

repository.ub.ac.id

ANALISIS *IN-SILICO* SENYAWA BIOAKTIF JAHE (*Zingiber officinale*) SEBAGAI ANTI-INFLAMASI MELALUI PENGHAMBATAN SEKRESI PROSTAGLANDIN

SKRIPSI

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam Bidang Biologi**

oleh
Gabriella Chandrakirana Krisnamurti
155090107111001



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

ANALISIS *IN-SILICO* SENYAWA BIOAKTIF JAHE (*Zingiber officinale*) SEBAGAI ANTI-INFLAMASI MELALUI PENGHAMBATAN SEKRESI PROSTAGLANDIN

GABRIELLA CHANDRAKIRANA KRISNAMURTI
155090107111001

Telah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 21 Desember 2018

dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui
Pembimbing

Prof. Fatchiyah, M.Kes, Ph.D
NIP 196311271989032001

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., Ph.D
NIP 197001281994122001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gabriella Chandrakirana Krisnamurti
NIM : 155090107111001
Jurusan : Biologi
Penulis Skripsi berjudul : Analisis *In-Silico* Senyawa Bioaktif Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Anti-Inflamasi melalui Penghambatan Sekresi Prostaglandin

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 21 Desember 2018
Yang menyatakan,

Gabriella Chandrakirana Krisnamurti

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Gabriella Chandrakirana Krisnamurti
NIM : 155090107111001
Jurusan : Biologi
Penulis Skripsi berjudul : Analisis *In-Silico* Senyawa Bioaktif Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Anti-Inflamasi Melalui Penghambatan Sekresi Prostaglandin

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan/referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 14 Desember 2018
Yang menyatakan,

Gabriella Chandrakirana Krisnamurti

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



repository.ub.ac.id

Analisis *In-Silico* Senyawa Bioaktif Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Anti-Inflamasi Melalui Penghambatan Sekresi Prostaglandin

Gabriella C.K., Fatchiyah

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Brawijaya
2018

ABSTRAK

Inflamasi menimbulkan rasa nyeri yang disebabkan oleh peningkatan sekresi prostaglandin oleh protein siklooksigenase. Kinerja siklooksigenase perlu dihambat untuk mengurangi inflamasi. Penghambatan dilakukan oleh senyawa atau obat salah satunya acetaminophen dan bioaktif senyawa dari jahe yang berikatan pada sisi katalitik siklooksigenase Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi interaksi acetaminophen, 10-shogaol, dan 10-gingerol terhadap COX-1/COX-2 dan mengetahui selektivitas acetaminophen, 10-shogaol, dan 10-gingerol dipengaruhi pelarut terhadap COX-1/COX-2 melalui *energy binding*. Analisis dilakukan secara *in silico*. Protein COX-1 (1EQG) dan COX-2 (6COX) diperoleh dari PDB dan ligan acetaminophen (CID1983), 10-shogaol (CID6442612), dan 10-gingerol (CID1681115) diperoleh dari PubChem. Preparasi protein dilakukan menggunakan Discovery Studio 3.5 dan ligan menggunakan PyRx 0.8. Perlakuan yang digunakan yaitu *docking* dengan HEX 8.0 kemudian membandingkan interaksi menggunakan Discovery Studio 3.5. Analisis *energy binding* dan penambahan pelarut menggunakan LeadIT Biosolve 2.3.2. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan ligan berada pada sisi katalitik dan memiliki tiga residu asam amino yang diduga menjadi kunci dari interaksi tersebut, yaitu Pro 542, Leu 224, dan Leu 238. Senyawa 10-shogaol cenderung menghambat COX-1 sedangkan acetaminophen dan 10-gingerol menghambat COX-2. Efisiensi ligan an *energy binding* yang paling baik dimiliki oleh 10-gingerol yang diberi pelarut. Pelarut berupa DMSO dapat menurunkan *energy binding* dan meningkatkan efisiensi ligan. Selektivitas interaksi tidak

dapat teridentifikasi maksimal dengan *energy binding* karena energi yang dibutuhkan ligan untuk berinteraksi dengan COX-1 atau COX-2 sama. Senyawa 10-gingerol dalam hal ini berinteraksi dengan residu asam amino yang sama dengan acetaminophen dan diprediksi 10-gingerol dapat menggantikan acetaminophen, namun penelitian ini masih membutuhkan identifikasi lebih lanjut.

Kata kunci: Acetaminophen, COX, gingerol, prostaglandin, shogaol.



In-Silico Analysis of Ginger (*Zingiber officinale*) Bioactive Compounds through Inhibition of Prostaglandin Secretion

Gabriella C.K., Fatchiyah

Biology Department, Mathematics and Natural Science Faculty,
Brawijaya University
2018

ABSTRACT

Inflammation causes pain which occurred because of excess prostaglandin secretion by cyclooxygenase. Cyclooxygenase function must be inhibited to reduce inflammation. Inhibition was done by bioactive compound or drug, acetaminophen and ginger bioactive compounds, which bind to cyclooxygenase catalytic sites. Aims of this study are to identify interaction of acetaminophen, 10-shogaol, and 10-gingerol towards COX-1/COX-2 and to identify the selectivity of ligands affected by solvent towards COX-1/COX-2. Selectivity of interactions is defined by binding energy. Analysis was done in in-silico. COX-1 protein (1EQG) and COX-2 (6COX) were obtained from PDB, whether ligands acetaminophen (CID1983), 10-shogaol (CID6442612), and 10-gingerol (CID1681115) were obtained from PubChem. Protein preparation was done by Discovery Studio 3.5 and ligands were done by PyRx 0.8. Proteins and ligands were docked using HEX 8.0 then compared the interaction using Discovery Studio 3.5. Energy binding analysis and solvent treatment were done by LeadIT Biosolve 2.3.2. The result state that interaction of COX-1 and/or COX-2 with ligands occurred in catalytic sites and have three amino acid residues which predicted as essential factor in those interactions. Those three amino acid residues are Pro 542, Leu 224, and Leu 238. The 10-shogaol likely inhibits COX-1, whether acetaminophen and 10-gingerol likely inhibit COX-2. Good Ligand efficiency and energy binding owned by 10-gingerol with solvent. The DMSO as solvent reduces energy binding and increase ligand efficiency. The selectivity of those interactions did not identified properly because energy which spent for ligand to interact with COX-1 or COX-2 are same. The 10-gingerol has same amino acid

residue with acetaminophen and predicted that 10-gingerol can alternate acetaminophen, but this study still need further research.

Keywords: Acetaminophen, COX, gingerol, prostaglandin, shogaol.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Yesus Kristus dan Bunda Maria atas segala berkat dan perlindunganNya, penulis dapat menyelesaikan penulisan proposal skripsi sebagai syarat mendapatkan gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang.

Melalui pengantar ini, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Prof. Fatchiyah, M.Kes, Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang telah mendampingi dan memberi pengarahan dalam penulisan serta ilmu dan saran-saran bagi penulis.
2. Bapak Dr. Sentot Joko Raharjo, M.Si dan Eko Suyanto, S.Si, M.Sc sebagai dosen penguji yang telah memberi saran yang bermanfaat bagi penyusunan skripsi dan seminar hasil mendatang.
3. Orang tua penulis atas dukungan moral maupun material serta doa sehingga mempermudah penulis dalam menyusun proposal skripsi.
4. Teman-teman Biologi UB angkatan 2015 yang memberi motivasi kepada penulis.
5. Teman-teman WG Smonagenes UB telah memberikan dukungan serta masukan kepada penulis.

Saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk menjadikan karya ini semakin bermanfaat.

Malang, Desember 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN	i
PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI	ii
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiii
BAB I	1
1.1 Latar Belakang	1
1.1 Rumusan Masalah	3
1.1 Tujuan Penelitian	3
1.1 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
1.1 Aktivitas Siklooksigenase terhadap Sintesis Prostaglandin dan Inflamasi	4
2.2 Penghambatan Sintesis Prostaglandin E ₂ oleh Acetaminophen	6
2.3 Bioaktivitas Senyawa Gingerol dan Shogaol Jahe (<i>Zingiber officinalis</i> Roscoe) pada Siklooksigenase	8
2.4 Struktur Protein COX-1 dan COX-2.....	11
BAB III METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 <i>Data Mining</i>	14
3.3 Prediksi Bioaktivitas Senyawa	14
3.4 Preparasi Ligan dan Protein	14
3.5 <i>Docking</i> dan Analisis Data	14
3.6 Rancangan Penelitian	14
3.7 Jadwal Penelitian	15
3.8 Kerangka Operasional Penelitian	15
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1 Prediksi Sifat dan Potensi Senyawa dengan	viii

Molinspiration	17
4.2 Interaksi Protein COX-1/COX-2 terhadap Ligan	19
4.3 <i>Energy binding</i> Protein COX-1 dan COX-2 dengan Ligan	27
BAB V PENUTUP	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	41



DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1	Kandungan utama jahe 10
2	Komposisi bioaktif senyawa pada jahe 11
3	Prediksi sifat senyawa berdasarkan molinspiration 17
4	Prediksi bioaktivitas senyawa dengan molinspiration.. 17
5	Interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan 20
6	Energy binding dan efisiensi ligan interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan 28



DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Mekanisme sintesis prostaglandin	5
2	Struktur kimia acetaminophen	7
3	<i>Pathway</i> penghambatan sintesis prostaglandin E ₂ oleh acetaminophen	8
4	Sisi aktif COX	13
5	Area COX-1 dan COX-2 yang dapat diakses oleh pelarut (<i>solvent</i>)	13
6	Interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan (2 Dimensi)	22
7	Interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan (3 Dimensi)	23
8	Struktur kristalografi COX-1 dan COX-2	25



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Interaksi COX-1 dengan acetaminophen	41
2	Interaksi COX-1 dengan 10-gingerol	42
3	Interaksi COX-1 dengan 10-shogaol	43
4	Interaksi COX-2 dengan acetaminophen.....	44
5	Interaksi COX-2 dengan 10-gingerol	45
6	Interaksi COX-2 dengan 10-shogaol	46
7	Penentuan <i>energy binding</i> dan efisiensi ligan dengan LeadIT tanpa pelarut.....	47
8	Penentuan <i>energy binding</i> dan efisiensi ligan dengan LeadIT dengan pelarut	48



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

AA	: Asam arakidonat
cAMP	: <i>cyclic adenosine monophosphate</i>
COX	: Siklooksigenase
CRTH2	: <i>Chemoattractant homologous receptor Th 2 cells</i>
DP	: Reseptor PGD
EP	: Reseptor PGE ₂
FP	: Reseptor PGF _{2α}
IP	: Reseptor PGI ₂
IP3	: Inositol trifosfat
LC MS-MS	: <i>Liquid chromatography mass spectrometry</i>
LPS	: Lipopolisakarida
MAPK	: <i>Mitogen-associated protein kinase</i>
NSAIDs	: <i>Non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
ns-NSAIDs	: <i>Non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
PG	: Prostaglandin
PGDS	: Prostaglandin D synthase
PGES	: Prostaglandin E synthase
PGFS	: Prostaglandin F synthase
PGIS	: Prostaglandin I synthase
PGI ₂	: Prostasiklin
PGT	: Prostaglandin transporter
PLA2	: fosfolipase A2
POX	: peroksidase
RhoGEF	: <i>Small G-protein Rho</i>
s-NSAIDs	: <i>Selective non-steroidal anti-inflammatory drugs</i>
TP	: Reseptor TX
TXA ₂	: Tromboksan A ₂
TXS	: Tromboksan <i>synthase</i>
VSMC	: <i>Vascular smooth muscle cell</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rasa nyeri merupakan salah satu penyakit yang sering diderita masyarakat Indonesia. Data dari Dinas Kesehatan Semarang tahun 2016 menyatakan bahwa angka morbiditas akibat rasa nyeri mencapai 10.193 jiwa (Dinas Kesehatan Semarang, 2016). Salah satu contoh rasa nyeri yang sering terjadi yaitu pada endometrial (Sales & Jabbour, 2003). Rasa nyeri merupakan respon adanya kerusakan jaringan atau inflamasi (Demir, 2012). Inflamasi merupakan respon sistem imun terhadap infeksi dan kerusakan jaringan yang menyebabkan peningkatan produksi prostaglandin (PG) di dalam tubuh. Produksi PG dipengaruhi oleh aktivitas siklooksigenase (COX) yang dikenal sebagai *isoform* COX-1 dan COX-2 (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Isoform COX yaitu COX-1 dan COX-2 memiliki ekspresi yang berbeda pada jaringan. COX-1 diekspresikan di sebagian besar jaringan normal sedangkan COX-2 tidak terekspresi pada sel endotel dan pembuluh otot polos yang normal karena ekspresi COX-2 diinduksi oleh mediator proinflamasi (Dannhardt & Kiefer, 2001; Streicher & Wang, 2008; Sellers dkk., 2010). Ekspresi COX-2 tinggi pada jaringan yang mengalami inflamasi. Semakin tinggi inflamasi, maka respon inflamasi berupa rasa nyeri akan meningkat. Rasa nyeri dapat ditekan dengan menurunkan sintesis PG melalui penghambatan COX (Dannhardt & Kiefer, 2001; Rouzer & Marnett, 2009).

Sintesis PG melalui COX dapat dihambat oleh acetaminophen atau *non-steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAIDs) yaitu obat yang menimbulkan efek analgesik, antipiretik, dan anti-inflamasi (Zarghi & Arfaei, 2011; Raharjo dkk., 2014; Rouzer & Marnett, 2009). Penghambat COX yaitu NSAIDs tergolong menjadi dua yaitu *selective* NSAIDs (s-NSAIDs) dan *nonselective* NSAIDs (ns-NSAIDs). Perbedaan s-NSAIDs dan ns-NSAIDs adalah target penghambatannya. Target penghambatan s-NSAIDs adalah COX-2, sedangkan ns-NSAIDs menghambat COX-1 dan COX-2 (Sellers dkk., 2010). Obat yang berpotensi sebagai anti-inflamasi dengan efek samping yang minimal yaitu selektif menghambat COX-2 (Hinz dkk., 2008; Hinz & Brune, 2012;

Breemen dkk., 2011). Penghambatan COX-1 menyebabkan efek samping seperti radang gastrointestinal (Dannhardt & Kiefer, 2001; Raharjo dkk., 2014).

