

## **Efficacy of Black Sugarcane Leaves (*Saccharum officinarum* L.) as Anti-Dysmenorrhea In Silico Based on Molecular Docking**

### **Khasiat Daun Tebu Ireng (*Saccharum officinarum* L.) sebagai Anti-Dismenorea Secara *In Silico* Berbasis *Molecular Docking***

Fadilaturahmah<sup>1\*</sup>, Marta Dinata<sup>2</sup>, Martalasari<sup>2</sup>, Rahma Joni<sup>3</sup>, Rahmi Kurniati<sup>4</sup>, Filza Yulina Ade<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Prodi Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia

<sup>2</sup> Prodi Biologi, Fakultas Kehutanan dan Sains, Universitas Lancang Kuning, Pekanbaru, Indonesia

<sup>3</sup> Prodi Kimia, Fakultas Kehutanan dan Sains, Universitas Lancang Kuning, Pekanbaru, Indonesia

<sup>4</sup> Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia

\* Correspondence author : [fadilaturahmah@unp.ac.id](mailto:fadilaturahmah@unp.ac.id)

**ABSTRACT.** Dysmenorrhea is menstrual pain in women that interferes with daily activities. Dysmenorrhea causes decreased productivity, performance, sleep disturbances, and quality of life. The use of antidysmenorrhoea drugs such as non-steroidal anti-inflammatory drugs, oral contraceptive pills have many side effects in the form of nerve disorders, blood vessels, and even heart failure. Therefore, the exploration of natural medicines is essential. One of the traditional medicinal ingredients that is thought to have efficacy in relieving menstrual pain is black sugarcane leaves (*Saccharum officinarum* L.). Testing the efficacy of this medicinal ingredient can be done in silico using computational biology technology. This in silico study is effective in drug discovery efforts because it is cost and time-efficient. This study aims to analyze the ability of black sugarcane leaf phytochemical compounds to inhibit the dysmenorrhea pathway's activation based on molecular docking. This observational study is based on bioinformatics using the molecular docking method. Research data were obtained from analysis using software computing programs such as the National Center for Biotechnology Information, prediction of activity spectra of substances, Lipinski rule of five tests, pyrx, and discovery studio. The research data were analyzed based on the binding affinity value and visualization of the molecular docking results. Black sugarcane leaves contain 27 phytochemical compounds based on GCMS analysis with various bioactivities related to anti-dysmenorrhea (menstrual pain). 15 compounds have activity probability values (Pa) > 0.7, which indicates that their bioactivity is analogous to that of commercial drugs (natural effective drug candidates). The hexadecanoic acid compound is the best anti-dysmenorrhea drug candidate compared to other phytochemical compounds in black sugarcane leaves because it has the lowest binding affinity value of -6 kcal/mol.

**Keywords:** Binding Affinity; Bioinformatics; Ligand; Molecular Docking; Receptor.

**ABSTRAK.** Dismenorea merupakan nyeri menstruasi pada wanita yang mengganggu aktivitas sehari-hari. Dismenorea menyebabkan penurunan produktivitas, penurunan prestasi, gangguan tidur, dan penurunan kualitas hidup. Penggunaan obat antidismenorea seperti antiinflamasi non steroid, pil kontrasepsi oral memiliki banyak efek samping berupa gangguan saraf, pembuluh darah, bahkan gagal jantung. Oleh karena itu, eksplorasi obat berbahan alami sangat diperlukan. Salah satu bahan obat tradisional yang diduga memiliki khasiat dalam meredakan nyeri menstruasi yaitu daun tebu ireng (*Saccharum officinarum* L.). Pengujian khasiat bahan obat ini dapat dilakukan secara *in silico* menggunakan teknologi biologi komputasi. Kajian secara *in silico* ini efektif digunakan dalam upaya penemuan obat karena efisien biaya dan waktu. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan senyawa fitokimia daun tebu ireng dalam menghambat aktivasi jalur dismenorea berdasarkan *molecular docking*. Penelitian ini merupakan penelitian observasi berbasis bioinformatika dengan menggunakan metode *molecular docking*. Data penelitian diperoleh dari analisis menggunakan program komputasi *software* seperti *National Center for Biotechnology Information, prediction of activity spectra of substances, lipinski rule of five test, pyrx, dan discovery studio*. Data hasil penelitian dianalisis berdasarkan nilai *binding affinity* dan visualisasi hasil *molecular docking*. Daun tebu ireng mengandung 27 senyawa fitokimia berdasarkan analisis GCMS yang memiliki berbagai bioaktivitas terkait dengan anti-dismenorea (nyeri menstruasi). 15 senyawa memiliki nilai *probabilitas activity* ( $P_a$ ) > 0,7 yang mengindikasikan bahwa bioaktivitasnya analog dengan obat komersil (kandidat obat efektif alami). Senyawa hexadecanoic acid merupakan kandidat obat anti-dismenorea terbaik dibandingkan senyawa fitokimia lainnya pada daun tebu ireng karena memiliki nilai *binding affinity* terendah yaitu -6 kkal/mol.

**Kata kunci:** Binding Affinity; Bioinformatika; Ligan; Molecular Docking; Reseptor.



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2024 by author.

