C9 inhibitor, yang berarti tidak ada indikasi penghambatan metabolisme obat lain yang dimetabolisme oleh CYP2C9. Hal ini sejalan dengan penelitian Zheng et al. 2021, senyawa

non-inhibitor terhadap CYP2C9 membantu mengurangi risiko perubahan kinetik obat lain yang signifikan, sehingga meningkatkan profil keamanan klinis.

Hasil prediksi ADME menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa tidak menghambat enzim CYP2D6, yang mengindikasikan profil interaksi metabolik yang rendah, kecuali 3 senyawa yaitu *Apigenin*, *luteolin* dan *genistein*. Senyawa yang tidak menghambat CYP2D6 umumnya memiliki profil metabolisme yang lebih stabil, sehingga lebih menguntungkan dalam pengembangan kandidat obat baru. Sebaliknya, senyawa yang menunjukkan potensi inhibisi CYP2D6 perlu mendapat perhatian khusus karena, Hal ini sejalan dengan penelitian *Lee et al.*, 2024 inhibisi aktivitas CYP2D6 dapat menyebabkan peningkatan *area under the curve* (AUC) dan konsentrasi plasma obat substratnya, yang berpotensi memengaruhi respons terapeutik serta meningkatkan risiko efek samping.

Hasil prediksi parameter ADME memperlihatkan bahwa mayoritas senyawa pada tabel tidak bersifat sebagai inhibitor enzim CYP3A4, sehingga secara teoritis memiliki risiko interaksi metabolik yang relatif rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian *Liu et al.*, 2023 yang menyebutkan bahwa ligan atau obat yang tidak menghambat CYP3A4 umumnya menunjukkan profil keamanan klinis yang lebih baik, karena tidak mengganggu proses metabolisme

obat lain yang dimediasi oleh enzim tersebut. Meskipun demikian, terdapat enam senyawa yang diprediksi berpotensi menghambat CYP3A4, yaitu *apigenin*, *luteolin*, *genistein*, *cysteine*, *methionine*, dan *procyanidin*. Keberadaan potensi inhibisi ini perlu menjadi perhatian lebih lanjut, khususnya terkait kemungkinan terjadinya interaksi obat-obat (*drug-drug interactions*). Hal ini selaras dengan laporan *Zhang et al.*, 2024 yang menyatakan bahwa CYP3A4 berperan dalam metabolisme sekitar 30–50% obat yang digunakan secara klinis. Oleh karena itu, interaksi antara ligan dan enzim ini dapat memberikan dampak signifikan terhadap profil farmakokinetik obat lain yang dimetabolisme melalui jalur yang sama.

Parameter *bioavailability score* dalam *SwissADME* didasarkan pada *Abbott Bioavailability Score*, yaitu skor probabilistik yang memprediksi kemungkinan suatu senyawa memiliki *bioavailabilitas* oral lebih dari 10% pada tikus. Dimana skor yang lebih tinggi (≥ 0.55) umumnya diartikan sebagai indikasi bahwa senyawa memiliki peluang yang lebih baik untuk diserap secara oral dan mencapai sirkulasi sistemik dalam konsentrasi yang cukup, sehingga sering digunakan sebagai kriteria seleksi awal kandidat obat dalam studi *in silico* (*Riyadi et al.*, 2021). Berdasarkan hasil analisis, sebagian besar senyawa menunjukkan skor *bioavailabilitas* $\geq 0,55$ yang

mengindikasikan potensi absorpsi oral yang baik. Namun, beberapa senyawa seperti *Isoquercetin*, *Astragalin*, *Isorhamnetin*, *Chlorogenic acid*, *Vicenin-2*, *Rutin*, *Kaempferitrin*, *Sinalbin*, dan *Procyanidin* memiliki skor di bawah ambang tersebut, yang mengindikasikan kemungkinan keterbatasan dalam absorpsi oral. Hal ini dapat disebabkan oleh karakteristik struktur kimia seperti tingginya polaritas atau keberadaan gugus glikosida yang dapat memengaruhi permeabilitas membran dan bioavailabilitas sistemik.