Hinz dkk (2008) menemukan bahwa aktivitas penghambatan yang dilakukan oleh acetaminophen cenderung selektif COX-2 berdasarkan nilai IC_{50} in vitro yaitu $25,8 \pm 1,8 \mu\text{mol/L}$ untuk COX-2 sedangkan $113,7 \pm 17,2 \mu\text{mol/L}$ pada COX-1. Acetaminophen merupakan *inhibitor* lemah bagi COX-1 dan tergolong aman dibandingkan obat yang lain, namun acetaminophen dapat menimbulkan radang gastrointestinal dan memicu peningkatan tekanan darah pada dosis dan waktu penggunaan tertentu (Munsterhjelm dkk., 2005; Hinz dkk., 2008; Hinz & Brune 2012; Turtle dkk., 2013).

Efek samping akibat konsumsi obat-obatan dapat dikurangi dengan mengonsumsi tanaman herbal yang memiliki kemampuan sama seperti obat (Hussain, 2011; Karimi dkk. 2015). Efek anti-inflamasi dan analgesik serupa dapat dilakukan oleh senyawa pada jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) (Lantz dkk., 2007; Dugasani dkk., 2010). Senyawa yang terdapat pada jahe dapat melakukan penghambatan terhadap COX-2 untuk menurunkan produksi PG (Koo dkk., 2001; Tjendraputra dkk., 2001; Breemen dkk., 2011). Penelitian Funk dkk (2009) menyatakan bahwa jahe secara efektif menghambat aktivitas COX-2 yang diketahui dengan penurunan produksi prostaglandin E_2 (PGE_2). Berdasarkan penelitian Breemen dkk (2011), senyawa jahe merupakan penghambat potensial COX yang selektif menghambat COX-2. Penelitian-penelitian terdahulu tersebut menyatakan bahwa senyawa pada jahe memiliki peran dalam menghambat COX-2. Senyawa yang berperan dalam penghambatan COX-2 adalah gingerol dan shogaol (Lantz dkk., 2007; Dugasani dkk., 2010; Mashhadi dkk., 2013). Berdasarkan uji IC_{50} , senyawa yang berpotensi menghambat aktivitas COX-2 untuk memproduksi PGE_2 adalah 10-gingerol (Lantz dkk., 2007) dan 10-shogaol (Breemen 2011).

Jahe dipilih untuk menggantikan acetaminophen karena senyawa bioaktif jahe memiliki fungsi yang sama namun meminimalisir efek samping yang ditimbulkan (Wilson, 2015; Rayati dkk., 2017). Potensi senyawa bioaktif dari alam yang dapat menggantikan fungsi obat perlu dikaji lebih lanjut, salah satunya

repository.ub.ac.id

melalui *in silico*. Metode ini perlu dilakukan sebagai analisis awal dalam mengembangkan desain obat. Acetaminophen dalam penelitian ini digunakan sebagai pembanding 10-shogaol dan 10-gingerol. Melalui penelitian ini, diharapkan senyawa aktif dari jahe memiliki potensi untuk menggantikan acetaminophen sebagai obat anti-inflamasi dan analgesik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah

1. Bagaimanakah interaksi acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol terhadap COX-1 dan/atau COX-2?
2. Apakah terjadi selektivitas acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol dipengaruhi ada tidaknya pelarut terhadap COX-1/COX-2 melalui *energy binding*?

1.3 Tujuan

Tujuan dilaksanakan penelitian ini adalah

1. Mengidentifikasi interaksi acetaminophen, 10-shogaol, dan 10-gingerol terhadap COX- dan/atau COX-2.
2. Mengetahui selektivitas acetaminophen, 10-shogaol, dan 10-gingerol dipengaruhi ada tidaknya pelarut terhadap COX-1 dan/atau COX-2 melalui *energy binding*.

1.4 Manfaat

Penelitian ini bermanfaat dalam memberikan informasi kepada masyarakat luas bahwa fungsi obat dapat digantikan dengan mengonsumsi bahan alam yang memiliki fungsi yang sama. Hasil penelitian ini juga dapat dikembangkan untuk desain obat anti-inflamasi dan analgesik berbahan herbal.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Aktivitas Siklooksigenase terhadap Sintesis Prostaglandin dan Inflamasi

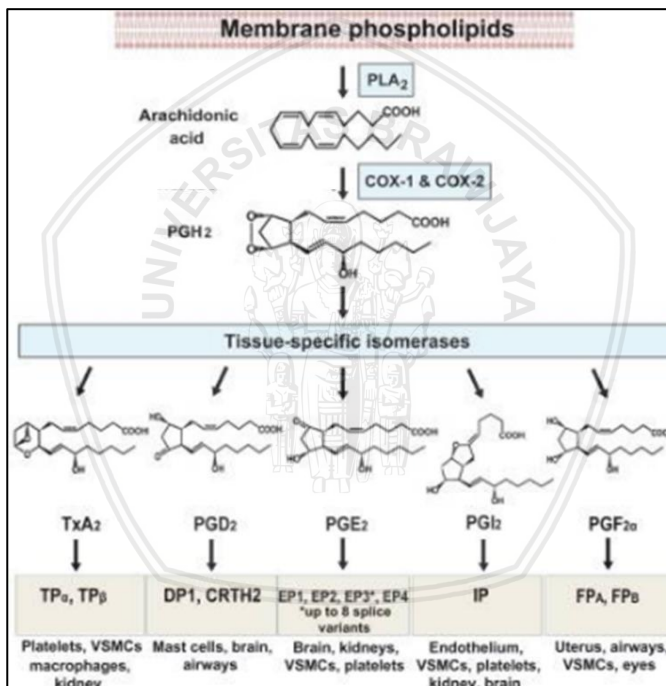
Siklooksigenase yang juga dikenal dengan *prostaglandin endoperoxide synthase* merupakan tipe enzim oksidoreduktase yang berperan dalam pembentukan modulator biologi seperti PG, prostasiklin (PGI_2) dan tromboksan (TXA_2) dari asam arakidonat (AA) (Barot dkk., 2013). Siklooksigenase mengatalis reaksi konversi AA dan O_2 menjadi Prostaglandin H_2 (PGH_2). Sintesis PG oleh COX dilakukan oleh isoform COX yaitu COX-1 dan COX-2 (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Isoform COX yaitu COX-1 dan COX-2 memiliki mekanisme yang sama dalam sintesis PG, namun memiliki ekspresi yang berbeda dalam sel. Siklooksigenase-1 diekspresikan pada jaringan normal sedangkan COX-2 diinduksi oleh mediator proinflamasi. Siklooksigenase-1 dominan terdapat pada pembuluh dalam keadaan normal dan ekspresinya berada pada sel endotel. Hal tersebut berlawanan dengan COX-2 yang tidak terekspresi pada sel endotel normal maupun sel pembuluh otot polos, namun ekspresinya dipengaruhi sebagai respon inflamasi (Sellers dkk., 2010).

Sintesis PG sebagai respon inflamasi terjadi diawali dengan sekresi AA oleh membran fosfolipid dengan baktuan fosfolipase A_2 . Asam arakidonat kemudian dioksidasi oleh enzim COX yang kemudian mengalami penambahan 15-hidroksiperoksi membentuk prostaglandin G_2 (PGG_2) selanjutnya direduksi menjadi kelompok hidroksi oleh PGH_2 . Prostaglandin H_2 kemudian menghasilkan isomernya berupa TXA_2 , PGI_2 , prostaglandin D_2 (PGD_2), prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$), dan PGE_2 . Kelompok PG yaitu PGI_2 , PGD_2 , $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 secara primer merupakan derivat COX-2 sedangkan TXA_2 merupakan derivat COX-1 (Gambar 1). Setiap isomer PG memiliki reseptor yang berbeda serta ekspresi pada sel yang berbeda (Sellers dkk., 2010; Ricciotti & FitzGerald, 2011).

Tromboksan A_2 memiliki reseptor spesifik yaitu reseptor tromboksan (TP) berupa TP_α dan TP_β . Ekspresi TXA_2 berada pada keping darah *vascular smooth muscle cell* (VSMC), makrofag, dan ginjal. Reseptor PGI_2 yaitu IP yang ekspresinya terdapat pada

endotel, VSMC, keping darah, ginjal, dan otak. Prostaglandin D₂ memiliki reseptor yaitu DP1 dan CRTH2 (*Chemoattractant homologous receptor Th 2 cells*) dan diekspresikan pada sel *mast*, otak, dan saluran pernafasan. Reseptor PGF_{2α} (FP) terdiri dari FPA dan FPB serta memiliki ekspresi pada uterus, saluran pernafasan, VSMC, dan mata. Reseptor PGE₂ atau EP yang terdiri dari EP1, EP2, EP3, dan EP4. Ekspresi EP terdapat pada otak, ginjal, VSMC, dan keping darah. Setiap reseptor juga memiliki *pathway* pensinyalan yang berbeda-beda sehingga menyebabkan *upstream* serta *downstream* pada *pathway* yang berbeda (Ricciotti & FitzGerald, 2011).



(Ricciotti & FitzGerald, 2011)

Gambar 1. Mekanisme sintesis prostaglandin

Pasangan reseptor prostanoid melakukan *pathway* pensinyalan intraseluler yang memediasi aktivasi reseptor dalam sel. Reseptor EP2, EP4, IP, dan DP1 mengaktifasi adenyl cyclase

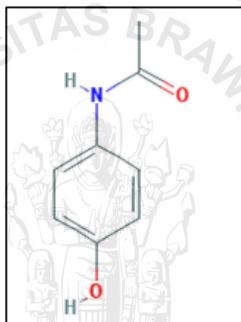
melalui reseptor Gs dan meningkatkan *cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) intraselular. Reseptor EP1 dan FP mengaktivasi metabolisme fosfatidilinositol melalui reseptor Gq dan memicu pembentukan inositol trifosfat (IP3) dengan mobilisasi kalsium intraselular (Ca^{2+}). Reseptor FP bergabung dengan *small G*-protein Rho (RhoGEF) melalui mekanisme Gq-independen. Kelompok reseptor TP memiliki dua target yaitu reseptor Gq (G1, G11, G15, G16) dan G13 (G12, G13). Mekanisme melalui Gq menyebabkan aktivasi fosfolipase C sedangkan G13 menyebabkan aktivasi faktor perubahan nukleotida guanin dari RhoGEF. Reseptor tromboksan dapat pula bergabung dengan fosfolipase C melalui Gh serta bergabung dengan adenylate siklase melalui Gi dan Gs. Kedua isoform TP berkaitan dalam aktivasi fosfolipase C, namun TP_{α} menstimulasi sedangkan TP_{β} menghambat. Isoform EP2 dapat bergabung dengan Gi atau G12 untuk meningkatkan Ca^{2+} intraselular, menghambat proses cAMP, dan mengaktivasi RhoGEF. Penghambatan sintesis cAMP dan peningkatan Ca^{2+} intraselular dilakukan pula oleh DP2/CRTH2 melalui Gi-tipe G protein (Ricciotti & FitzGerald, 2011).

2.2 Penghambatan Sintesis Prostaglandin E_2 oleh Acetaminophen

Acetaminophen (N-(4-hydroxyphenyl ethanamide)) (Gambar 2) merupakan derivat non-opioid sintetis dari paminofenol. Acetaminophen tergolong dalam analgesik non-opioid antipiretik. Struktur acetaminophen yaitu memiliki inti benzene yang disubstitusi oleh kelompok hidrogen dan atom nitrogen dalam kelompok amida di posisi para (1,4). Senyawa acetaminophen tergolong dalam kelompok asam lemah (Srabovic dkk., 2017). Senyawa acetaminophen biasa dikenal dengan nama paracetamol yang memiliki efek analgesik dan bekerja dengan mengambat COX dalam sintesis PG (Fiebich dkk., 2000; Hinz dkk., 2008; Hinz & Brune, 2012; Turtle dkk., 2013).

Mekanisme penghambatan sintesis PGE_2 oleh acetaminophen dilakukan melalui interaksi acetaminophen dengan COX (Gambar 3). Mekanisme penghambatan ini berperan dalam mengurangi rasa nyeri pada endometrium. Membran fosfolipid yang menerima respon inflamasi kemudian mensekresi fosfolipase A_2

(PLA₂) dan digunakan oleh COX serta spesifik sintase PG untuk membentuk PG dan TXA₂. Hasil sintesis kemudian ditranspor oleh prostaglandin *transporter* (PGT) keluar dari sel menggunakan sinyal autokrin dan parakrin. Sinyaling tersebut dilakukan dengan berikatan ke reseptor heptahelix transmembran untuk mengaktifasi sinyaling intraselular. Mekanisme penghambatan oleh acetaminophen menyebabkan penghambatan biosintesis PG dan efek *downstream* pada inositol trifosfat (IP₃), mitogen-associated protein kinase (MAPK), prostaglandin D *synthase* (PGDS), prostaglandin E *synthase* (PGES), prostaglandin F *synthase* (PGFS), prostaglandin I *synthase* (PGIS), dan thromboxane *synthase* (TXS) (Sales & Jabbour, 2003). Mekanisme penghambatan sintesis PG oleh acetaminophen dapat terjadi karena terdapat interaksi yang antara acetaminophen dengan COX, namun selektif COX-2 (Turtle, dkk., 2013).



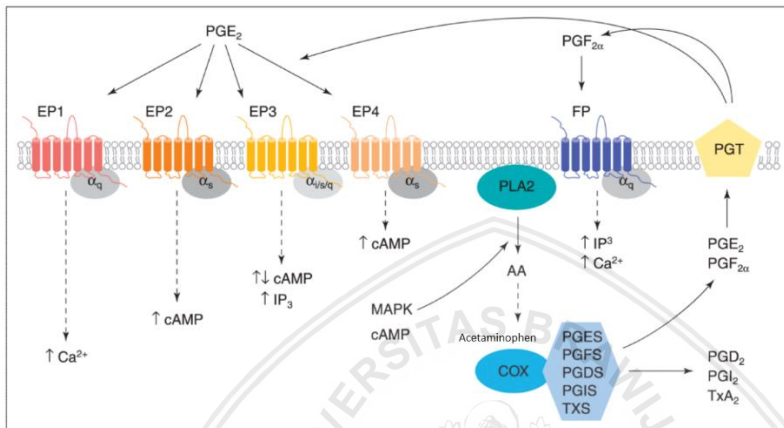
(National Center for Biotechnology Information, 2018)

Gambar 2. Struktur kimia acetaminophen

Acetaminophen menurut Hinz dkk (2008) bekerja selektif menghambat COX-2. Hal tersebut ditandai dengan nilai IC₅₀ penghambatan COX secara *in vitro* yaitu COX-2 25.8 ± 1.8 µmol/L sedangkan COX-1 adalah 113.7 ± 17.2 µmol/L. Nilai IC₅₀ penghambatan COX secara *ex vivo* menyatakan bahwa COX-2 lebih rendah dibandingkan COX-1 (COX-2 adalah 26.3 µmol/L, COX-1 adalah 105.2 µmol/L). Berdasarkan nilai tersebut dapat disimpulkan bahwa acetaminophen lebih selektif terhadap COX-2.