## 1. PENDAHULUAN

Salah satu gangguan pada sistem reproduksi wanita yaitu dismenorea atau nyeri menstruasi. Hal ini mengakibatkan terganggunya aktivitas sehari-hari bahkan dapat menurunkan kualitas hidup seseorang (Rencz *et al.*, 2017). Penderita dismenorea berat bahkan harus dirawat di rumah sakit karena tingkat nyeri yang tidak tertahankan (Soliman *et al.*, 2018). Selain itu, dismenorea juga mengakibatkan penurunan produktivitas di tempat kerja (Nnoaham *et al.*, 2011), penurunan prestasi (Bajalan *et al.*, 2018), dan gangguan tidur (Baker *et al.*, 2007).

Saat ini terdapat berbagai pilihan pengobatan bagi penderita dismenorea yaitu obat antiinflamasi non steroid (OAINS), pil kontrasepsi oral, inhibitor siklooksigenase-2 (COX-2). Penggunaan OAINS sebagai anti-dismenorea memiliki banyak efek samping seperti gangguan neurologis, sakit kepala, mual, dan menyebabkan gangguan pencernaan. Sedangkan penggunaan inhibitor COX-2 juga efektif mengatasi nyeri menstruasi, namun penggunaan obat jenis ini tidak diizinkan lagi karena meningkatkan resiko gagal jantung dan gangguan pembuluh darah (Marjoribanks, 2010; Osyande 2014).

Oleh karena itu, upaya penemuan dan pengembangan obat berbahan alami menjadi fokus utama berbagai penelitian biofarmakologi karena penggunaannya diduga lebih aman

dan rendah efek samping (Yuan *et al.*, 2016). Khasiat dan mekanisme obat berbahan alami dapat dikaji secara *in silico* (simulasi khasiat obat menggunakan teknologi komputasi) dengan menggunakan teknik *molecular docking*. Menurut Sliwoski *et al.* (2013), pendekatan ini sangat efisien dalam upaya penemuan dan pengembangan obat karena hemat waktu dan biaya. Dismenorea sangat berkaitan dengan mekanisme jalur inflamasi, salah satu reseptor terkait pada jalur pensinyalan dismenorea yaitu *Toll-like Receptor 2* (TLR-2) (Evan *et al.*, 2020).

Salah satu reseptor utama mekanisme inflamasi yaitu *Toll-like Receptor* (TLR) merupakan kelompok glikoprotein yang terletak di membran sel untuk mengenali molekul yang terdapat dalam mikroorganisme eksogen. TLR merupakan bagian dari *pattern recognition receptors* (PRRs). Patogen biasanya bertindak sebagai agonis TLR sehingga menstimulasi pelepasan sitokin inflamasi. Aktivasi reseptor ini digunakan untuk mengatasi infeksi virus ataupun kanker kulit. Sedangkan pemblokiran stimulasi TLR (antagonis) merupakan salah satu strategi yang dikembangkan untuk pencegahan dan pengobatan inflamasi (Oneill *et al.*, 2013). Aktivasi NF- $\kappa$ B menyebabkan pelepasan sitokin inflamasi. Menurut Kwok *et al.* (2013), reseptor yang sangat mempengaruhi dismenorea yaitu TLR-2 dan TLR-4, namun TLR-2 bersifat lebih spesifik dalam menganalisis tingkat nyeri.

*Molecular docking* merupakan teknik yang digunakan untuk memprediksi afinitas dan interaksi antara ligan dengan situs pengikatan (*binding site*) suatu protein. Teknik ini digunakan untuk merancang obat dan memperkirakan target kerja suatu obat pada bidang farmasi dan kedokteran (Tiwari dan Sakshi, 2022). Interaksi yang stabil antara ligan dan protein dapat diketahui melalui nilai *binding affinity* ( $\Delta G$ ) dan nilai *rootmean square deviation* (RMSD). *Binding affinity* merupakan nilai yang menunjukkan kemampuan ligan dalam berikatan dengan reseptor. Semakin besar nilai *binding affinity*, maka semakin rendah afinitas antara ligan dan reseptor. Sebaliknya jika semakin rendah nilai *binding affinity*, maka semakin stabil atau besar afinitas antara ligan dan reseptor (Purwanto *et al.*, 2021). Sedangkan nilai RMSD merupakan nilai yang menunjukkan penyimpangan ketika melakukan docking. Nilai RMSD yang ideal yaitu  $< 2\text{\AA}$  (Frimayanti *et al.*, 2021)

Eksplorasi bahan obat alami yang memiliki khasiat sebagai anti-dismenorea sangat diperlukan karena tingginya resiko efek samping penggunaan obat komersil. Salah satu bahan obat tradisional yang diduga memiliki khasiat dalam meredakan nyeri menstruasi yaitu daun tebu ireng (*Saccharum officinarum* L.). Namun, penelitian ilmiah terkait pemanfaatan dan senyawa fitokimia pada daun tebu ireng yang berkhasiat sebagai anti-dismenorea belum dikaji secara ekstensif dan mendalam. Sehingga penelitian mengenai khasiat daun tebu ireng sebagai anti-dismenorea melalui kajian *in silico* sangat diperlukan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan senyawa bioaktif daun tebu ireng

(*Saccharum officinarum* L.) dalam menghambat aktivasi jalur dismenorea berdasarkan *molecular docking* dan menganalisis nilai binding affinity hasil interaksi senyawa bioaktif daun tebu ireng (*Saccharum officinarum* L.) dengan reseptor TLR.