Hasil Parameter Toksisitas

Berdasarkan uji toksisitas pada yang telah dilakukan menggunakan aplikasi *Toxtree* terhadap 30 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan analisis menggunakan parameter *Cramer Rules*, diketahui bahwa *Isoquercetin*, *Astragalin*, *Isorhamnetin*, *Daidzein*, *Apigenin*, *Luteolin*, *Genistein*, *Epicatechin*, *Ellagic acid*, *Vicenin-2*, *Rutin*, *Cysteine*, *Kaempferide*, *Kaempferitrin*, *Kaempferol*, *Methionine*, *Niaziminin*, *Niazin*, *Niazirin*, *Sinalbin* dan *Procyanidin* termasuk dalam *High (Class III)*. Hal ini sejalan dengan penelitian Resvita *et al.*, (2020) menjelaskan bahwa senyawa-senyawa ini memiliki toksisitas yang tinggi karena mengandung gugus yang bersifat seaktif, yaitu struktur heterosiklik serta laktone atau siklik diester. Dan juga sejalan dengan penelitian Listyani *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur kimia yang

dianggap tidak aman atau berpotensi menyebabkan toksisitas yang signifikan. Sementara itu, senyawa *Ferulic acid*, *Caffeic acid*, *Sinapic acid*, *Gallic acid*, *Salicylic acid*, *Syringic acid*, *D-mannose* dan *Vanilin* termasuk dalam *Low (Class I)*, Penelitian dari Listyani *et al.*, (2022) menjelaskan bahwa senyawa dengan toksisitas rendah karena memiliki struktur kimia yang sederhana. Dan ada satu senyawa yang memiliki *Intermediate (Class II)* yaitu *Chlorogenic acid*. Struktur senyawa dianggap berada pada tingkat toksikologis menengah, yaitu lebih berpotensi toksik dibanding *Class I* tetapi belum mengandung gugus struktural yang kuat mengindikasikan toksisitas tinggi seperti pada *Class III*. Dengan demikian, senyawa tersebut masih dapat dipertimbangkan, tetapi perlu kehati-hatian dalam perancangan dosis, durasi penggunaan, serta verifikasi data toksisitas tambahan untuk memastikan keamanannya (Patlewicz, 2018).

Berdasarkan parameter *Carcinogenicity (genotox and nongenotox) and mutagenicity rulebase by ISS*, diketahui bahwa 16 senyawa uji daun kelor (*Moringa oleifera*) menunjukkan negatif terhadap genotoksik dan nongenotoksik karsinogenik. Hal ini menunjukkan senyawa-senyawa tersebut tidak bersifat karsinogenik. Parameter toksisitas *in vitro* melalui uji Ames digunakan untuk menilai potensi mutagenisitas suatu senyawa terhadap DNA bakteri, khususnya *Salmonella typhimurium*,

serta dievaluasi pula aspek karsinogenisitas genotoksik dan non-genotoksik. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan profil keamanan antar senyawa. Sebagian besar golongan asam fenolik, seperti *ferulic acid*, *sinapic acid*, *gallic acid*, *salicylic acid*, dan *syringic acid*, termasuk dalam *Class I* dengan hasil negatif terhadap *genotoksisitas*, *mutagenisitas*, maupun *karsinogenisitas non-genotoksik*. Hal ini menunjukkan potensi toksisitas yang rendah dan prospek keamanan yang baik untuk pengembangan lebih lanjut. Sebaliknya, beberapa flavonoid seperti *isoquercetin*, *astragalin*, *apigenin*, *luteolin*, *rutin*, *kaempferitrin*, dan *kaempferol* tergolong *Class III* karena adanya *structural alert* terhadap *genotoksisitas* dan *mutagenisitas*. Walaupun tidak menunjukkan *karsinogenisitas non-genotoksik*, keberadaan peringatan struktur tersebut mengindikasikan perlunya verifikasi melalui uji eksperimental lanjutan. Sementara itu, *chlorogenic acid* berada pada kategori *Class II (intermediate)*, dan *cysteine*, *methionine*, serta procyanidin termasuk *Class III* namun tanpa *alert genotoksik* utama, sehingga relatif memiliki profil keamanan yang lebih baik dibandingkan senyawa *Class III* lainnya.