Acetaminophen selektif menghambat COX-2, namun pada dosis tertentu, acetaminophen dapat menimbulkan radang

gastrointestinal (Hinze dkk., 2008; Derry dkk., 2012). Hal tersebut dapat terjadi karena acetaminophen menghambat pada COX-1 namun penghambatan yang dilakukan bersifat moderat, ditandai dengan aktivitas anti-serum yang lemah dan tingkat keamanan gastrointestinal yang baik (Hinze dkk., 2008).



(Sales & Jabbour, 2003)

Gambar 3. *Pathway* penghambatan sintesis prostaglandin E₂ oleh acetaminophen

2.3 Bioaktivitas Senyawa Gingerol dan Shogaol terhadap Siklooksigenase

Jahe tergolong famili Zingiberaceae yang merupakan famili terbesar dari ordo Zingiberales. Zingiberaceae memiliki 50 genus dan 1300 spesies dengan distribusi terbanyak di area Asia Selatan dan Asia Tenggara (Wu & Larsen, 2000). Jahe merupakan tanaman asal Asia Tenggara dan dibudidayakan salah satunya di Indonesia (Food and Agricultural Organization of United Nations, 2013). Taksonomi tanaman jahe, yaitu (ITIS Taxonomy, 2010).

- Kingdom : Plantae
- Divisio : Tracheophyta
- Sub Divisio : Spermatophyta
- Kelas : Magnoliopsida
- Ordo : Zingiberales
- Famili : Zingiberaceae

Genus : Zingiber
Spesies : *Zingiber officinale*

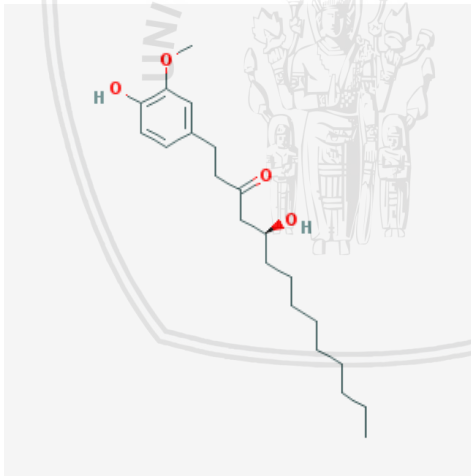
Jahe adalah tanaman herba rhizoma yang tumbuh secara perenial yang mampu tumbuh hingga 90 cm saat dibudidaya. Rhizoma jahe memiliki aroma, tebal, berwarna kuning pucat, dan memiliki daun lanset. Jahe tumbuh dengan memiliki tunas lateral berumpun yang akan kering setelah tanaman dewasa (Kawai, 1994). Tanaman jahe memiliki banyak potensi salah satunya dalam bidang kesehatan (Koo dkk., 2001). Bagian tanaman jahe yang biasa digunakan sebagai obat adalah rhizoma karena memiliki berbagai kandungan yang bermanfaat (Ghasemzadeh dkk., 2015; Ali dkk., 2018).

Jahe memiliki kandungan utama seperti pada tabel 1 dan senyawa aktif yang lain seperti flavonoid, karotenoid, fenolik, dan zingerone (Ippoushi dkk., 2003; Otunola dkk., 2010). Senyawa aktif yang paling banyak terdapat di jahe adalah gingerol, sedangkan shogaol banyak ditemukan pada jahe yang sudah dikeringkan (Sharifi-Rad dkk., 2017). Komposisi senyawa bioaktif shogaol dan gingerol pada jahe dapat dilihat pada tabel 2. Efek farmakologis yang disebabkan oleh gingerol bervariasi, yaitu sebagai anti-bakteri, analgesik, antioksidan, anti-inflamasi, dan antipiretik (Ippoushi dkk., 2003; Kundu dkk., 2009; Ghasemzadeh dkk., 2015). Berdasarkan penelitian Dugasani dkk (2010) dan Lantz dkk (2007), shogaol juga berperan sebagai anti-inflamasi dan analgesik.

Efek anti-inflamasi maupun analgesik yang ditimbulkan oleh gingerol dan shogaol disebabkan karena kinerjanya yang menghambat metabolisme COX dan *lipooxygenase* serta AA. Hal tersebut akan menurunkan produksi PGE₂, PG yang berperan terhadap inflamasi (Jolad dkk., 2005; Lantz dkk., 2007; Funk dkk., 2009). Senyawa shogaol dan gingerol merupakan tipe senyawa keton fenolik dan memiliki isomer (Sonale & Kadimi, 2014). Shogaol terdiri dari 6-shogaol, 8-shogaol, 10-shogaol sedangkan gingerol terdiri dari 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol (Guo dkk., 2017). Senyawa gingerol memiliki aktivitas anti-inflamasi untuk menghambat sitokin pro-inflamasi dan keberadaan antigen oleh makrofag yang diaktivasi lipopolisakarida (LPS) (Tripathi dkk., 2007). Senyawa shogaol dan gingerol diketahui memiliki aktivitas

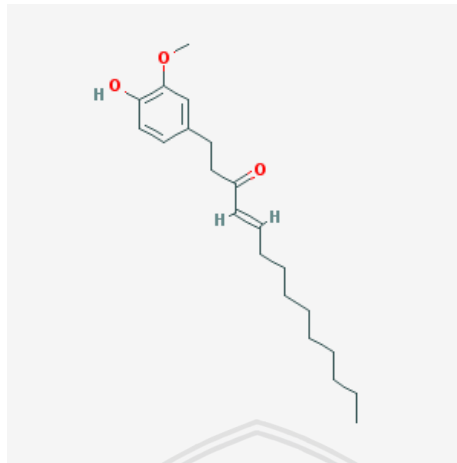
penghambatan terhadap COX-2 yang ditandai dengan menurunnya produksi PGE₂ dan penurunan ekspresi COX-2 (Lantz dkk., 2007; Dugasani dkk., 2010).

Lantz dkk (2007) mengungkapkan bahwa 10-gingerol (Gambar 4) merupakan senyawa bioaktif yang berperan sebagai penghambat COX-2 yang paling berpotensi, kemudian diikuti oleh 8-gingerol, dan 6-gingerol. Senyawa 6-shogaol memiliki IC₅₀ untuk menghambat PGE₂ lebih tinggi dibandingkan gingerol, namun senyawa tersebut tidak efektif melakukan *blocking* ekspresi COX-2 yang diinduksi oleh LPS. Hal tersebut berbeda dengan hasil penelitian Breemen dkk (2011), menyatakan bahwa 10-shogaol (Gambar 5) merupakan senyawa yang paling berpotensi dalam menghambat COX-2, dilihat dari nilai IC₅₀. Berdasarkan hasil *relative binding* melalui uji *liquid chromatography mass spectrometry* (LC-MS-MS) dengan preparasi penambahan *buffer* yang mengandung COX-2 dan diinkubasi dengan senyawa dari jahe, menyatakan bahwa senyawa 10-gingerol maupun 10-shogaol efektif berikatan dengan COX-2 dibandingkan dengan COX-1.



(National Center for Biotechnology Information, 2018)

Gambar 4. Struktur senyawa 10-gingerol



(National Center for Biotechnology Information, 2018)

Gambar 5. Struktur senyawa 10-shogaol

Tabel 1. Kandungan utama jahe (Shahid & Hussain, 2012; Otunola dkk., 2010)

Komposisi	Prosentase (%)
Air	8.60 ± 0.23
Karbohidrat	68.15 ± 0.01
Protein	7.88 ± 0.01
Lemak	5.03 ± 0.43
Serat	7.64 ± 1.30
Abu	1.74 ± 0.04
Asam askorbat	3.75 ± 0.58
Tembaga	12.50 ± 0.29
Seng	12.23 ± 0.16
Besi	80.00 ± 2.89
Mangan	7.33 ± 0.22
Kalsium	0.49 ± 1.9
Magnesium	1.2 ± 1.43
Alkaloid	11.21 ± 0.00
Tannin	3.54 ± 0.00
Karoteinoid	0.64 ± 0.00
Saponin	0.80 ± 0.41

Flavonoid	5.56 ± 0.00
Steroid	0.04 ± 0.37
Kardenolid	0.02 ± 0.00

Tabel 2. Komposisi bioaktif senyawa pada jahe (Breemen, dkk., 2011)

Komposisi	m/z
6-gingerol	293
8-gingerol	321
10-gingerol	349
12-gingerol	377
6-shogaol	275
8-shogaol	303
10-shogaol	331
12-shogaol	359
6-paradol	277
8-paradol	305
10-paradol	333
6-gingerdiol	295
8-gingerdiol	323
6-dehydro-6-gingerol	291
6-dehydro-8-gingerol	319
6-dehydro-10-gingerol	347
6-gingerdione	291
8-gingerdione	319
10-gingerdione	347

2.4 Struktur Protein COX-1 dan COX-2

Siklooksigenase yang terdiri dari COX-1 dan COX-2 merupakan isoform. Kedua enzim memiliki tiga mannos oligosakarida yang salah satunya menyebabkan *folding* protein. Oligosakarida keempat hanya dimiliki oleh COX-2 yang meregulasi degradasi. Setiap subunit dimer terdiri dari tiga domain yaitu, *short N-terminal epidermal growth factor domain* (residu 34-72), domain *membrane binding* (residu 73-116), dan *globular C-terminal catalytic domain* yang terdiri dari sisi aktif siklooksigenase dan *peroxidase* (POX). Sisi aktif COX dan POX berada di sisi

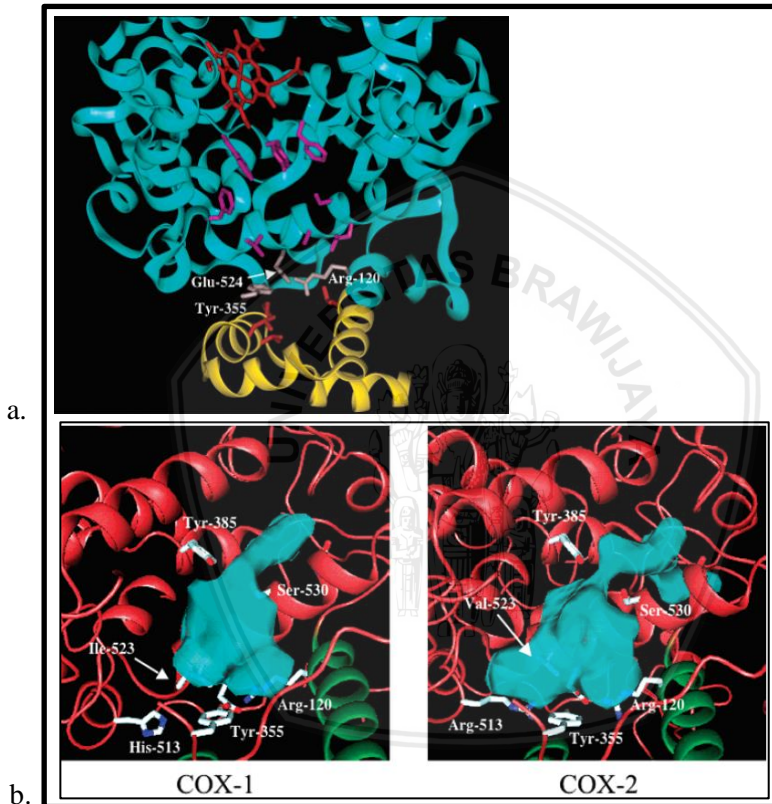
berlawanan dari domain katalitik. Siklooksigenase merupakan satu-satunya sisi aktif yang dapat berikatan dengan *inhibitor* adalah sisi aktif COX (Blobaum & Marnett, 2007; Rouzer & Marnett, 2008).

Domain katalitik sebagian besar terdiri dari monomer COX dan merupakan letak ikatan substrat dan NSAID. Ikatan menuju sisi aktif COX terletak pada bagian dasar domain *membran binding* dan berujung ke *channel* panjang hidrofobik dan meluas pada bagian dalam domain katalitik (Gambar 6a). *Channel* COX membentuk konstiksi di antara domain *membran binding* dan domain katalitik untuk membentuk bagian menyempit yang tersusun dari Arg 120, Tyr 355, dan Glu 524 yang memisahkan “*lobby*” dari sisi aktif. Sisi aktif COX-1 dan COX-2 cenderung sama, dengan perbedaan pada COX-2 terdapat cekungan yang terletak di atas konstiksi Arg 120/Tyr 355/Glu 524. Sisi aktif COX-2 diakhiri oleh Val 523 (di COX-1 adalah isoleusin) dan terdapat area *conserved* Arg 513 (di COX-1 adalah His 513) di ujung *pocket*. Permukaan yang dapat dilalui pelarut pada COX-2 lebih besar (Gambar 6b) dibandingkan COX-1 karena adanya substitusi Val 523 menjadi Ile pada sisi aktif dan beberapa substitusi lain (Arg 513 menjadi His dan Val 434 menjadi Ile). (Blobaum & Marnett, 2007; Zarghi & Arfaei, 2011).

Ekspresi COX-1 dan COX-2 berbeda pada jaringan, COX-1 diekspresikan secara konstitutif pada jaringan dan PG yang diproduksi oleh COX-1 memediasi fungsi “*housekeeping*” seperti sitoproteksi mukus lambung, regulasi aliran darah ginjal, dan agregasi plasma darah. Berbeda dengan COX-1, COX-2 tidak terdapat pada sel normal, namun ekspresinya meningkat jika diinduksi sitokin proinflamasi (IL-1b, TNF α), lipopolisakarida, mitogen dan onkogen, faktor pertumbuhan, hormon (LH), dan gangguan hemostasis elektrolit air. Faktor-faktor tersebut dapat meningkatkan sintesis PG pada jaringan inflamasi dan jaringan neoplastik (Ricciotti & FitzGerald, 2011; Zarghi & Arfaei, 2011).

Sintesis prostaglandin dipengaruhi oleh COX. Bioaktif prostaglandin yang diproduksi oleh COX adalah PGE₂, prostasiklin (PGI₂), PGD₂, dan PGF_{2 α} dan thromboxan A₂ (TXA₂). Setiap tipe sel berbeda memiliki dominansi PG yang berbeda dan berperan sebagai mediator autokrin dan parakrin lipid untuk mengatur homeostasis di dalam tubuh (Ricciotti & FitzGerald, 2011). Fungsi PG selain mengatur homeostasis yaitu berpengaruh terhadap inflamasi sehingga

COX sering menjadi target NSAIDs. Obat tersebut menghambat kinerja COX dengan berikatan pada sisi aktif COX. Penghambatan COX tergolong selektif karena pada saat yang bersamaan, Obat anti-inflamasi maupun analgesik hanya dapat berinteraksi dengan COX-1 atau COX-2 saja pada saat yang bersamaan, meskipun COX-1/COX-2 adalah homodimer (Streicher & Wang, 2008; Ricciotti & FitzGerald, 2011).