## 2. METODE

### Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu laptop, *software molecular docking* yang terdiri dari PASS (*Prediction of Activity Spectra of Substances*), *Lipinski's Rule of Five Test*, PyMol, BIOVIA *Discovery Studio*, Pyrx. Bahan yang digunakan akan digunakan pada penelitian ini yaitu ligan berupa senyawa fitokimia yang terdapat pada daun tebu ireng (*Saccharum officinarum* L.). Senyawa fitokimia daun tebu ireng diperoleh dari *database* pusat informasi bioteknologi (*National Center for Biotechnology Information*) pada website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

### Prosedur Penelitian

Mekanisme aksi senyawa bioaktif daun tebu ireng dalam sistem pensinyalan seluler yang terkait dengan inflamasi dilakukan dengan menggunakan *molecular docking* (aplikasi PyRx). Visualisasi dilakukan menggunakan *Discovery Studio* dan *software Pymol* untuk mengetahui interaksi antara ligan dan protein (Faqih *et al.*, 2019).

#### a **Prediksi Aktivitas Biologis Senyawa Kimia Ekstrak Daun Tebu Ireng menggunakan PASS Online (*Prediction of Activity Spectra of Substances*)**

PASS *online* merupakan program yang digunakan untuk memprediksi bioaktivitas suatu senyawa kimia. Prinsip kerja program program PASS adalah bioaktivitas suatu senyawa kimia sama dengan struktur kimianya. Prediksi ini menggunakan website PASS *online* (<http://www.way2drug.com/>). Struktur kimia yang diinput pada website PASS berupa SMILE (*Molecular Input Line Entry Systems*) yang dapat didownload di Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Setelah itu klik *Get Prediction* dan diperoleh hasil berupa bioaktivitas senyawa kimia yang diinput beserta nilai Pa (*Probability Activity*). Nilai Pa > 0.7 mengindikasikan bahwa senyawa tersebut memiliki bioaktivitas yang cukup tinggi dan ada kemungkinan merupakan analog dari obat komersil. Jika nilai  $0.5 < Pa < 0.7$  memiliki arti bahwa kemungkinan bioaktivitas senyawa uji lebih rendah dibandingkan obat komersil yang ada. Namun jika nilai Pa < 0,5 memiliki arti bahwa kemungkinan bioaktivitas senyawa uji sangat kecil (Anand *et al.*, 2017).

#### b **Justifikasi Ligan (Senyawa Kimia Esktrak Daun Tebu Ireng) untuk *Molecular Docking***

Justifikasi ligan dilakukan untuk mengetahui sifat hidrofobik atau hidrofilik suatu senyawa dan kelayakan suatu ligan yang akan diproses dengan *molecular docking*. Justifikasi ligan ini dilakukan menggunakan *Lipinski Rule of Five Test*. Langkah penggunaan program ini yaitu

buka website <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>, kemudian masukkan file struktur senyawa kimia yang telah didownload pada Pubchem (dalam format sdf atau pdb) > masukkan nilai pH normal (7) > submit. Syarat yang harus dipenuhi yaitu berat molekul senyawa < 500 Da; nilai Log P < 5; akseptor ikatan hidrogen < 10; dan jumlah donor ikatan hidrogen < 5 (Jones *et al.*, 2021).

### **c Preparasi Struktur Ligan**

Ligan (senyawa fitokimia ekstrak daun tebu ireng) yang diuji didownload dari web Pubchem dalam bentuk 3D (format file SDF). Kemudian buka aplikasi BIOVIA Discovery Studio > file > open (buka ligan yang telah didownload) > file > save as (format file pdb) (Sastry *et al.*, 2013).

### **d Preparasi Struktur Reseptor**

Reseptor (protein) yang digunakan merupakan protein yang terlibat dalam jalur pensinyalan dismenore. Reseptor yang digunakan yaitu *Toll-like Receptor2* (TLR-2). TLR-2 merupakan reseptor khusus yang responsif pada jalur seluler dismenore (Evan *et al.*, 2020). Struktur reseptor TLR-2 diperoleh dari website *Protein Data Bank*. Buka website > search > ketik nama reseptor > download file (format pdb). Kemudian buka aplikasi PyMol > file > open (file reseptor) > all > A > remove water (Nauli, 2014).

### **e Docking Ligan dan Reseptor menggunakan PyRx**

Buka aplikasi PyRx > klik start > add macromolecule > masukkan reseptor (protein) yang telah dipreparasi > open > add ligand > masukkan semua ligand yang akan didocking. Kemudian klik vina wizard > klik macromolecule dan semua ligand > forward > maximize grid box > forward. Setelah itu, hasil docking berupa binding affinity dan nilai RMSD disajikan pada bagian bawah. Kemudian klik hasil > protein + ligand > save (nama file.pdb). Keseluruhan hasil docking dapat disimpan dalam bentuk CSV di Excel. Nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2Å<sup>o</sup> mengindikasikan bahwa proses docking yang dilakukan telah akurat. Namun jika nilai RMSD > 2Å<sup>o</sup> mengindikasikan bahwa proses docking belum akurat dan perlu dilakukan re-docking (Pratoko, 2012).

### **f Visualisasi Hasil Docking Menggunakan Discovery Studio**

Visualisasi hasil docking menggunakan Discovery Studio digunakan untuk mengamati jenis interaksi kimia yang terbentuk antara ligand dan reseptor. Buka aplikasi Discovery Studio > file > open (pilih file hasil docking) > open > receptor-ligan > ligand interaction > show 2D diagram > file > save as.