Kandidat Senyawa Terpilih

Sinapic acid dari daun kelor (*Moringa oleifera*) dipilih sebagai kandidat senyawa antiinflamasi baru karena menunjukkan keseimbangan optimal antara efektivitas, farmakokinetik, dan

keamanan. Hasil docking molekuler mengindikasikan afinitas ikatan kuat terhadap enzim siklooksigenase-2 (COX-2) dengan energi bebas ikatan (ΔG) sebesar -6.7 kcal/mol, melibatkan interaksi ligan-reseptor pada residu asam amino yang serupa dengan ligan natif dan kontrol positif, sehingga berpotensi menghambat sintesis prostaglandin sebagai mediator inflamasi utama. Selain itu, senyawa ini memenuhi kriteria Lipinski's Rule of Five—dengan berat molekul relatif kecil, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen yang sesuai, serta lipofilisitas moderat—yang mendukung bioavailabilitas oral, absorpsi, dan distribusi superior dibandingkan polifenol kompleks atau glikosida lain dari kelor. Prediksi toksisitas melalui Toxtree mengonfirmasi sifat non-mutagenik dan non-karsinogenik, memperkuat profil keamanannya. Dengan demikian, *sinapic acid* menjanjikan untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai agen antiinflamasi berbasis alam.

KESIMPULAN

Interaksi antara 30 senyawa daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan residu asam amino reseptor COX-2, terdapat 20 senyawa yang memiliki pola interaksi yang sama dengan ligan natif (*Valdecoxib*) dan kontrol positif (*Celecoxib*). 20 senyawa ligan uji tersebut memiliki nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ dari rentang -8.8 sampai -4.0 dan nilai RMSD dari rentang 1.024-1.485.

Hasil prediksi toksisitas dari 30 senyawa daun kelor menunjukkan 8 senyawa yaitu *Ferulic acid*, *Caffeic acid*, *Sinapic acid*, *Gallic acid*, *Salicylic acid*, *Syringic acid*, *D-mannose* dan *Vanilin* dengan parameter *Cramer Rules* memiliki kategori toksisitas yang rendah (*Class I*). Diperoleh hasil senyawa terbaik yaitu *Sinapic acid* dengan RMSD 1.168 dan ΔG -6,7, ikatan residu asam amino spesifik seperti ligan natif dan control positif, memenuhi ADME kriteria *Lipinski's Rule of Five* dan kategori toksisitas rendah (*class I*) berdasarkan *cramer rules*.

SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengisolasi atau mensintesis senyawa aktif daun kelor dengan nilai ΔG terbaik serta profil ADME dan toksisitas yang paling potensial, kemudian mengembangkannya dalam sediaan oral sebagai kandidat antiinflamasi berbasis inhibitor COX-2. Selain itu, diperlukan uji *in vivo* pada hewan percobaan guna mengonfirmasi hasil *in silico* dan memvalidasi efektivitas antiinflamasinya sebagai dasar pengembangan obat lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Arimori, K., et al. (2023). *Evaluation of CYP2C19 inhibition potential and pharmacokinetic interaction risk using in silico approaches. Journal of Pharmaceutical Sciences*
- Artasya, R., & Parapasan, S. (2020). *Ginger as Anti-Inflammatory. Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(3), 309–316.
- <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i3.144>
- Arya, M., Rathour, K.S., Tiwari, A., Chauhan, V.S. Dan Taj, G.. (2022) "Molecular Docking Studies Of COX-2 Protein With 8-Deoxylactucin Of *Cichorium Intybus L.* Involved In Anti-Inflammation Activity," *Annals Of Phytomedicine: An International Journal*, 11(1). Available At: <https://doi.org/10.54085/ap.2022.11.1.41>
- Falconi, M., et al. (2022). *In silico prediction of cytochrome P450 inhibition and its impact on pharmacokinetic stability. Journal of Molecular Modeling*
- Gelabert-Mora, A. Et Al. (2025) "Global Trends In Immune Mediated Inflammatory Diseases: Psoriasis, Atopic Dermatitis, Multiple Sclerosis, Inflammatory Bowel Disease, And Rheumatoid Arthritis," *JAAD International*, 18, Pp. 177–179. Available At: <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2024.11.003>.
- Guo, J. Et Al. (2021) "Metabolism And Mechanism Of Human Cytochrome P450 Enzyme 1A2," *Current Drug Metabolism*, 22(1), Pp. 40–49. Available At: <https://doi.org/10.2174/1389200221999210101233135>.
- Goutam, A., et al. (2024). *Molecular docking: Principles, algorithms, and applications in drug discovery. Journal of Computational Chemistry*
- Husien, H.M. Et Al. (2024) "The Anti-Inflammatory Properties Of Polysaccharides Extracted From *Moringa Oleifera* Leaves On IEC6 Cells Stimulated With Lipopolysaccharide *In Vitro*," *Animals*, 14(23), P. 3508. Available At: <https://doi.org/10.3390/ani14233508>.
- Lee, J. Et Al. (2024) "A Review Of CYP-Mediated Drug Interactions: Mechanisms And *In Vitro* Drug-Drug Interaction Assessment," *Biomolecules*, 14(1), P. 99. Available At:

- <https://doi.org/10.3390/Biom14010099>.
- Listyani, T.A., Fauzi, F. And Wardani, T.S. (2022) *In Silico Adme And Toxicity Studies Of Derivative Phthalimide Compounds As Non-Nucleoside Hiv-1 Reverse Transcriptase Inhibitor*, *Global Health Science Group*. Available At: <http://jurnal.globalhealthsciencegroup.com/index.php/PICNHS>
- Listyani, T.A., Herowati, R. And Djaliasrin Djalil, A. (2019) "Analisis Docking Molekuler Senyawa Derivat *Phthalimide* Sebagai Inhibitor Non-Nukleosida *HIV-1 Reverse Transcriptase Molecular Docking Analysis Of Derivate Phthalimide Compounds As Non-Nucleosida HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor*," 15(2), Pp. 123–134. Available At: <http://ejournal.setiabudi.ac.id/ojs/index.php/farmasi-indonesia>.
- Liu YN, Chen J, Wang J, et al. *Effects of drug–drug interactions and CYP3A4 variants on alectinib metabolism*. *Arch Toxicol*. 2023;97(8):2133–2142.
- Naufa, F. Et Al. (2022) *Studi In Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (Camellia Sinensis) Sebagai Antivirus SARS Cov-2 Terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) Dan Main Protease (5R7Y)*, *J.Food Pharm.Sci*. Available At: www.journal.ugm.ac.id/V3/JFPA
- Patlewicz, G. (2018). *Non-animal approaches in toxicology: Read-across and mechanistic toxicology*. *Toxicology Research*, 7(2), 250–262. <https://doi.org/10.1039/C7TX00205F>
- Pratama, A.B., Herowati, R. And Ansory, H.M. (2021) "Studi *Docking Molekuler Senyawa Dalam Minyak Atsiri Pala (Myristica Fragrans H.) Dan Senyawa Turunan Miristisin Terhadap Target Terapi Kanker Kulit*," *Majalah Farmaseutik*, 17(2), P. 233. Available At: <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v17i2.59297>.
- Resvita R, et al. Prediksi toksisitas senyawa bioaktif menggunakan aplikasi Toxtree berdasarkan Cramer Rules. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia*. 2020;17(2):466–477.
- Riyadi, P.H., Sari, I.D., Kurniasih, R.A., Agustini, T.W., Swastawati, F., Herawati, V.E. dan Tanod, W.A., 2021. SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Spirulina platensis*. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 890, No. 1, p. 012021). IOP Publishing.
- Soleha, M., Isnawati, A., Fitri, N., Adelina, R., Soblia, H. T., & Winarsih, W. (2018). Profil penggunaan obat antiinflamasi nonstereoid di Indonesia. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 8(2), 109–117.
- Suryasaputra, D., Anugrah, R., Ikhsan, A., & Rismaya, R. (2024). *Hubungan kuantitatif struktur-aktivitas, molecular docking dan evaluasi in vitro beberapa flavonoid tanaman sebagai inhibitor COX-2*. *Farmasains: Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, 6(1), 2562. <https://doi.org/10.22236/farmasains.v6i1.2562>
- Young, R.J. (2023) "Today's Drug Discovery And The Shadow Of The Rule Of 5," *Expert Opinion On Drug Discovery*, 18(9), Pp. 965–972. Available At: <https://doi.org/10.1080/17460441.2023.2228199>.