(Blobsaum & Marnett, 2007)

Gambar 6. Struktur protein COX: a) sisi aktif COX, b) area COX-1 dan COX-2 yang dapat diakses oleh pelarut

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2018 hingga Desember 2018. Penelitian berlangsung di Ruang Smonagenes FMIPA, Universitas Brawijaya Malang.

3.2 Data Mining

Struktur protein sebagai reseptor diperoleh dari PDB dengan ID COX-2 (PDB ID: 6COX) dan COX-1 (PDB ID: 1EQG). Ligan diunduh dalam format 3D SDF dari PubChem. Senyawa yang digunakan adalah acetaminophen (CID1983), 10-gingerol (CID1681115), 10-shogaol ([CID6442612](#)).

3.4 Prediksi Bioaktivitas Senyawa

Prediksi bioaktif senyawa menggunakan molinspiration (<http://www.molinspiration.com>). Data SMILES senyawa acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol diinput kemudian dianalisis.

3.3 Preparasi Ligan dan Protein

Preparasi ligan dilakukan menggunakan *software* PyRx 0.8 dengan meminimalisir energi dan mengubah format *file* menjadi .pdb. Preparasi protein dilakukan menggunakan *software* Discovery Studio Client 3.5 untuk menghilangkan molekul air dan ligan.

3.4 Docking dan Analisis Data

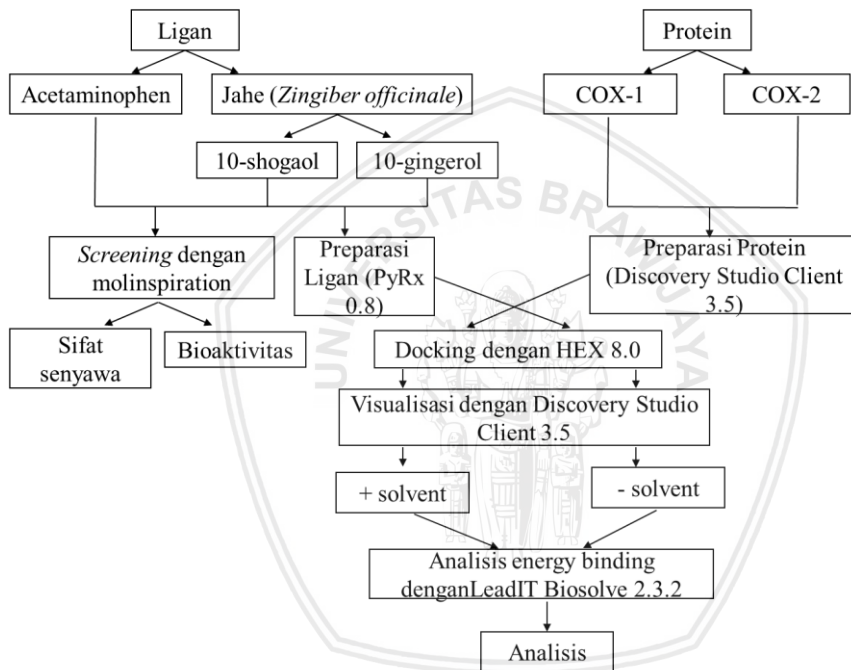
Docking dilakukan dengan *software* HEX 8.0 kemudian interaksi dianalisis menggunakan Discovery Studio Client 3.5. Tahap selanjutnya yaitu menentukan selektivitas dengan *energy binding*. Sisi aktif protein dipilih, kemudian ditambahkan ligan dan pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO) secara eksplisit menggunakan LeadIT Biosolve 2.3.2.

3.5 Rancangan Penelitian

Perlakuan yang dilakukan pada penelitian ini yaitu terdapat 12 perlakuan. Perlakuan pertama adalah *docking* COX-1 dan COX-2

dengan acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol. Residu asam amino yang terlibat dalam interaksi diidentifikasi. Analisis dilanjutkan dengan analisis *energy binding* pada dua kondisi yaitu dengan penambahan pelarut (DMSO) dan tanpa pelarut. Data yang dianalisis adalah data interaksi protein dan ligan serta selektivitas ligan terhadap protein yang dilihat dari *energy binding*. Data hasil penelitian dibahas secara deskriptif.

3.6 Kerangka Operasional Penelitian

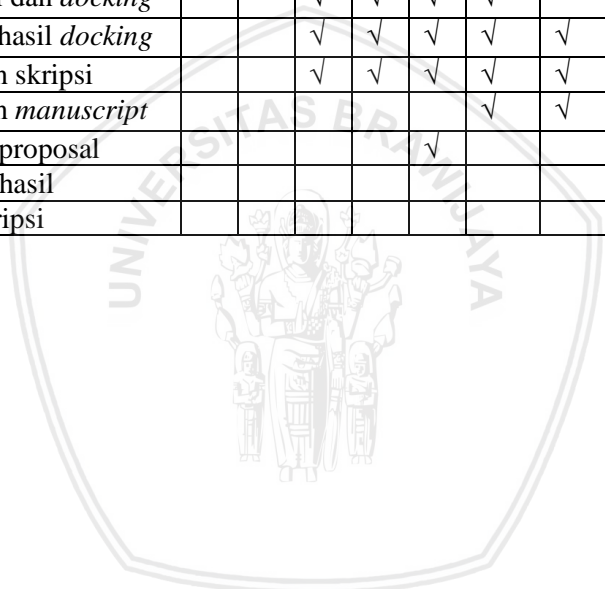


Gambar 7. Kerangka operasional penelitian

3.7 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan							
	5	6	7	8	9	10	11	12
Jurnal <i>reading</i>	√	√	√	√	√	√	√	√
Pemilihan topik	√							
Penulisan proposal	√	√	√	√	√			
<i>Data mining</i>	√	√	√					
Prediksi bioaktivitas senyawa			√	√	√			
Preparasi dan <i>docking</i>			√	√	√	√		
Analisis hasil <i>docking</i>			√	√	√	√	√	
Penulisan skripsi			√	√	√	√	√	√
Penulisan <i>manuscript</i>						√	√	√
Seminar proposal					√			
Seminar hasil								√
Ujian skripsi								√



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Interaksi Protein COX-1/COX-2 terhadap Ligan

Interaksi pada reseptor dan ligan diketahui melalui *docking* dengan software HEX 8.0 kemudian visualisasi dengan Discovery Studio. Visualisasi hasil interaksi berupa 2 dimensi (Gambar 8) dan 3 dimensi (Gambar 8 dan 9). Berdasarkan hasil visualisasi secara 2 dimensi, ikatan yang terjadi bervariasi untuk setiap ligan maupun reseptor. Ligan berinteraksi dengan reseptor yaitu pada residu asam amino tertentu. Interaksi sebagian besar terjadi pada residu asam amino nomor 100-250 dan ikatan yang terjadi bervariasi yaitu ikatan hidrogen, hidrofobik, elektrostatis, dan *unfavorable*.

Residu asam amino yang terlibat dalam interaksi protein dengan ligan bervariasi (Tabel 4). Interaksi ligan yang terjadi pada COX-1 berbeda dengan interaksi yang terjadi pada COX-2. Interaksi COX-1 dengan acetaminophen melibatkan residu asam amino Tyr 234, Asp 236, Asn 237, dan Gly 235 (Gambar 8a, 9a). Residu asam amino tersebut berbeda dengan residu asam amino pada interaksi COX-1 dengan 10-gingerol yaitu Gln 370, Asn 122, dan Pro 542 (Gambar 8c, 9b). Interaksi COX-1 dengan 10-shogaol melibatkan Glu 543 dan Pro 542 (Gambar 8e, 9c). Residu Pro 542 juga terdapat pada interaksi antara COX-1 dan 10-gingerol, sehingga diprediksi residu asam amino tersebut memiliki peran dalam interaksi ini.

Residu asam amino yang menyusun ikatan COX-2 dengan acetaminophen adalah Asn 144, Glu 140, Leu 238, dan Lys 333 (Gambar 9b, 10a). Interaksi dengan COX-2 dengan 10-gingerol disusun oleh residu asam amino Trp 139, Ser 143, Leu 238, dan Leu 224 (Gambar 8d, 10b). Interaksi COX-2 dengan 10-gingerol melibatkan residu asam amino Leu 238 yang sama pada interaksi COX-2 dengan acetaminophen. Interaksi dengan 10-shogaol melibatkan residu asam amino Glu 236, Leu 145, Leu 224 (Gambar 8f, 10c). Interaksi tersebut melibatkan residu asam amino leu 224 yang sama pada interaksi COX-2 dengan 10-gingerol. Kedua residu asam amino tersebut diprediksi memiliki peranan dalam penghambatan sintesis PG melalui COX-2

Tabel 4. Interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan

Protein	Ligan	Nama	Jarak	Kategori	Tipe	From Chemistry	To Chemistry	Atom	Hidrofobitas	
COX-1	aceta	:LIG1:H - A:TYR234:O	3.00205	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-1.3	
		A:ASP236:C,O;ASN237:N - :LIG1	4.12252	Hydrophobic	Amide-Pi Stacked	Amide	Pi-Orbitals	Benzene	-3.5	
		A:GLY235:O - :LIG1:O	2.03979	Unfavorable	Unfavorable Bump;Unfavorable Acceptor-Acceptor	Steric;H-Acceptor	Steric;H-Acceptor	O	-0.4	
	10-ging	:LIG1:H - A:GLN370:O	2.71518	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-3.5
		:LIG1:H - A:ASN122:OD1	2.85817	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-3.5
		:LIG1:H - A:GLN370:O	2.46437	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-3.5
		:LIG1:C - B:PRO542	5.37205	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl	Alkyl	C	-1.6
		:LIG1 - B:PRO542	4.8198	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	Alkyl	Benzene	-1.6
	10-sho	:LIG1:H - B:GLU543:OE1	2.4996	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-3.5
		:LIG1 - B:PRO542	3.44969	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	Alkyl	Benzene	-1.6
	COX-2	aceta	A:ASN144:HN - :UNL1:O	2.84708	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	O	-3.5
			A:GLU140:OE1 - :UNL1	4.37649	Electrostatic	Pi-Anion	Negative	Pi-Orbitals	Benzene	-3.5
:UNL1 - B:LEU238			4.81394	Hydrophobic	Pi-Alkyl	Pi-Orbitals	Alkyl	Benzene	3.8	
B:LYS333:HZ3 - :UNL1:H			2.05421	Unfavorable	Unfavorable Donor-Donor	H-Donor	H-Donor	H	-3.9	
10-ging		B:TRP139:HE1 - :LIG1:O	2.72609	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	O	-0.9
		B:TRP139:HE1 - :LIG1:O	1.89605	Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	Conventional Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	O	-0.9
		B:SER143:CB - :LIG1:O	3.40477	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	O	-0.8
		B:SER143:CB - :LIG1:O	3.61218	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	O	-0.8
		A:ASP229:OD2 - :LIG1	3.56004	Electrostatic	Pi-Anion	Negative	Pi-Orbitals	Benzene	-3.5	
		:LIG1:C - A:LEU238	4.64071	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl	Alkyl	C	3.8
		A:LEU224:CB - :LIG1:O	2.02873	Unfavorable	Unfavorable Bump	Steric	Steric	O	3.8	
10-sho		:LIG1:H - A:GLU236:O	2.89646	Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	H-Donor	H-Acceptor	H	-3.5
		:LIG1:C - B:LEU145	5.40837	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl	Alkyl	C	3.8
		:LIG1:C - B:LEU224	3.45986	Hydrophobic	Alkyl	Alkyl	Alkyl	Alkyl	C	3.8

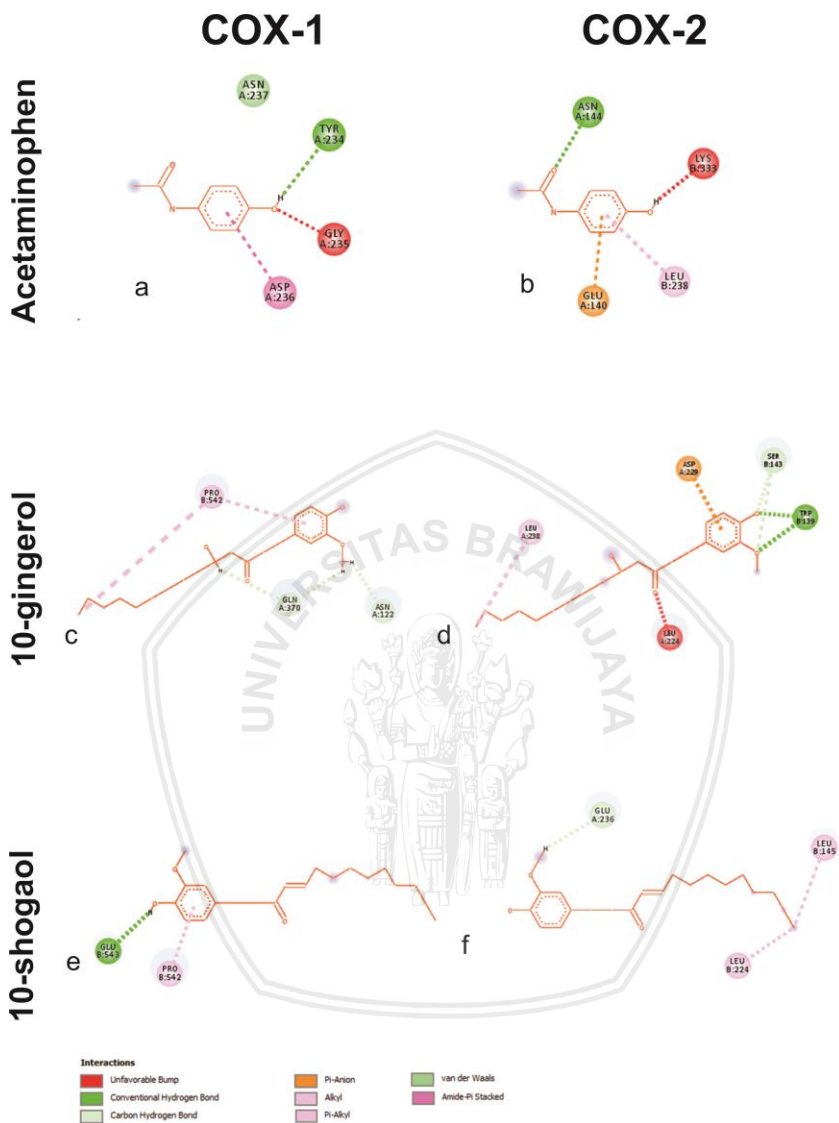
Keterangan: **Bold** adalah aseptor

Residu asam amino Pro 542 merupakan residu asam amino yang terdapat pada interaksi 10-gingerol dan 10-shogaol dengan COX-1. pada 10-gingerol berikatan pada benzene dan C dengan interaksi hidrofobik sedangkan pada 10-shogaol berikatan pada benzene saja dengan tipe hidrofobik. Jarak interaksi 10-shogaol dengan COX-1 lebih dekat dibandingkan 10-gingerol dengan COX-1. Hal tersebut diprediksi mempengaruhi penghambatan yang dilakukan oleh ligan terhadap protein.