### **Teknik Pengumpulan dan Analisis Data**

Senyawa fitokimia yang terdapat pada daun tebu ireng diperoleh dari *database* pusat informasi bioteknologi (*National Center for Biotechnology Information*) pada website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Sedangkan struktur kimia reseptor TLR-2 dan NF-κB

diperoleh dari website *Protein Data Bank*. Adapun struktur kimia daun tebu ireng dengan format sdf atau pdb juga didownload di Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Nilai PA (*Probability Activity*) senyawa fitokimia daun tebu ireng diperoleh dari analisis menggunakan program PASS online (*Prediction of Activity Spectra of Substances*) (<http://www.way2drug.com/>). Berat molekul senyawa, nilai Log P, akseptor ikatan hidrogen, dan jumlah donor ikatan hidrogen ligan diperoleh dari program *Lipinski Rule of Five Test* (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>). Nilai *binding affinity* diperoleh dari hasil *docking* ligand an reseptor menggunakan aplikasi PyRx. Sedangkan jenis ikatan kimia yang terbentuk antara ligan dan reseptor TLR-2 diperoleh dari visualisasi hasil *docking* menggunakan *discovery studio*. Apabila nilai *binding affinity* yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan senyawa standar, maka senyawa tersebut diprediksi memiliki kemampuan inhibitor TLR-2 lebih baik daripada senyawa standar.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun tebu ireng diperoleh melalui studi literatur. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Okokon *et al.* (2022), daun tebu ireng mengandung beberapa senyawa fitokimia yang disajikan pada Tabel 1 berdasarkan analisis GCMS. Daun tebu ireng mengandung 27 jenis senyawa fitokimia yang kemungkinan memiliki berbagai macam bioaktivitas.

Tabel 1. Kandungan Senyawa Fitokimia pada Daun Tebu Ireng (Okokon *et al.*, 2022)

No	Senyawa Fitokimia
1	Tetracosanol
2	Hexacosanol
3	Heptacosanol
4	Octacosanol
5	Nonacosanol
6	Triacotanol
7	Dotriacotanol
8	Tetratriacontanol
9	Hexacosanoicacid
10	Heptacosanoicacid
11	Octacosanoicacid
12	Nonacosanoicacid
13	Triacotanoicacid
14	Hentriacotanoicacid
15	Trtriacontanoicacid
16	Pentatriacontanoicacid
17	Hexacotricotanoicacid
18	Hexadecanoic acid
19	Octadec-9-enoic acid

- 20 Bis (2-ethylhexyl) phthalate
- 21 3,4,5-Trihydroxy benzoic acid (Gallic acid)
- 22  $\alpha$ -d-Xylopyranose
- 23 Propanoic acid
- 24 4-Hydroxycinnamic acid
- 25 Propinoic acid
- 26 Octadecane-1,2-diol
- 27  $\beta$ -Sitosterol

Jenis bioaktivitas masing-masing senyawa fitokimia tersebut dapat diketahui melalui uji PASS *Online Test (Prediction of Activity Spectra of Substances)*. PASS online merupakan suatu program yang dapat memprediksi sifat biologis suatu senyawa kimia. Berdasarkan uji PASS online (Tabel 2) diperoleh hasil bahwa dari 27 jenis senyawa fitokimia yang terdapat pada daun tebu ireng, 16 senyawa memiliki nilai *probability activity* (Pa) lebih dari 0,7 yang mengindikasikan bahwa aktivitas senyawa tersebut cukup tinggi dan terdapat kemungkinan analog dengan obat komersil. Sedangkan 11 senyawa lainnya memiliki nilai Pa kurang dari 0,7 yang mengindikasikan bahwa aktivitas biologis senyawa rendah dan relatif lebih kecil dibandingkan obat komersil. Jenis bioaktivitas senyawa fitokimia pada daun tebu ireng yang berkaitan dengan anti-dismenorea cukup beragam seperti inhibitor Nitrit Oksida (NO), inhibitor prostaglandin, inhibitor leukotrin, antiinflamasi, inhibitor histamine, dan inhibitor TNF (*Tumor Necrosis Factor*).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas biologis senyawa kimia pada daun tebu ireng dengan PASS *Online Test*

No	Senyawa	Bioaktivitas	Nilai Pa (Probability Activity)
1	Tetracosanol	Vasoprotector	0,846
		Membrane permeability inhibitor	0,833
		Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antiseborrheic	0,816
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
2	Hexacosanol	Vasoprotector	0,846
		Antiseborrheic	0,816
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
3	Heptacosanol	Vasoprotector	0,846
		Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antiseborrheic	0,816
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
4	Octacosanol	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
5	Nonacosanol	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817