Residu asam amino Leu 224 adalah residu ketiga yang paling sering muncul. Residu tersebut muncul pada interaksi COX-2 dengan 10-gingerol dan 10-shogaol. Ikatan antara ligan dengan residu asam amino ini tidak menyebabkan perubahan struktur ligan. Ikatan yang terbentuk adalah *unfavorable bump* untuk interaksi COX-2 dengan 10-gingerol, sedangkan membentuk ikatan alkil dengan 10-shogaol. Namun, interaksi COX-2 dengan 10-gingerol memiliki jarak yang lebih dekat dibandingkan dengan interaksi COX-2 dengan 10-shogaol.

Interaksi COX-2 dengan acetaminophen dan 10-gingerol membentuk ikatan pada residu asam amino Leu 238. Ikatan yang terjadi pada interaksi tersebut terjadi pada cincin benzene dan membentuk interaksi hidrofobik. Meskipun atom yang terlibat pada ikatan dan ikatan yang terbentuk sama, jarak interaksi COX-2 dengan 10-gingerol lebih dekat dibandingkan dengan acetaminophen. Jarak yang semakin dekat dapat digunakan untuk penentuan aktivitas penghambatan. Berdasarkan hasil tersebut, dapat diketahui bahwa senyawa 10-gingerol memiliki kesamaan interaksi dengan acetaminophen terhadap COX-2 dan diprediksi memiliki potensi.

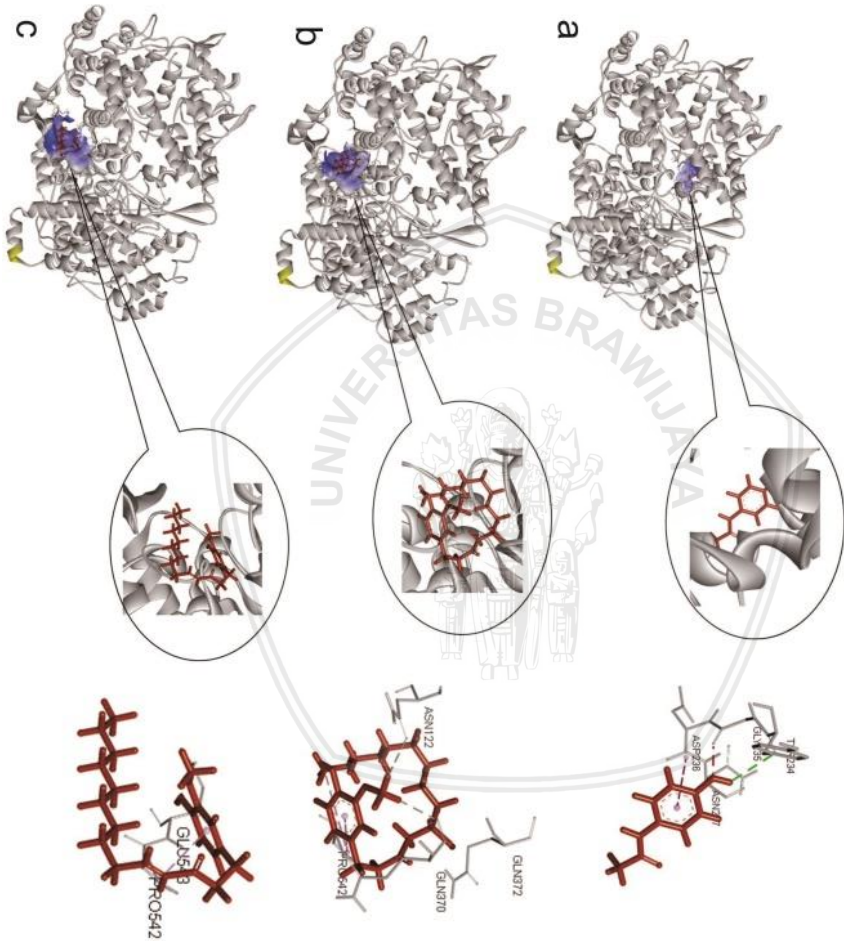
Interaksi yang terbentuk pada protein dan ligan dapat mengubah struktur senyawa. Hal ini terjadi pada 10-gingerol yang memiliki perubahan struktur. Ikatan 10-gingerol dengan COX-1 menyebabkan terlepasnya atom H pada cincin benzene C4 dan penambahan atom H pada cincin benzene C3. Hal yang berbeda terjadi pada interaksi 10-gingerol dengan COX-2. Interaksi protein dan ligan tersebut menyebabkan terlepasnya atom H pada cincin benzene C4.



Gambar 8. Interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan (2 Dimensi): a-b) acetaminophen, c-d) 10-gingerol, e-f) 10-shogaol.

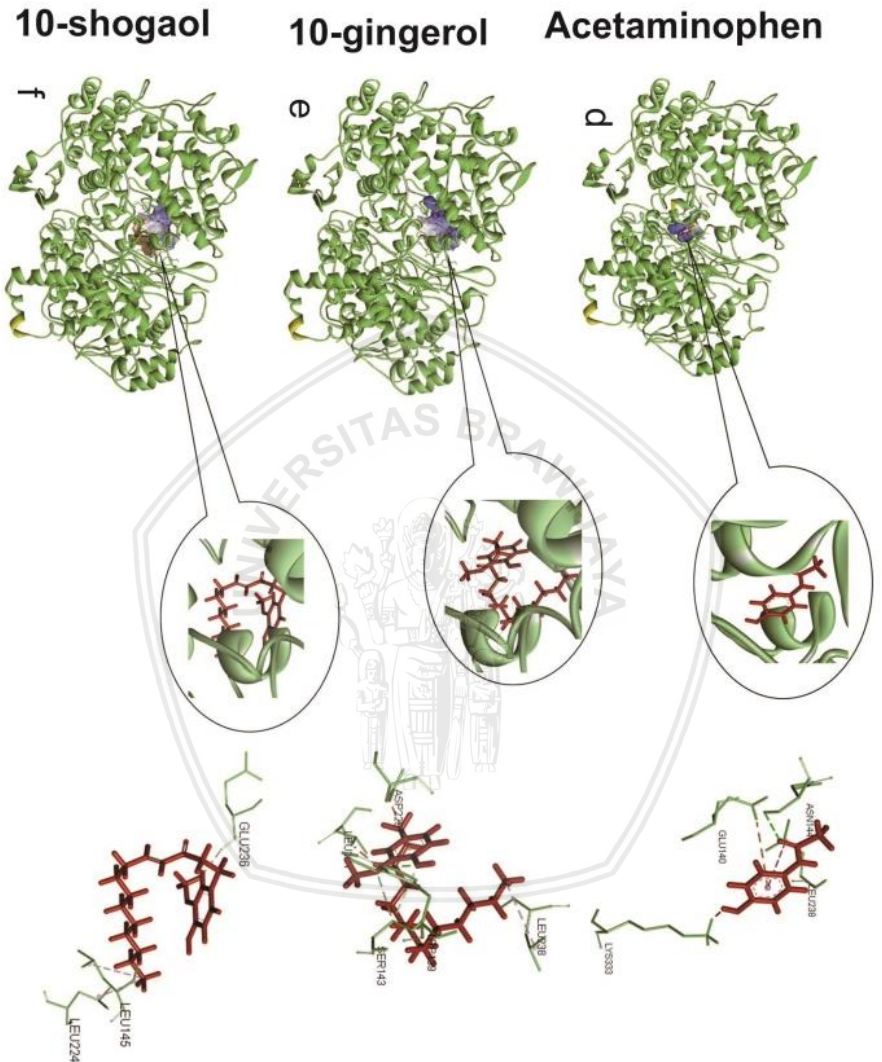
COX-1

10-shogaol 10-gingerol Acetaminophen



Gambar 9. Interaksi COX-1 dengan ligan (3D): a) acetaminophen, b) 10-gingerol, c) 10-shogaol

COX-2



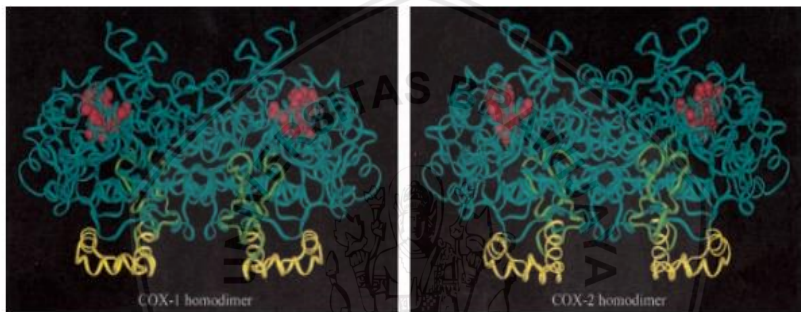
Gambar 10. Interaksi COX-2 dengan ligan (3D): a) acetaminophen, b) 10-gingerol, c) 10-shogaol

Interaksi antara COX-1 dengan 10-shogaol (Gambar 8c) tidak menyebabkan perubahan struktur senyawa sedangkan interaksi COX-2 dengan 10-shogaol (Gambar 8d) menyebabkan terlepasnya atom H pada cincin benzene C4 dan penambahan atom H pada cincin benzene C5 yang membentuk ikatan dengan O. Perubahan struktur senyawa tidak terjadi pada acetaminophen. Ikatan acetaminophen terhadap COX-1 maupun COX-2 tidak menyebabkan perubahan struktur pada senyawa acetaminophen.

Identifikasi interaksi protein dan ligan dilakukan juga secara 3 dimensi. Identifikasi secara 3 dimensi dilakukan untuk mengetahui posisi interaksi pada domain tertentu di protein. Posisi ikatan COX-1 dan/atau COX-2 dengan ligan tidak memiliki kesamaan, namun posisi ikatan terletak berdekatan. Letak ikatan ligan dengan protein COX-1 berbeda dengan ikatan pada protein COX-2, baik acetaminophen maupun 10-gingerol dan 10-shogaol. Posisi ikatan acetaminophen dengan COX-1 berbeda dari 10-gingerol dan 1-shogaol. Kedua senyawa alam tersebut memiliki kecenderungan ikatan yang sama pada COX-1, namun berbeda pada COX-2. Berdasarkan hasil, senyawa acetaminophen memiliki kemiripan posisi ikatan dengan 10-gingerol pada ikatan dengan COX-2. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa acetaminophen memiliki kemiripan interaksi dengan 10-gingerol dan perlu identifikasi lebih lanjut mengenai penghambatan COX-2 sebagai anti-inflamasi dan analgesik.

Struktur protein COX seperti pada hasil kristalisasi memiliki domain *membrane binding*, dimerisasi, katalitik, dan sisi aktif peroksidase, sedangkan tiap monomer memiliki domain globular, katalitik, *membrane binding*, dan *epidermal growth factor (EGF)* (Gambar 11). Penghambatan sintesis PG melalui penghambatan COX memerlukan *inhibitor* yang berikatan pada sisi katalitik protein. Reaksi yang terdapat pada sintesis PG oleh COX merupakan reaksi enzimatik sehingga memerlukan penghambatan pada sisi katalitik protein agar reaksi enzimatik dapat dihambat (Simmons dkk., 2004; Wan & Coveney, 2009; Raharjo, 2014). Berdasarkan hasil yang diperoleh, interaksi yang terjadi *antara* ligan dengan reseptor tidak terdapat pada sisi aktif, namun berada pada sisi katalitik. Letak ligan dalam interaksi dengan reseptor berbeda-beda, namun interaksi COX-1 dengan acetaminophen cenderung terletak pada sisi luar reseptor, sedangkan 10-gingerol dan 10-shogaol berada

di dekat “*lobby*” sisi aktif COX-1. Sisi tersebut merupakan letak masuknya AA (Blobaum & Marnett, 2007; Rouzer & Marnett, 2009). Penghambatan sintesis PG oleh ketiga ligan melalui COX-2 berada menuju sisi aktif peroksidase, yaitu sisi aktif yang menjadi tempat berikatan heme dengan reseptor. Sisi aktif peroksidase merupakan salah satu sisi aktif yang penting dalam aktivitas sintesis PG maupun TXA₂ oleh COX-1 dan COX-2. Salah satu faktor yang penting dalam mengidentifikasi interaksi ini adalah hidrofobisitas (Fiebich dkk., 2000). Interaksi yang paling banyak dikelilingi oleh asam amino yang memiliki hidrofobisitas tinggi adalah interaksi COX-2 dengan 10-gingerol (Tabel 4). Asam amino yang memiliki skor hidrofobisitas paling tinggi adalah leusin dengan nilai 3,8.



(Simmons dkk., 2014)

Gambar 11. Struktur kristalografi COX-1 (kiri) dan COX-2 (kanan): *membrane binding domain* (kuning), domain dimer (hijau), domain katalitik (biru), heme (merah).

Interaksi hidrofobik merupakan interaksi yang efisien dalam interaksi protein dengan ligan. Interaksi ini merupakan faktor yang dapat meningkatkan efisiensi ligan. Ikatan hidrofobik juga merupakan ikatan yang paling sering terbentuk pada interaksi reseptor dengan ligan. Residu asam amino yang sering terlibat dalam interaksi ini adalah leusin, valin, isoleusin, dan alanin (de Freitas & Schaphira, 2017). Interaksi hidrofobik pada ikatan ligan dengan protein ini paling banyak melibatkan residu asam amino leusin. Keberadaan interaksi ini diprediksi berkaitan dengan skor LE dan ikatan ligan dengan protein akan lebih optimal jika memiliki interaksi hidrofobik. Asam amino yang sering terlibat dalam interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan ligan sebagian besar

didominasi oleh interaksi hidrofobik. Ikatan hidrofobik didominasi oleh interaksi antara reseptor dengan 10-gingerol. Sehingga dapat diprediksi bahwa efisiensi 10-gingerol untuk berikatan dengan reseptor paling tinggi dibanding ketiga ligan lainnya.

Ikatan yang terdapat pada interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan ligan didominasi oleh ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan tipe ikatan yang menentukan struktur dan fungsi biomolekul dan stabilisasi ikatan ligan pada *binding pocket* (Kostal, 2016). Ikatan hidrogen yang terlibat pada interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan ketiga ligan tersebut adalah residu asam amino tirosin, glutamin, asparagin, asam glutamat, triptofan, dan serin. Residu asam amino tersebut merupakan residu asam amino yang biasa terlibat dalam ikatan hidrogen adalah glisin, asam aspartat, asam glutamat, dan serin. Glisin sering terlibat dalam ikatan hidrogen baik sebagai donor maupun aseptor karena ketiadaan *side chain* untuk mendukung *backbone* atom dan meningkatkan fleksibilitas *backbone* untuk memaksimalkan ikatan hidrogen (de Freitas & Schaphira, 2017). Residu asam amino asam glutamat dan serin terdapat pada interaksi COX-1 dengan 10-shogaol, COX-2 dengan 10-gingerol, dan COX-2 dengan 10-shogaol. Ikatan hidrogen ini paling banyak terbentuk pada interaksi COX-1 dan COX-2 dengan 10-gingerol maupun 10-shogaol. Keberadaan ikatan ini diprediksi dapat meningkatkan *energy binding* protein dengan ligan dan meningkatkan stabilitas ikatan protein dengan ligan (Chen dkk., 2016; de Freitas & Schaphira, 2017). Interaksi yang paling banyak melibatkan ikatan hidrogen adalah COX-1 dengan 10-gingerol dan COX-2 dengan 10-gingerol. Keberadaan ikatan hidrogen pada interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan 10-gingerol diprediksi dapat meningkatkan *energy binding*.

Residu asam amino yang sering muncul dalam interaksi, diduga berpotensi dalam proses penghambatan sintesis PG. Residu asam amino Pro 542, Leu 238, dan Leu 224 membentuk interaksi hidrofobik dengan ligan. Hal tersebut menandakan bahwa interaksi hidrofobik penting dalam interaksi protein dengan ligan (Fiebich dkk., 2000; de Freitas & Schaphira, 2017).

Interaksi senyawa bioaktif jahe terutama 10-gingerol terhadap COX secara umum lebih signifikan dibandingkan 10-shogaol maupun acetaminophen. Hal ini terlihat dari kategori ikatan yang terbentuk maupun posisi interaksi 10-gingerol dengan COX.

Mengenai penghambatan sintesis PG, 10-gingerol memiliki kategori ikatan yang lebih kuat terhadap COX-2 dibandingkan acetaminophen, namun berbeda dengan 10-shogaol yang memiliki interaksi yang lebih optimal terhadap COX-1 dibandingkan COX-2. Hal tersebut menyebabkan 10-shogaol lebih cenderung menghambat sintesis TXA₂ yang berperan sebagai pro-trombotik (Warner dkk., 2011). Secara umum, senyawa 10-gingerol memiliki potensi untuk menggantikan acetaminophen sebagai obat maupun suplemen. Kekuatan interaksi maupun kualitas interaksi perlu ditentukan melalui *energy binding* dan *ligand efficiency*.

4.2 Energy Binding Protein COX-1/COX-2 dengan Ligan

Energy binding protein COX-1/COX-2 dengan ligan diidentifikasi melalui perangkat lunak LeadIT Biosolve. *Software* tersebut dapat memprediksi energi yang dibutuhkan ligan dengan reseptor untuk berikatan (ΔG). Perlakuan yang dilakukan dalam penghitungan energi ikatan yaitu penambahan pelarut DMSO dan tanpa pelarut. Rumus yang digunakan untuk menentukan ΔG adalah (Pouplana dkk., 2002; Uchiechowska dkk., 2012; Raharjo, dkk., 2014).

$$\Delta G = G_{complex} - [G_{protein} + G_{ligand}] \quad (1)$$

$$[G] = [E_{MM} + [G_{SOL}] - T \cdot [S] \quad (2)$$

$$[E_{MM}] = [E_{int}] + [E_{ele}] + [E_{vdw}] \quad (3)$$

ΔG = *energy binding*

$G_{complex}$ = energi absolut kompleks

$G_{protein}$ = energi absolut protein

G_{ligand} = energi absolut ligan

E_{MM} = *molecular mechanics energy*

E_{int} = *internal energy (bond, angle, and dihedral)*

E_{ele} = energi elektrostatik

E_{vdw} = van Der Waals

G_{SOL} = *solvation energy*

Hasil menunjukkan bahwa penambahan pelarut memberikan pengaruh terhadap *energy binding* (Tabel 5). Energi yang dibutuhkan

oleh ligan untuk berikatan dengan protein COX-1 sama dengan COX-2. Sehingga dapat dikatakan jika energi yang dibutuhkan oleh acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol untuk berikatan dengan COX-1 sama dengan COX-2. Perbedaan nilai energi terletak pada energi yang dibutuhkan tiap ligan untuk berikatan dengan reseptor. Energi terendah yang digunakan untuk berikatan terdapat pada ikatan COX-1 dan COX-2 dengan 10-gingerol (-8 kJ/mol) sedangkan energi tertinggi dibutuhkan oleh acetaminophen untuk berikatan dengan COX-1 dan COX-2 (-3 kJ/mol). Secara berurutan, energi ikatan acetaminophen, 10-gingerol, dan 10-shogaol terhadap COX-1/COX-2 adalah -8 kJ/mol, -4 kJ/mol, dan -3 kJ/mol.

Tabel 5. *Energy binding* dan efisiensi ligan interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan

Protein	Ligan	solvent	ΔG (kJ/mol)	LE
COX-1	Acetaminophen	none	0	0
		dms0	-3	0.06
	10-gingerol	none	0	0
		dms0	-8	0.07
	10-shogaol	none	0	0
		dms0	-4	0.04
COX-2	Acetaminophen	none	0	0
		dms0	-3	0.06
	10-gingerol	none	0	0
		dms0	-8	0.07
	10-shogaol	none	0	0
		dms0	-4	0.04

Penentuan *energy binding* tidak hanya diketahui dari nilai ΔG saja, namun terdapat juga data LE (*Ligand Efficiency*). *Ligand efficiency* merupakan suatu data yang menunjukkan energi ikatan ligan per atom pada reseptor. Rumus LE yaitu (Jabeen dkk., 2012; LeadIT, 2018),

$$LE = \frac{\Delta G}{N}$$

ΔG = *energy binding*

N = jumlah *heavy atom*

Efisiensi ikatan ligan terhadap reseptor memiliki hasil yang berbeda antar ligan, namun tidak memiliki hasil yang berbeda pada reseptor yang berbeda. Efisiensi ikatan ligan terhadap reseptor tanpa penambahan pelarut memberikan hasil yang kurang maksimal. Energi bernilai 0 kcal/mol untuk semua ligan pada reseptor COX-1 maupun COX-2. Hal berbeda terjadi pada perlakuan penambahan pelarut DMSO. Penambahan DMSO dapat meningkatkan efisiensi energi ikatan ligan. Ligan 10-gingerol paling efisien berikatan dengan COX-1 maupun COX-2 dengan nilai 0.07 kcal/mol, sedangkan 10-shogaol memiliki ikatan yang paling tidak efisien terhadap COX-1/COX-2 dengan nilai 0.04 kcal/mol.

Efisiensi ikatan ligan dapat dilihat melalui angka yang diperoleh. Hasil yang diperoleh menunjukkan angka efisiensi yang masih sangat rendah. Kategori baik yaitu pada nilai $LE \geq 0,5$ sedangkan $LE < 0,2$ tergolong dalam nilai yang paling buruk (LeadIT, 2018). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa ikatan antara ligan dengan COX-1 maupun COX-2 kurang efisien, namun pelarut DMSO berperan dalam meningkatkan *energy binding* dan efisiensi ligan.

Senyawa alam merupakan salah satu bagian yang penting dalam *drug discovery*. Saat ini, mulai dikembangkan senyawa alam yang digunakan untuk pengobatan. Namun, khasiat dan kandungan bahan alam perlu dibuktikan terlebih dahulu. Senyawa yang terdapat pada bahan alam perlu diekstrak kemudian disimpan dalam stok untuk diuji secara *in vitro* maupun *in vivo*. Salah satu pelarut yang umum digunakan untuk pelarut pada stok adalah DMSO (Sánchez-Salgado dkk., 2007; Liu, 2008).

Dimethyl sulfoxide ((CH₃)₂SO) merupakan larutan bening yang merupakan produk turunan dari bubuk kayu pada produksi kertas. Cairan bening ini merupakan pelarut aprotik. Pelarut ini dapat dicampur dengan air dan mampu melarutkan senyawa polar maupun non polar (Capriotti & Capriotti, 2012). Salah satu kasus yaitu jika melakukan uji secara *in vitro*, media kultur yang digunakan memiliki pH berkisar antara 6,8 hingga 7,4 atau memiliki karakteristik *water-based*. Kondisi tersebut memerlukan ekstrak yang larut pada air dan stabil pada pH media. Kasus ini membutuhkan pelarut aprotik, yaitu DMSO karena dapat memecah termodinamik komponen ekstrak

kemudian diikuti dilusi dengan media kultur hingga mencapai volume akhir (Liu, 2008).

Keberadaan pelarut, salah satunya DMSO dapat membantu melarutkan senyawa sehingga dapat mempengaruhi ikatan dengan reseptor (Brayton, 1986; de Abreu Costa dkk., 2017). Hal tersebut berkaitan dengan rumus yang menyatakan bahwa terdapat energi pelarut yang dapat menambah *energy binding* maupun efisiensi ligan terhadap reseptor. Faktor yang dapat mempengaruhi *energy binding* dan efisiensi ligan selain pelarut adalah jenis ikatan yang terdapat pada interaksi ligan dengan reseptor, energi potensial, energi elektrostatik, energi van der waals, energi ligan, energi protein, dan energi kompleks (Raharjo dkk., 2014; de Freitas & Schapira, 2017).

Ikatan yang terdapat pada interaksi COX-1 dan COX-2 dengan ligan adalah interaksi hidrogen, hidrofobik, dan elektrostatik. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terdapat dalam tubuh dan berperan dalam mekanisme di dalam tubuh. Ikatan ini dapat menstabilkan ikatan ligan dengan reseptor (Nittinger dkk., 2017; de Freitas & Schapira, 2017). Ikatan hidrogen didominasi oleh interaksi COX-1 dan/atau COX-2 dengan 10-gingerol sehingga diduga, ikatan 10-gingerol terhadap COX-1 maupun COX-2 lebih stabil dibandingkan dengan interaksi 10-shogaol maupun acetaminophen terhadap COX-1 dan COX-2.

Interaksi 10-gingerol dengan COX-1 maupun COX-2 memiliki ikatan hidrofobik dengan jarak yang relatif lebih pendek dibandingkan dengan interaksi protein dengan ligan yang lain. Ikatan antara ligan dengan reseptor juga dipengaruhi oleh ikatan hidrofobik. Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang paling sering terbentuk pada interaksi ligan dengan reseptor dan dapat meningkatkan efisiensi ikatan ligan dengan reseptor (de Freitas & Schapira, 2017). Hal tersebut mendukung hasil yang menyatakan bahwa efisiensi ligan paling tinggi terdapat pada interaksi 10-gingerol dengan COX-1 maupun COX-2. Nilai efisiensi ligan 10-gingerol terhadap reseptor yang tinggi didukung pula oleh ikatan elektrostatik. Menurut Smith dkk (2012), ikatan tersebut dapat meningkatkan LE. Ikatan elektrostatik juga termasuk dalam hitungan rumus ΔG sehingga interaksi yang memiliki ikatan ini, memiliki nilai *energy binding* yang rendah dan skor LE yang tinggi seperti pada 10-gingerol dan acetaminophen.

Nilai LE dan *energy binding* pada COX-1 dan/atau COX-2 bernilai sama untuk ikatan dengan semua ligan. Sehingga dalam hal ini tidak terjadi selektivitas, namun pelarut mempengaruhi nilai *energy binding* dan LE. Berdasarkan perbandingan dengan interaksi yang terjadi, senyawa 10-gingerol cenderung lebih kuat berikatan dengan COX-1 dan/atau COX-2 dibandingkan dengan kedua senyawa lainnya.

4.3 Prediksi Sifat dan Potensi Senyawa dengan Molinspiration

Prediksi sifat senyawa dianalisis dengan molinspiration memiliki beberapa kategori yaitu miLogP, *Topological Polar Surface Area* (TPSA), jumlah atom (*natoms*), berat molekul (MW), jumlah O-N (*nON*), jumlah OH-NH (*nOHNH*), *nviolations*, *number of rotatable bonds* (*nrotb*), dan volume. Prediksi bioaktivitas meliputi beberapa kategori yaitu *G-protein coupled receptor* (GPCR) ligan, *ion channel modulator*, penghambat kinase, ligan reseptor nuklear, penghambat protease, dan penghambat enzim.

Hasil analisis molinspiration di tabel 6 diinterpretasikan berdasar pada *Lipinski rule of five* (Lipinski, 2004). *Lipinski rule* tersebut menyatakan mengenai syarat senyawa yang dapat dikembangkan untuk obat dan diutamakan memiliki bioavailabilitas oral yang tinggi. Nilai optimal pada prediksi bioaktivitas ditunjukkan dengan skor yang semakin tinggi. Semakin tinggi nilai skor, maka senyawa tersebut memiliki potensi pada kategori tersebut. Penilaian sifat senyawa berbeda dengan penilaian pada prediksi bioaktivitas. Lipinski (2004) menyatakan *Lipinski rule* yang berisi syarat senyawa dapat dikatakan sebagai *drug like molecules*. Syarat tersebut yaitu nilai $\log P \leq 5$, $nON \leq 10$, berat molekul ≤ 500 , $nOHNH \leq 5$, dan jumlah *nviolations* lebih dari satu dapat menurunkan pada *bioavailability* oral. Berdasarkan Ertl dkk (2000), TPSA berguna untuk memprediksi kemampuan absorpsi obat pada usus, *bioavailability*, dan permeabilitas *blood brain barrier*. Nilai miLogP berfungsi untuk memprediksi permeabilitas molekul untuk melalui membran sel. Nilai *nrotb* berfungsi untuk menunjukkan *bioavailability* oral dari suatu obat. Semakin tinggi nilai *nrotb*, bioavailabilitas oral semakin rendah (Veber dkk., 2002; Lipinski, 2004)

Tabel 6. Prediksi sifat senyawa berdasarkan molinspiration

Senyawa	Sifat senyawa
---------	---------------

	miLogP	TPSA	hydrophobicity	MW	nO/N	nOH/NH	Nviolations	nrot	volume
Acetaminophen	0,68	49,33	11	151,16	3	2	0	1	140,01
10-gingerol	5,24	66,76	25	350,50	4	2	1	14	362,82
10-shogaol	6,37	46,53	24	332,48	3	1	1	13	348,59

Keterangan : miLogP ≤ 5 ; nviolations = 0

Nilai bioaktivitas senyawa sebagai target obat juga diprediksi melalui molinspiration dan hasil berupa skor. Senyawa yang memiliki skor lebih dari 0,00 diprediksi dapat melakukan aktivitas biologis. Skor -0,50 hingga 0,00 diprediksi memiliki aktivitas moderat sedangkan di bawah -0,50 diprediksi inaktif (Husain dkk., 2016).