		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
6	Triaccontanol	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antiseborrheic	0,816
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
7	Dotriacontanol	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antiseborrheic	0,816
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
8	Tetatriacontanol	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,817
		Antieczematic	0,808
		Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,780
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,749
9	Hexacosanoic acid	Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,921
		Leukotriene-B4 20-monooxygenase inhibitor	0,860
		Antiinflammatory, intestinal	0,727
10	Heptacosanoic acid	Prostaglandin-A1 DELTA-isomerase inhibitor	0,921
		Antiinflammatory, intestinal	0,727
11	Octacosanoic acid	Antieczematic	0,920
		Leukotriene-B4 20-monooxygenase inhibitor	0,860
		Thromboxane B2 antagonist	0,728
		Antiinflammatory, intestinal	0,727
12	Nonacosanoic acid *	Leukotriene-C4 synthase inhibitor	0,679*
		Antipruritic, allergic	0,630*
		Prostaglandin E1 antagonist	0,568*
		Antiinflammatory, ophthalmic	0,403*
13	Triaccontanoic acid *	Prostaglandin H2 antagonist	0,065*
		Prostaglandin D2 antagonist	0,063*
14	Hentriacontanoic acid *	Histamine release inhibitor	0,589*
		Antiinflammatory	0,515*
15	Tritriacontanoic acid	Leukotriene-B4 20-monooxygenase inhibitor	0,860
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,841
16	Pentatriacontanoic acid *	Histamine release inhibitor	0,589*
17	Hexacotriacontanoic acid *	Antiinflammatory	0,515*
18	Hexadecanoic acid	Antiinflammatory, intestinal	0,727
19	Octadec-9-enoic acid *	Antiinflammatory	0,614*
20	Bis (2-ethylhexyl) phthalate *	Antiinflammatory	0,537*
		Prostaglandin-I synthase inhibitor	0,063*
21	Propanoic acid	Nitrite reductase (NO-forming) inhibitor	0,865
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,835
		Leukotriene-B4 20-monooxygenase inhibitor	0,798
22	4-Hydroxycinnamic acid	Antiseborrheic	0,869
		Leukotriene-B4 20-monooxygenase inhibitor	0,740
		TNF expression inhibitor	0,737
		Prostaglandin-E2 9-reductase inhibitor	0,711
23	3,4,5-Trihydroxy benzoic acid (Gallic acid) *	Antiinflammatory	0,548*
24	$\alpha$ -d-Xylopyranose *	Antiinfective	0,586*
		Vasoprotector	0,477*
25	Propionic acid *	Antiinflammatory	0,266*
		Antioxidant	0,159*
26	Octadecane-1,2-diol *	Prostaglandin EP3 antagonist	0,014*
		Antiinflammatory steroid	0,016*
27	$\beta$ -Sitosterol*	Antiinflammatory	0,377*



Keterangan: tanda \* menunjukkan bahwa nilai  $P_a < 0,7$  (rendah dibandingkan obat komersil)

Dismenorea atau nyeri pinggul saat menstruasi sangat erat kaitannya dengan proses inflamasi. Pada saat menstruasi terjadi peluruhan dinding rahim karena turunnya kadar hormone progesterone. Kadar progesterone yang rendah menyebabkan pelepasan asam fosfatase dan enzim litik yang terdapat dalam lisosom ke sitoplasma. Enzim tersebut mencerna sel yang menyebabkan pelepasan prostaglandin. Prostaglandin merupakan salah satu senyawa yang menyebabkan rasa nyeri, peradangan, dan kontraksi rahim (Maybin & Critchley, 2021).

Senyawa fitokimia pada daun tebu ireng yang memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor prostaglandin berkontribusi positif terhadap berkurangnya nyeri atau kram yang terjadi saat menstruasi. Apabila pembentukan prostaglandin dihambat, maka reaksi nyeri, peradangan, dan kontraksi rahim tidak akan terjadi sehingga kadar nyeri saat menstruasi dapat teratasi (PubChem, 2024).

Selain itu, senyawa fitokimia daun tebu ireng juga memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor NO. Menurut Cardenes *et al.* (2016), *nitrit oksida sintase* adalah gen proinflamasi yang dikeluarkan sewaktu proses inflamasi (fase ultimat) yang diinduksi oleh makrofag. Menurut Pratiwi *et al.* (2018), nitrit oksida akan menyebabkan peningkatan vasodilatasi darah, peningkatan sirkulasi darah yang menyebabkan inflamasi. Apabila pembentukan NO dihambat, maka gejala inflamasi seperti vasodilatasi dan peningkatan sirkulasi darah dapat teratasi.

Bioaktivitas senyawa fitokimia daun tebu ireng lainnya yaitu sebagai inhibitor TNF (*Tumor Necrosis Factor*). TNF merupakan salah satu sitokin inflamasi yang menyebabkan terbentuknya prostaglandin. Apabila pembentukan TNF dihambat, maka prostaglandin juga tidak akan terbentuk, sehingga reaksi nyeri tidak akan terjadi (Pan *et al.*, 2010).

Sebelum *molecular docking*, senyawa fitokimia (ligan) yang digunakan diuji terlebih dahulu kelayakannya menggunakan *Lipinski Rule of Five Test* untuk mengetahui kelayakan suatu ligan untuk didocking. Apabila ligan memenuhi 5 syarat *Lipinski Rule of Five* mengindikasikan bahwa ligan tersebut layak untuk didocking. Syarat yang harus dipenuhi yaitu berat molekul senyawa  $< 500$  Da; nilai  $\text{Log } P < 5$ ; akseptor ikatan hidrogen  $< 10$ ; dan jumlah donor ikatan hidrogen  $< 5$ . Ligan yang memenuhi kriteria tersebut dipilih 10 ligan dengan konsentrasi tertinggi (GC-MS) untuk didocking (Mardiningrum *et al.*, 2021). Berdasarkan *Lipinski Rule of Five Test* (Tabel 3) yang dilakukan terhadap 15 senyawa fitokimia daun tebu ireng dengan nilai  $P_a > 0,7$  diperoleh hasil bahwa semua senyawa fitokimia tersebut memenuhi kriteria ligan yang layak untuk diproses lebih lanjut dengan *molecular docking*.

Senyawa fitokimia daun tebu ireng yang memiliki nilai  $P_a > 7$  dan memenuhi standar kelayakan ligan didocking dengan reseptor TLR-2 (*Toll-like Receptor-2*) menggunakan aplikasi PyRx. Proses docking menggunakan aplikasi PyRx sehingga diperoleh nilai binding affinity dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Semakin kecil nilai binding affinity, maka interaksi yang terbentuk antara ligand dan reseptor semakin kuat. Sedangkan nilai RMSD menggambarkan tingkat keakuratan proses docking yang dilakukan. Nilai  $RMSD < 2 \text{ \AA}$  mengindikasikan bahwa proses docking yang dilakukan telah akurat (Anand *et al.*, 2017).

Tabel 3. Hasil uji kelayakan ligan senyawa kimia pada daun tebu ireng dengan *Lipinski Rule of Five Test*

No	Senyawa	Mass	Donor	Acceptor	LogP	Molar	Justifikasi
1	Tetracosanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
2	Hexacosanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
3	Heptacosanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
4	Octacosanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
5	Nonacosanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
6	Triaccontanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
7	Dotriaccontanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
8	Tetratriacontanol	312	5	6	-0,053	77,15	√
9	Hexacosanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
10	Heptacosanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
11	Octacosanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
12	Tritriacontanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
13	Hexadecanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
14	Octadec-9-enoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
15	Propanoic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√
16	4-Hydroxycinnamic acid	312	5	6	-0,053	77,15	√

Berdasarkan Tabel 4, nilai *binding affinity* terendah hasil docking ligan dengan protein NF- $\kappa$ B yaitu senyawa hexadecanoic acid dengan nilai *binding affinity* -6 kkal/mol. Hal ini mengindikasikan bahwa kemampuan senyawa hexadecanoic acid dalam menghambat jalur inflamasi dengan memblokir pensinyalan protein NF- $\kappa$ B lebih baik dibandingkan dengan 15 senyawa lainnya berdasarkan nilai *binding affinity*. Adapun nilai RMSD semua hasil docking yaitu  $0^0 \text{ \AA}$  yang mengindikasikan bahwa semua hasil docking akurat karena nilai  $RMSD < 2^0 \text{ \AA}$ .

Nilai *binding affinity* merupakan nilai yang menggambarkan kekuatan ikatan antara ligan (senyawa kimia) dengan reseptor (protein). Nilai *binding affinity* menggunakan prinsip hukum ketiga termodinamika. Jika nilai *binding affinity*  $< 0$  mengindikasikan bahwa reaksi berlangsung spontan (menghasilkan produk). Apabila nilai *binding affinity*  $= 0$  mengindikasikan bahwa reaksi dapat balik, sedangkan jika  $> 0$  mengindikasikan bahwa tidak terjadi reaksi. Semakin kecil nilai *binding affinity*, maka ikatan antara ligand dan reseptor

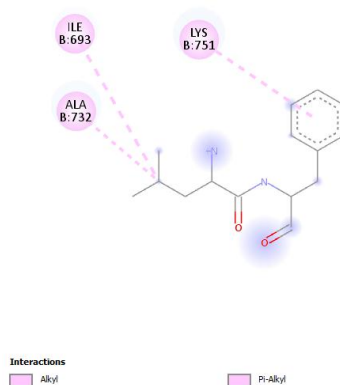
semakin kuat dan stabil (Davidson *et al.*, 2013). Nilai *binding affinity* menggambarkan jumlah energi yang dilepaskan oleh senyawa ligan untuk berinteraksi dan membentuk ikatan dengan reseptor. Oleh karena itu, semakin rendah (semakin minus) nilai *binding affinity* maka semakin banyak energi yang digunakan oleh ligan untuk membentuk ikatan dengan reseptor sehingga ikatan tersebut akan semakin kuat (Nayak & Kumar, 2017).

Tabel 4. Hasil docking senyawa bioaktif pada daun tebu ireng sebagai antagonis TLR-2.

No	Senyawa	Nilai Binding Affinity (kcal/mol)	RMSD ( $^{\circ}$ A)
1	Tetracosanol	-4,9	0
2	Hexacosanol	-5,3	0
3	Heptacosanol	-5,9	0
4	Octacosanol	-4,8	0
5	Nonacosanol	-4,8	0
6	Triacontanol	-3,6	0
7	Dotriacontanol	-5,4	0
8	Tetratriacontanol	-5,1	0
9	Hexacosanoic acid	-5,2	0
10	Heptacosanoic acid	-4,9	0
11	Octacosanoic acid	-5,3	0
12	Tritriacontanoic acid	-4,6	0
13	Hexadecanoic acid	-6	0
14	Octadec-9-enoic acid	-5,1	0
15	Propanoic acid	-3,7	0
16	4-Hydroxycinnamic acid	-5,2	0

Interaksi antarmolekul atau ikatan non-kovalen merupakan konsep dasar dalam menganalisis fenomena makroskopik. Interaksi antarmolekul diantaranya adalah ikatan dipol-dipol, dipol-ion, dipol-dipol terinduksi, ikatan van der waals, ikatan Hidrogen, gaya london, dan efek hidrofobik dan hidrofilik. Berdasarkan Gambar 1, antara senyawa hexadecanoic acid dengan reseptor TLR-2 terdapat ikatan peptida yang menghubungkan asam-asam amino. Pada senyawa hexadecaanoic acid ikatan peptida berkontribusi dalam membentuk ikatan hidrogen. Ikatan ini terbentuk antara H pada asam amino alanin (ala) dan O pada asam amino isoleusin (Ile) (Zhang *et al.*, 2022).