Prediksi bioaktivitas senyawa menyatakan bahwa senyawa 10-gingerol dan 10-shogaol memiliki potensi yang lebih baik dibandingkan dengan acetaminophen (Tabel 7). Berdasarkan nilai yang dipaparkan oleh Husain dkk (2016) di alinea sebelumnya, diduga senyawa acetaminophen tidak memiliki peran pada prediksi bioaktivitas. Senyawa acetaminophen dikategorikan sebagai senyawa inaktif. Senyawa 10-gingerol dan 10-shogaol memiliki kemampuan sebagai *nuclear receptor ligand* dan *enzyme inhibitor*. Keunikan yang dimiliki oleh 10-gingerol dibandingkan dengan 10-shogaol adalah kemampuan 10-gingerol sebagai *protease inhibitor*.

Tabel 7. Prediksi bioaktivitas senyawa dengan molinspiration

Senyawa	Prediksi bioaktivitas					
	GPCR Ligand	Ion Channel Modulator	Kinase Inhibitor	Nuclear Receptor Ligand	Protease Inhibitor	Enzyme Inhibitor
Acetaminophen	-1,05	-0,54	-1,04	-1,21	-1,20	-0,68
10-shogaol	0,13	0,01	-0,34	0,26	0,07	0,25
10-gingerol	0,18	0,03	-0,24	0,22	0,21	0,32

Senyawa acetaminophen jika dibandingkan dengan 10-gingerol dan 10-shogaol memiliki nilai yang sesuai dengan Lipinski

rule. Nilai miLogP dan *violations* 10-gingerol dan 10-shogaol tidak memenuhi syarat. Berdasarkan hasil prediksi, senyawa 10-shogaol dan 10-gingerol tidak permeabel pada saat melalui membran sel. Senyawa 10-shogaol dan 10-gingerol memiliki nilai *nviolations* yang lebih tinggi dibandingkan acetaminophen, namun masih tergolong aman (Jagadish dkk., 2013).

Protein COX-1 dan COX-2 memiliki selektivitas kerja. Protein COX-1 diekspresikan secara konstitutif pada sel sedangkan COX-2 diekspresikan akibat respon inflamasi maupun respon material onkogenik. Stimulasi sinyal protein kinase C (PKC) dapat meningkatkan aktivitas MAPK sehingga mengaktivasi transkripsi COX-2. Beberapa faktor transkripsi termasuk *activator protein 1* dan *nuclear factor* kB (NF-kb) juga memediasi transkripsi COX-2. Mekanisme kemudian dilanjutkan dengan translasi sehingga terekspresi protein COX-2 yang terdapat pada membran plasma (Subbaramaiah & Dannenberg, 2003). Acetaminophen maupun senyawa bioaktif jahe perlu ditranspor menuju membran plasma supaya dapat berikatan dengan COX-2 dan menghambat sekresi prostaglandin.

Senyawa 10-gingerol memiliki nilai permeabilitas membran yang lebih rendah dibandingkan dengan acetaminophen, namun hasil interaksi menunjukkan bahwa 10-gingerol memiliki *energy binding* lebih rendah dan interaksi yang paling stabil. Hal tersebut berkaitan dengan mekanisme transpor 10-gingerol menuju COX-2. Protein COX-2 maupun COX-1 terdapat pada *luminal surface* retikulum endoplasma dan *contiguous inner membrane nuclear envelope* sehingga senyawa perlu ditranspor untuk berikatan dengan COX-2 (Subbaramaiah & Dannenberg, 2003; Mbonye dkk., 2006). Mekanisme transpor 10-gingerol menuju COX-2 diprediksi dapat melalui GPCR ligan, *ion channel modulator*, *nuclear receptor ligand*. Hal tersebut diprediksi melalui hasil molinspiration yang menunjukkan angka potensial di karakteristik tersebut pada 10-gingerol. Salah satu mekanisme yang sudah teridentifikasi adalah transpor gingerol melalui *ion channel* TRPV1 (*transient receptor potential vanilloid subtype 1*) yang merupakan channel Ca^{2+} permeabel dan berperan sebagai reseptor nyeri di saraf sensorik (Dedov dkk., 2002; Bertin dkk., 2014). Hal tersebut sama dengan salah satu mekanisme transpor acetaminophen (Zygmunt dkk., 2000), namun 10-gingerol memiliki potensi untuk ditranspor melalui

mekanisme yang lain sehingga dapat berikatan dengan COX-2 meskipun nilai permeabilitas membrannya rendah.

Bioavailabilitas termasuk kriteria yang menentukan transpor senyawa ke dalam tubuh. Nilai bioavailabilitas diinterpretasikan dengan TPSA dan *nrotb* (Ertl dkk., 2000). Acetaminophen diketahui memiliki bioavailabilitas intestinal yang tinggi. Saluran intestinal merupakan *first barrier* untuk mentranspor acetaminophen (Schäfer dkk., 2013). Hal tersebut berkaitan dengan nilai TPSA acetaminophen yang cukup tinggi. Acetaminophen memiliki bioavailabilitas oral yang tinggi dikarenakan nilai *nrotb* rendah (Hodgman & Garrard, 2012). Bioavailabilitas oral yang semakin baik harus memiliki skor *nrotb* yang semakin rendah (Veber dkk., 2002). Senyawa 10-gingerol, selain memiliki kemampuan transpor pada beberapa mekanisme, 10-gingerol juga memiliki bioavailabilitas oral dan intestinal yang cukup baik (Nakazawa & Ohsawa, 2002).

Penentuan interaksi dan transpor suatu obat di dalam tubuh tidak lepas dari pengaruh kimiawi. Interaksi ikatan hidrogen merupakan ikatan yang penting, spesifik, dan terlibat dalam proses biologis antara obat dengan lingkungannya. Ikatan hidrogen merupakan sifat yang menentukan dalam desain obat karena dapat memprediksi potensi, selektivitas, permeabilitas, dan kelarutan (Bissantz dkk., 2010; Graton dkk., 2016). Senyawa yang merupakan obat disyaratkan untuk dapat membentuk interaksi dengan target, dalam hal ini protein. Kemampuan tersebut diprediksi dengan jumlah donor maupun aseptor hidrogen untuk berinteraksi. Obat harus memiliki struktur fungsional untuk membentuk interaksi dengan reseptor dan ditandai dengan jumlah donor dan aseptor hidrogen. Nilai tersebut juga menunjukkan stabilitas dan kekuatan interaksi yang berhubungan dengan ΔG (Matter dkk., 2001; Muegge dkk., 2001; Lipinski, 2004). Interaksi 10-gingerol dengan reseptor memiliki nilai ΔG paling baik dikarenakan jumlah donor dan aseptor hidrogen pada 10-gingerol paling banyak dibandingkan dengan ligan yang lain. Hal tersebut menyebabkan ikatan 10-gingerol lebih stabil dan menghasilkan energi yang tinggi karena ada ligan yang berperan sebagai donor dalam ikatan hidrogen.

BAB V PENUTUP

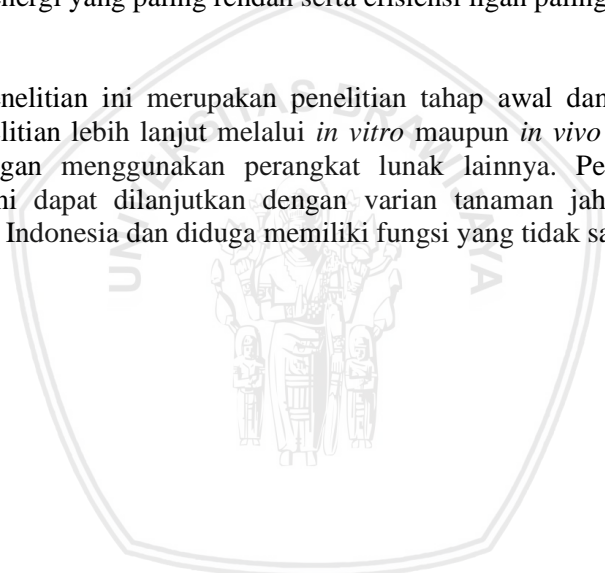
5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah interaksi yang terjadi pada reseptor COX-1 dan/atau COX-2 terhadap ligan berada pada sisi katalitik reseptor. Penghambatan sintesis PG melalui COX-2 paling optimal dilakukan oleh 10-gingerol dengan tipe ikatan yang lebih kuat dan jarak lebih dekat dibandingkan acetaminophen dan 10-shogaol.

Selektivitas penghambatan PG yang dilakukan oleh ligan tidak terjadi, namun pelarut berpengaruh dalam skor *energy binding* dan efisiensi ligan. Ikatan antara COX-2 dengan 10-gingerol memiliki energi yang paling rendah serta efisiensi ligan paling baik.

5.2 Saran

Penelitian ini merupakan penelitian tahap awal dan masih perlu penelitian lebih lanjut melalui *in vitro* maupun *in vivo* atau *in silico* dengan menggunakan perangkat lunak lainnya. Penelitian lanjutan ini dapat dilanjutkan dengan varian tanaman jahe yang tersebar di Indonesia dan diduga memiliki fungsi yang tidak sama.



DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A.M.A., M.E.M. El-Nour & S.M. Yagi, 2018. Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) Rhizome, Callus and Callus Treated with Some Elicitors. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*
- Barot, M., M. Patel, D. Kwatra & A.K. Mithra. 2013. Transporter Metabolism Interplay in the Eye. dalam A.K Mitra (Ed). **Ocular Transporters and Receptors: Their Role in Drug Delivery**. Woodhead Publishing, Cambridge.
- Bertin, S., Y. Aoki-Nonaka, P.R. De Jong, L.L. Nohara, H. Xu, S.R Stanwood, S. Srikanth, J. Lee, K. To, L. Abramson & T. Yu. 2014. The Ion Channel TRPV1 Regulates The Activation and Proinflammatory Properties of CD4+ T Cells. *Nature immunology* 15(11): 1055.
- Bissantz, C., B. Kuhn & M. Stahl. 2010. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. *Journal of medicinal chemistry* 53(14): 5061-5084.
- Blobaum, A.L & L.J. Marnett. 2007. Structural and Functional Basis of Cyclooxygenase Inhibition. *J Med Chem* 50(7): 1425-1441.
- Brayton, C.F. 1986. Dimethyl sulfoxide (DMSO): a review. *The Cornell Veterinarian* 76(1): 61-90.
- Breemen, R. van, Y. Tao & W. Li. 2011. Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Ginger (*Zingiber officinale*). *Filoterapia* 82 (1): 38-43.
- Capriotti, K., & J.A. Capriotti. 2012. Dimethyl sulfoxide: history, chemistry, and clinical utility in dermatology. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology* 5(9), 24-6.
- Chen, D., N. Oezguen, P. Urvil, P. C. Ferguson, S.M. Dann & T.C. Savidge. 2016. Regulation of Protein-Ligand Binding Affinity by Hydrogen Bond Pairing. *Science advances* 2(3) e1501240.
- Dannhardt, G & W. Kiefer. 2001. Cyclooxygenase Inhibitors: Current Status and Future Prospects. *Eur J Med Chem* 26: 109-126.
- de Abreu Costa, L., M. H. F. Ottoni, M.G. dos Santos, A.B. Meireles, V. G. de Almeida, W. de Fátima Pereira, B. A. de Avelar-

- Freitas & G. Eustáquio Alvim Brito-Melo. 2017. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Decreases Cell Proliferation and TNF- α , IFN- γ , and IL-2 Cytokines Production in Cultures of Peripheral Blood Lymphocytes. *Molecules* 22(11) 1789.
- Dedov, V. N., V.H. Tran, C.C. Duke, M. Connor, M. J. Christie, S. Mandadi & B.D. Roufogalis. 2002. Gingerols: A Novel Class of Vanilloid Receptor (VR1) Agonists. *British journal of pharmacology* 137(6): 793-798.
- de Freitas, R.F. & M. Schapira. 2017. A Systematic Analysis of Atomic Protein–Ligand Interactions in the PDB. *MedChemComm* 8(10): 1970-1981.
- Demir, Y. 2012. Non-Pharmacological Therapies in Pain Management. dalam Gabor Racz (Ed). **Pain Management-Current Issues and Opinions**. InTech. Rijeka.
- Derry, C.J., S. Derry & R.A. Moore. 2012. Caffeine as an Analgesic Adjuvant for Acute Pain in Adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2012(3). Art. No: CD009281. DOI: 10.1002/14651858.CD009281.pub2.
- Dinas Kesehatan Semarang. 2016. **Profil Kesehatan Kota Semarang 2016**. Semarang.
- Dugasani, S., M.R. Pichika, V.S. Nadarajah, M.K. Balijepalli, S. Tandra & J.N. Korlakunta. 2010. Comparative Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of (6)-gingerol, (8)-gingerol, (10)-gingerol, and (6)-shogaol. *Ethnopharmacology* 127: 515-520.
- Ertl, P., B. Rohde & P. Selzer. 2000. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *Journal of medicinal chemistry*, 43(20), 3714-3717.
- Fiebich, B.L., K. Lieb, M. Hull, B. Aicher, J. van Ryn, M. Pairet & G. Engelhardt. 2000. Effects of Caffeine and Paracetamol Alone or in Combination with Acetylsalicylic Acid on Prostaglandin E₂ Synthesis in Rat Microglial Cells. *Neuropharmacology* 39: 2205-2213.
- Food and Agricultural Organisation of United Nations. 2013. Economic and Social department: The statistical division.
- Funk, J.L., J.B. Frye, J.N. Oyarzo & B.N. Timmermann. 2009. Comparative Effects of Two Gingerol-Containing *Zingiber*