Ikatan hidrogen pada senyawa-senyawa metabolit sekunder sangat berperan dalam system *drug delivery*. Pada sistem *drug delivery*, konsep *time release* didasarkan pada kekuatan ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen berdasarkan kekuatannya digolongkan menjadi ikatan hidrogen lemah (kecil dari 20 kJmol<sup>-1</sup>), sedang (20-140 kJmol<sup>-1</sup>), dan kuat (besar dari 140 kJmol<sup>-1</sup>) (Bulusu & Desiraju, 2020). Senyawa hexadecaanoic acid pada Gambar 1 memiliki ikatan hidrogen sedang dengan energi sebesar -6 kJmol<sup>-1</sup> (25 kJmol<sup>-1</sup>). Selain itu, pada asam amino lysin (lys) terdapat efek resonansi elektron pada gugus aromatic. Resonansi elektron ini menyebabkan senyawa hexadecaanoic acid lebih stabil.



Gambar 1. Hasil Docking Senyawa Hexadecaanoic acid dengan Reseptor TLR-2

#### 4. KESIMPULAN

Daun tebu ireng mengandung 27 senyawa fitokimia berdasarkan analisis GCMS yang memiliki berbagai bioaktivitas terkait dengan anti-dismenorea (nyeri menstruasi). 15 senyawa memiliki nilai *probabilitas activity* (Pa) > 0,7 yang mengindikasikan bahwa bioaktivitasnya analog dengan obat komersil (kandidat obat efektif alami). Senyawa hexadecanoic acid merupakan kandidat obat anti-dismenorea terbaik dibandingkan senyawa fitokimia lainnya pada daun tebu ireng karena memiliki nilai *binding affinity* terendah yaitu -6 kkal/mol.

#### REFERENSI

- Anand, A., Sharma, N., and Khurana, N. 2017. Prediction Of Activity Spectra Of Substances Assisted Prediction of Biological Activity Spectra Of Potential Anti-Alzheimer's Phytoconstituents. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol. 10(22159): 13-14.
- Bajalan Z, Moafi F, Moradibaglooei M, Alimoradi Z. Mental health and primary dysmenorrhea: a systematic review. *J Psychosom Obstet Gynaecol*. 2018;1–10. doi:10.1080/0167482X.2018.1470619
- Baker FC, Lamarche LJ, Iacovides S, Colrain IM. Sleep and menstrual-related disorders. *Sleep Med Clin*. 2008;3(1):25–35. doi:10.1016/j.jsmc.2007.10.001
- Bakhsh, H., Algenaimi, E., Aldhuwayhi, R., & AboWadaan, M. (2022). Prevalence of dysmenorrhea among reproductive age group in Saudi Women. *BMC women's health*, 22(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12905-022-01654-9>
- Bulusu, G., & Desiraju, G. R. (2020). Strong and Weak Hydrogen Bonds in Protein–Ligand Recognition. *Journal of the Indian Institute of Science*, 100(1), 31–41. <https://doi.org/10.1007/s41745-019-00141-9>
- Davidson, C., Yu-Wen, L., Ke, L., and Weiming. 2013. Prostaglandins and Neural Functions: A Review. *Advance in Medicine and Biology*. Vol. 69.
- Du, X., Li, Y., Xia, Y., Ai, S., Liang, J., Sang, P., and Ji, X. 2016. *Insights into Protein – Ligand Interactions: Mechanisms, Model, and Methods*. Vol. 17(144): 1–34.
- Evans, S. F., Kwok, Y. H., Solterbeck, A., Liu, J., Hutchinson, M. R., Hull, M. L., & Rolan, P. E. (2020). Toll-Like Receptor Responsiveness of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Young Women with Dysmenorrhea. *Journal of pain research*, 13, 503–516. <https://doi.org/10.2147/JPR.S219684>