- officinale* Extracts on Experimental Rheumatoid Arthritis. *J Nat Prod* 73(3): 403-407.
- Ghasemzadeh, A., H.Z.E. Jaafar & A. Rahmat. 2015. Optimization Protocol for the Extraction of 6-Gingerol and 6-Shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and Improving Antioxidant and Anticancer Activity Using Response Surface Methodology. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 15: 258.
- Graton, J., J.Y. L. Questel, P. Maxwell & P. Popelier. 2016. Hydrogen-Bond Accepting Properties of New Heteroaromatic Ring Chemical Motifs: A Theoretical Study. *Journal of chemical information and modeling* 56(2): 322-334.
- Guo, J.B., Y. Fan, W.J. Zhang, H. Wu, L.M. Du & Y.X. Chang. 2017. Extraction of Gingerols and Shogaols from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) through Microwave Technique Using Ionic Liquids. *Journal of Food Composition and Analysis* 63: 35-42.
- Hinz, B., O. Cheremina & K. Brune. 2008. Acetaminophen (Paracetamol) is a Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitor in Man. *FASEB J* 22(2): 383-390.
- Hinz, B & K. Brune. 2012. Paracetamol and Cyclooxygenase Inhibition: Is There a Cause for Concern?. *Ann Rheum Dic* 71(1): 20-25.
- Hodgman, M. J. & A.R. Garrard. 2012. A Review of Acetaminophen Poisoning. *Critical care clinics* 28(4): 499-516.
- Husain, A., Ahmad, A., Khan, S. A., Asif, M., Bhutani, R., & Al-Abbasi, F. A. 2016. Synthesis, Molecular Properties, Toxicity and Biological Evaluation of Some New Substituted Imidazolidine Derivatives in Search of Potent Anti-inflammatory Agents. *Saudi Pharmaceutical Journal* 24(1), 104-114.
- Hussain, S. 2011. Patient Counseling about Herbal-Drug Interactions. *Afr J Tradit Complement Altern Med* 8(5 Suppl): 152-163.
- Ippoushi, K., K. Azuma, H. Ito, H. Horie & H. Higashio. 2003. 960-Gingerol Inhibits Nitric Oxide Synthesis in Activated J774.1 Mouse Macrophages and Prevents Peroxynitrotr-induced

- Oxidation and Nitration Reactions. *Life Sci* 14;73 (26): 3427-3437.
- ITIS Taxonomy. 2010. *Zingiber officinale* Roscoe (online) <https://www.itis.gov> diakses 1 Agustus 2018.
- Jabeen, I., K. Pleban, U. Rinner, P. Chiba & G.F. Ecker. 2012. Structure-Activity Relationships, Ligand Efficiency, and Liphophilic Efficiency Profiles of Benzophenone-Type Inhibitors of the Multidrug Transporter P-Glycoprotein. *J Med Chem* 55(7): 3261-3273.
- Jagadish, P.C., N. Soni & A. Verma. 2013. Design, Synthesis, and In vitro Antioxidant Activity of 1, 3, 5-trisubstituted-2-pyrazolines derivatives. *Journal of Chemistry* 2013.
- Jolad, S.D., R.C. Lantz, G.J. Chen, R.B. Bates & B.N. Timmermann. 2005. Commercially Processed Dry Ginger (*Zingiber officinale*): Composition and Effects on LPS-Stimulated PGE₂ Production. *Phytochemistry* 66: 1614-1635.
- Karimi A., M. Majlesi & M. Rafieian-Kopaei. 2015. Herbal Versus Synthetic Drugs: Beliefs and Facts. *J Nephropharmacol* 4(1): 27-30.
- Kawai T. 1994. Anti-emetic Principles of *Magnolia obovata* Bark and *Zingiber officinale* Rhizome. *Planta Medica* 60(1):17-20.
- Koo, K.L., A.J. Ammit, V.H. Tran, C.C. Duke & B.D. 2001. Roufogalis. Gingerols and Related Analogues Inhibit Arachidonic Acid-Induced Human Platelet Serotonin Release and Aggregation. *Thromb Res* 103(5): 387-397.
- Kostal, J. 2016. Computational Chemistry in Predictive Toxicology: status quo et quo vadis?. *In Advances in Molecular Toxicology* 10: 139-186.
- Kundu, J.K., H.K. Na & Y.J. Surh. 2009. Ginger-derived Phenolic Substances with Cancer Preventive and Therapeutic Potential. *Forum Nutr* 61: 182-192.
- Lantz, R.C., G.J. Chen, M. Sarihan, A.M. Solyom, S.D. Jolad & B.N. Timmermann. 2007. The Effect of Extracts from Ginger Rhizome on Inflammatory Mediator Production. *Phytomedicine* 14: 123-128.
- LeadIT. 2018. Knowledge Base: Question (online) <https://www.biosolveit.de> diakses 10 November 2018.

- Lipinski, C. A. 2004. Lead-and Drug-like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* 1(4): 337-341.
- Liu, Z. 2008. Preparation of Botanical Samples for Biomedical Research. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 8(2), 112-21.
- Mashhadi, N.S.,R. Ghiasyand, G. Askari, M. Hariri, L. Darvishi & M.R. Mofid. 2013. Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical Activity: Review of Current Evidence. *Int J Prev Med* 4(Suppl 1): S36-S42.
- Matter, H., K.H. Barighaus, T. Naumann, T. Klabunde & B. Pirard. 2001. Computational Approaches Towards The Rational Design of Drug-like Compound Libraries. *Combinatorial chemistry & high throughput screening* 4(6): 453-475.
- Mbonye, U.R., M. Wada, C.J. Rieke, H.Y. Tang, D.L. DeWitt & W.L. Smith. 2006. The 19-Amino Acid Cassette of Cyclooxygenase-2 Mediates Entry of the Protein into the Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation System. *Journal of Biological Chemistry* 281(47): 35770-35778.
- Muegge, I., S.L. Heald & D. Brittelli. 2001. Simple Selection Criteria For Drug-like Chemical Matter. *Journal of medicinal chemistry* 44(12): 1841-1846.
- Munsterhjelm, E., N.M. Munsterhjelm, T.T. Niemi, O. Ylikorkala, P.J. Neuvonen & P.H. Rosenberg. 2005. Dose-Dependent Inhibition of Platelet Function by Acetaminophen in Healthy Volunteers. *Anesthesiology* 103(4): 712-717.
- Nakazawa, T. & K. Ohsawa. 2002. Metabolism of [6]-gingerol in Rats. *Life sciences* 70(18): 2165-2175.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=168115, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/168115>. Diakses 10 Agustus 2018.
- National Center for Biotechnology Information. 2018. PubChem Compound Database; CID=1983, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1983>. Diakses 5 Agustus 2018.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=6442612,

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6442612>.

Diakses 10 Agustus 2018.

- Nittinger, E, T. Inhester, S. Bietz, A. Meyder, K.T. Schomburg, G. Lange, R. Klein & M. Rarey. 2017. Large-Scale Analysis of Hydrogen Bond Interaction Patterns in Protein–Ligand Interfaces. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(10): 4245-4257.
- Otunola, G.A., O.B. Oloyede, A.T. Oladiji & A.J. Afolayan. 2010. Comparative Analysis of the Chemical Composition of Three Spices – *Allium sativum* L. *Zingiber officinale* Rosc. And *Capsicum frutescens* L. Commonly Consumed in Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 9(41): 6927-6931.
- Pouplana, R., J.J. Lozano. & J. Ruiz. 2002. Molecular Modelling of the Differential Interaction Between Several Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Human Prostaglandin Endoperoxide H Synthase-2 (h-PGHS-2). *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 20(4): 329-343.
- Raharjo, S.J., C. Mahdi, N. Nurdiana, T. Kikuchi & F. Fatchiyah. 2014. Binding Energy Calculation of Patchouli Alcohol Isomer Cyclooxygenase Complexes Suggested as COX-1/COX-2 Selective Inhibitor. *Advance in Bioinformatics* 2014 (850628).
- Rayati, F., F. Hajmanouchehri & E. Najafi. 2017. Comparison of Anti-Inflammatory and Analgesic Effects of Ginger Powder and Ibuprofen in Postsurgical Pain Model: A Randomized, Double-Blind, Case-Control Clinical Trial. *Dent Res J (Isfahan)* 14(1): 1-7.
- Ricciotti, E & G.A. FitzGerald. 2011. Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31(5): 986-1000.
- Rouzer, C.A & L.J. Marnett. 2009. Cyclooxygenases: Structural and Functional Insights. *Journal of Lipid Research* 50(Supplement): S29-S34.
- Sales, K.J & H.N. Jabbour. 2003. Cyclooxygenase Enzymes and Prostaglandin in Pathology of the Endometrium. *Reproduction* 126 (5): 559-567.
- Sánchez-Salgado, J.C., R.R. Ortiz-Andrade, F. Aguirre-Crespo, J. Vergara-Galicia, I. León-Rivera, S. Montes, R. Villalobos-Molina & S. Estrada-Soto. 2007. Hypoglycemic,

- Vasorelaxant and Hepatoprotective Effects of *Cochlospermum Vitifolium* (Willd.) Sprengel: A Potential Agent for the Treatment of Metabolic Syndrome. *Journal of ethnopharmacology* 109(3): 400-405.
- Schäfer, C., K.R. Schröder, O. Höglinger, S. Tollabimazraehno & M.R. Lornejad-Schäfer. 2013. Acetaminophen Changes Intestinal Epithelial Cell Membrane Properties, Subsequently Affecting Absorption Processes. *Cellular Physiology and Biochemistry* 32(2): 431-447.
- Sellers, R.S., A. Radi & N.K. Khan. 2010. Pathophysiology of Cyclooxygenases in Cardiovascular Homeostasis. *Veterinary Pathology* 47(4): 601-613.
- Shahid, M & F. Hussain. 2012. Chemical Composition and Mineral Contents of *Zingiber officinale* and *Alpinia allughas* (Zingiberaceae) Rhizomes. *IJCBS* 2: 101-104.
- Sharifi-Rad, M., E.M. Varoni, B. Salehi, J. Sharifi-Rad, K.R. Matthews, S.A. Ayatollahi, F. Kobarfard, S.A. Ibrahim, D.Mnayer, Z.A. Zakaria, M. Sharifi-Rad, Z. Yousaf, M.Iriti, A. Basile & D. Rigano. 2017. Plants of the Genus *Zingiber* as a Source of Bioactive Phytochemicals: From Traditional to Pharmacy. *Molecules* 22 (2145): 1-20.
- Simmons, D.L., R.M. Botting & T. Hla. 2004. Cyclooxygenase Isozymes: the Biology of Prostaglandin Synthesis and Inhibition. *Pharmacological reviews* 56(3): 387-437.
- Smith, R.D., A.L. Engdahl, J.B. Dunbar Jr & H.A. Carlson. 2012. Biophysical Limits of Protein–Ligand Binding. *Journal of Chemical Information and Modeling* 52(8): 2098-2106.
- Sonale, R.S. & U.S. Kadimi. 2014. Characterization of Gingerol Analogues in Supercritical Carbon Dioxide (SC CO₂) Extract of Ginger (*Zingiber officinale*, R.). *Journal of food science and technology*, 51(11): 3383-3389.
- Srabovic, M., M. Huremovic, B. Catovic, S. Kulic & A. Taletovic. 2017. Design synthesis and crystallization of acetaminophen. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences, Section A: Chemical Sciences*. 7(1): 218-230.
- Streicher, J.M & Y. Wang. 2008. The Role of COX-2 in Heart Pathology. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry* 6: 69-79.

- Subbaramaiah, K., & A.J. Dannenberg. 2003. Cyclooxygenase 2: A Molecular Target for Cancer Prevention and Treatment. *Trends in pharmacological sciences* 24(2): 96-102.
- Tjendraputra, E., V.H. Tran, D. Liu-Brennan, B.D. Roufogalis & C.C. Duke. 2001. Effect of Ginger Constituents and Synthetic Analogues on Cyclooxygenase-2 Enzyme in Intact Cells. *Bioorg Chem* 29(3): 156-163.
- Tripathi, S., K.G. Maier, D. Bruch & D.S. Kittur. 2007. Effect of 6-Gingerol on Proinflammatory Cytokine Production and Costimulatory Molecule Expression in Murine Peritoneal Macrophages. *J. Surg. Res.* 138: 209–213.
- Turtle, E.J., J.W. Dear & D.J. Webb. 2013. A Systematic Review of the Effect of Paracetamol on Blood Pressure in Hypertensive and Non-Hypertensive Subjects. *Br J Clin Pharmacol* 75(6): 1396-1405.
- Uciechowska, U., J. Schemies, M. Scharfe, M. Lawson, K. Wichapong, M. Jung & W. Sippl. 2012. Binding Free Energy Calculations and Biological Testing of Novel Thiobarbiturates as Inhibitors of the Human NAD⁺ Dependent Histone Deacetylase Sirt2. *MedChemComm* 3(2): 167-173.
- Veber, D. F., S.R. Johnson, H.Y. Cheng, B.R. Smith, K.W. Ward & K.D. Kopple, K. 2002. Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *Journal of medicinal chemistry* 45(12): 2615-2623.
- Wan, S. & P.V. Coveney. 2009. A Comparative Study of the COX-1 and COX-2 Isozymes Bound to Lipid Membranes. *Journal of Computational Chemistry*, 30(7): 1038-1050.
- Warner, T.D., S. Nylander & C. Whatling. 2011. Anti-Platelet Therapy: Cyclo-Oxygenase Inhibition and the Use of Aspirin with Particular Regard to Dual Anti-Platelet Therapy. *British journal of clinical pharmacology* 72(4): 619-633.
- Wilson, P.B. 2015. Ginger (*Zingiber officinale*) as an Analgesic and Ergogenic Aid in Sport: A Systemic Review. *J Strength Cond Res* 29(10): 2980-2985.
- Wu, T.L & K. Larsen. 2000. Zingiberaceae. *Flora of China* 24:322–377

- Zarghi, A & S. Arfaei. 2011. Selective COX-2 Inhibitors: A Review of Their Structure-Activity Relationship. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 10 (4): 655-683.
- Zygmunt, P. M., H.H. Chuang, P. Movahed, D. Julius & E.D. Högestätt. 2000. The Anandamide Transport Inhibitor AM404 Activates Vanilloid Receptors. *European journal of pharmacology* 396(1), 39-42.