- Faqih, K., Yahmin., Suharti. 2019. Skrining Turunan Flavonoid Sebagai Kandidat Inhibitor Protease nsP2 dari Virus Chikungunya Menggunakan Molecular Docking. *Jurnal Kimia dan Terapannya*. Vol. 3(1): 38
- Frimayanti, N., Lukman, A., and Nathania, L. 2021. Studi Molecular Docking Senyawa 1,5-Benzothiazepine Sebagai Inhibitor Dengue SDEN-2 NS2B / NS3 Serine Protease. *Chempublish Journal*. Vol 6(1): 54–62
- Jones Lipinski, R. A., Thillier, Y., Morisseau, C., Sebastiano, C. S., Jr, Smith, B. C., Hall, C. D., & Katritzky, A. R. (2021). Molecular docking-guided synthesis of NSAID-glucosamine bioconjugates and their evaluation as COX-1/COX-2 inhibitors with potentially reduced gastric toxicity. *Chemical biology & drug design*, 98(1), 102–113. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13855>
- Kho KA, Perisai JK. Diagnosis dan penatalaksanaan dismenore primer. *JAMA*. 2020;323:268–9. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.16921>.
- Kural, M., Noor, N. N., Pandit, D., Joshi, T., & Patil, A. (2015). Menstrual characteristics and prevalence of dysmenorrhea in college going girls. *Journal of family medicine and primary care*, 4(3), 426.
- Kwok, Y. H., Tuke, J., Nicotra, L. L., Grace, P. M., Rolan, P. E., & Hutchinson, M. R. (2013). TLR 2 and 4 responsiveness from isolated peripheral blood mononuclear cells from rats and humans as potential chronic pain biomarkers. *PloS one*, 8(10), e77799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077799>
- Lobo RA, Gershenson DM, Lentz GM. *Comprehensive gynecology E-Book*. Elsevier Health Sciences, 2016.
- Mardiningrum, R., Kamiel, R.B., Susanti, S., Aas, N., Ruswanto, R. 2021. In Silico Senyawa 1,4-Napthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*. Vol. 17(1):83-95.
- Marjoribanks\_J, Proctor\_M, Farquhar\_C, Derks Roos\_S. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for dysmenorrhoea. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 1. [DOI: 10.1002/14651858.CD001751.pub2]
- Maybin J.A., Critchley H.O.D. Progesterone: A pivotal hormone at menstruation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011;1221:88–97. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.05953.x.
- Molla, A., Duko, B., Girma, B., Madoro, D., Nigussie, J., Belayneh, Z., Mengistu, N., & Mekuriaw, B. (2022). Prevalence of dysmenorrhea and associated factors among students in Ethiopia: A systematic review and meta-analysis. *Women's health (London, England)*, 18, 17455057221079443.
- Muluneh, A. A., Nigussie, T. S., Gebreslasie, K. Z., Anteneh, K. T., & Kassa, Z. Y. (2018). Prevalence and associated factors of dysmenorrhea among secondary and preparatory school students in Debremarkos town, North-West Ethiopia. *BMC women's health*, 18(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s12905-018-0552-x>
- Nauli, T. 2014. Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus niger* dengan *Docking Ligan*. *JKTI*. Vol. 16(2).
- Nayak, B. and Kumar, A. 2017. Activity Of Leukotrienes In Inflammation. *European Journal Of Pharmaceutical And Medical Research*. Vol.4: 207-215
- Nnoaham KE, Hummelshoj L, Webster P, et al. Impact of endometriosis on quality of life and work productivity: a multicenter study across ten countries. *Fertil Steril*. 2011;96(2):366–373.e8. doi:10.1016/j.fertnstert. 2011.05.090
- Okokon, J. E., Mobley, R., Edem, U. A., Basse, A. I., Fadayomi, I., Drijfhout, F., Horrocks, P., & Li, W. W. (2022). In vitro and in vivo antimalarial activity and chemical profiling of sugarcane leaves. *Scientific reports*, 12(1), 10250. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14391-8>
- O'Neill LA, Golenbock D, Bowie AG. The History of Toll-like Receptors– Redefining Innate Immunity. *Nat Rev Immunol* (2013) 13(6):453–60.
- Osayande\_AS, Mehulic\_S. Diagnosis and initial management of dysmenorrhea. *American Family Physician* 2014;89(5):341-6.

- Pan P.H., Lin S.Y., Ou Y.C., Chen W.Y., Chuang Y.H., Yen Y.J., Liao S.L., Raung S.L., Chen C.J. 2010. Stearic Acid Attenuates Cholestasis-Induced Liver Injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 391(3): 1537-1542.
- Pratoko, D.K. 2012. Molecular Docking Senyawa Fitokimia *Piper longum* terhadap Reseptor Siklooksigenase-2 sebagai Antiinflamasi. *Chemistry Progress*. Vol. 5(1): 31-36.
- Purwanto, D.S., Susanti, H., and Sugihartini, N. 2021. Molecular Docking as Potential Anti-Inflamed Quersetin of Moringa Leaf (*Moringa alifera* L.) with Autodock-Vina. *Jurnal Ilmiah Manusia dan Kesehatan*. Vol. 4 (2):309-313.
- Rencz F, Péntek M, Stalmeier PF, et al. Bleeding out the quality-adjusted life years: evaluating the burden of primary dysmenorrhea using time trade-off and willingness-to-pay methods. *Pain*. 2017;158 (11):2259–2267. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001028
- Saputri, K.E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., and Santoso, B. 2016. Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta*. Vol. 4 (1): 16-20.
- Sastry, A.M., Matvey, A., Tyler, D., Ramakrishna, A., Woody, S. 2013. Protein and Ligand Preparation. *Journal Computer Aided Molecular Design*. Vol. 27(2):221-234.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E. W. (2013). Computational Methods in Drug Discovery, *Pharmacological Reviews*, 66(1), 334-395.
- Soliman A, Surrey E, Bonafede M, Nelson J, Castelli-Haley J. Realworld evaluation of direct and indirect economic burden among endometriosis patients in the United States. *Adv Ther*. 2018;35 (3):408–423. doi:10.1007/s12325-018-0667-3
- Tadese, M., Kassa, A., Muluneh, A. A., & Altaye, G. (2021). Prevalence of dysmenorrhoea, associated risk factors and its relationship with academic performance among graduating female university students in Ethiopia: a cross-sectional study. *BMJ open*, 11(3), e043814.
- Tiwari, A., Sakshi, S. 2022. *Bioinformatics- Computational Approaches in Drug Designing*. Academic Press.
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G. (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Product, *Molecules*, 21(5), 2-18.
- Zhang, N., Wu, J., Zhang, S., Yuan, M., Xu, H., Li, J., Zhang, P., Wang, M., Kempfer, M. L., Tao, X., Zhang, L. Q., Ge, H., & He, Y. X. (2022). Molecular basis for coordinating secondary metabolite production by bacterial and plant signaling molecules. *Journal of Biological Chemistry*, 298(6), 102027.